

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Estudio de Efectividad Biológica de Productos Nematicidas Experimentales de origen Botánico y Biológico, para el Control de *Pratylenchus* spp., en Manzano *Pyrus malus* L., Bajo Condiciones de Campo, en el Cañón de la Carbonera, Arteaga, Coahuila

Por:

CÉSAR MONROY BECERRIL

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Septiembre del 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Estudio de Efectividad Biológica de Productos Nematicidas Experimentales de origen Botánico y Biológico, para el Control de *Pratylenchus* spp., en Manzano *Pyrus malus* L., Bajo Condiciones de Campo, en el Cañón de la Carbonera, Arteaga, Coahuila

Por:

CÉSAR MONROY BECERRIL

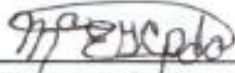
TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada:

Dr. Melchor Cepeda Siller
Asesor Principal


Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda
Coasesor


Dr. Fidel Antonio Cabezas Melara
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía


Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Septiembre del 2015

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, que gracias a ella pude continuar con mi formación académica.

Al Departamento de Parasitología, por abrirme las puertas de sus aulas y permitirme experimentar en sus laboratorios.

Al Dr. Melchor Cepeda Siller, por su asesoría en la realización de este trabajo.

A todos y cada uno de los profesores por compartir sus conocimientos y ayudar a mi formación profesional.

A mi madre María del Carmen Becerril Moreno, por su apoyo incondicional e ilimitado y el cariño que tiene a sus hijos.

A mi padre Tomas Monroy González, que gracias a el aprendí que en la vida nada es gratis y si quieres algo tienes que trabajar duro y esforzarte para obtenerlo.

A mis hermanos MaríaELIT, María del Carme, Rosaura y Rodolfo por motivarme a seguir adelante.

A María de los Ángeles Castro por ser parte de mi vida, por su apoyo y alentarme a seguir adelante a pesar de las malas situaciones.

A todos los integrantes de la familia Becerril por su apoyo moral y económico.

Al Coach Roberto Cepeda, que gracias a sus consejos aprendí que el trabajo en equipo es primero y a defender los colores de mi Alma Terra Mater.

A todos los compañeros que formaron parte de este gran camino.

DEDICATORIAS

A MI MADRE

María del Carmen Becerril Moreno, por ser la persona que me dio la vida y el apoyo que me brindó durante este camino.

A MIS HERMANOS

María Elit, María del Carmen, Rosaura y Rodolfo.

A María de los Ángeles Castro por ser la persona con la que he compartido la vida, por su cariño y amor incondicional.

A MIS AMIGOS

Juan Adame Adame, Karen López San Juan, por su ayuda y amistad, por ser mis compañeros y terminando por ser parte de mi familia.

A MIS ABUELOS

Domingo Monroy y Sirila González, quienes me apoyaron moralmente y gracias a sus experiencias en la vida me guiaron.

INDICE GENERAL

INDICE DE CUADROS	iii
INDICE DE FIGURAS	iv
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo.....	2
Justificación	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Importancia Económica del Cultivo.....	3
Ubicación Taxonómica del Cultivo.....	4
Clasificación Taxonómica	5
Características Botánicas	5
Hojas	5
Yemas	6
Flor	6
Fruto	6
Condiciones Ambientales	6
Nematodo de la Lesión <i>Pratylenchus</i> spp.....	7
Importancia de <i>Pratylenchus</i> spp.	7
Nematodos asociados al manzano en la sierra de Arteaga, Coahuila	9
Especies de <i>Pratylenchus</i> reportadas para manzano	9
Generalidades de <i>Pratylenchus</i>	9
Características generales de <i>Pratylenchus</i>	10
Ubicación taxonómica.....	10
Ciclo biológico	11
Sintomatología.....	12
Distribución.....	13
Metabolitos Secundarios.....	14
Descripción de los Organismos Biológicos	14
<i>Beauveria bassiana</i>	14
Descubrimiento	15
Modo de acción	15
Clasificación taxonómica.....	16

<i>Metarhizium anisopliae</i>	16
Clasificación taxonómica.....	17
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	17
Modo de acción.....	18
Clasificación taxonómica.....	18
<i>Bacillus thuringiensis</i>	18
Modo de acción.....	19
Clasificación taxonómica.....	19
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	20
Clasificación taxonómica.....	20
Bioxer 1000.....	21
Composición porcentual.....	21
Nemafín.....	21
Modo de acción.....	22
Composición.....	22
Nematodos que controla.....	22
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
Establecimiento del Experimento en Campo.....	23
Muestreo de Nematodos en Manzano.....	24
Método del Embudo de Baerman.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
Resultados de la Población Final.....	28
CONCLUSIONES.....	32
BIBLIOGRAFÍA.....	33
ANEXO.....	38

INDICE DE CUADROS

	Página
1. Descripción de los tratamientos utilizados.	26
2. Población inicial del nematodo de la lesión <i>Pratylenchus</i> spp., en base a la media de cada tratamiento.....	27
3 Población final del nematodo de la lesión.	28

INDICE DE FIGURAS

	Página
1. Estados productores de manzana 2009 – 2012.....	3
2. <i>Pratylenchus penetrans</i>	8
3. <i>Pratylenchus coffea</i>	8
4. <i>Pratylenchus vulnus</i>	8
5. Características de <i>Pratylenchus</i> spp.....	11
6. Ciclo de vida de <i>Pratylenchus</i> spp	12
7. Lesiones causadas por una alta población de <i>Pratylenchus</i> spp.....	13
8. Productos nematicidas utilizados.....	17
9. Identificación de unidades experimentales en base a tratamiento y repetición.	23
10. Muestreo de nematodos en el punto cardinal norte.	24
11. Muestra representativa.....	24
12. Embudo de Baerman.	25
13. Aplicación de productos.	26
14. Número de nematodos por tratamiento.....	28

INTRODUCCIÓN

Desde el origen de la agricultura las enfermedades de las plantas han cambiado la historia y la cultura humana.

Los árboles viven más tiempo que cualquier otro organismo en la tierra. Esto se debe a que son capaces de responder a los ataques de patógenos y plagas y seguir creciendo, algunos desde hace miles de años. Sin embargo, los árboles también están sujetos al ataque de patógenos.

Para el caso del manzano este frutal no se encuentra libre de problemas parasitológicos, sino que desde siempre han tenido que convivir con microorganismos.

Dentro de los problemas parasitológicos que se pueden presentar en el cultivo del manzano o en cualquier región productora, es la presencia de los nematodos, mencionándose el más importante *Pratylenchus* spp .El cual se caracteriza por su severidad y agresividad, siendo éste la principal causa de pérdida en manzano por bajas en los rendimientos y en algunos casos muerte del árbol, debido a que interfiere en el desarrollo normal del sistema radicular y da lugar a ataques de otros microorganismos presentes en el suelo ocasionando debilidad al árbol.

Con lo anterior se obtendrán resultados antieconómicos para el productor, al tener que desembolsar dinero para el tratamiento de árboles enfermos dentro de la huerta, además si no se tiene el control en un tiempo oportuno se corre el riesgo de que el problema se agrave al infectarse arboles sanos y así consecutivamente.

Correo Electrónico; Cesar Monroy Becerril,
ing.cesar_monroy@outlook.es

Palabras clave: manzano (*Pyrus malus*), frutal, patógenos, nematodo, plaga, *Pratylenchus* spp., problemas, rendimientos.

Objetivo

Evaluar la efectividad biológica de productos nematicidas experimentales de origen biológico y botánico, para el control de nematodos fitopatógenos, específicamente del Género *Pratylenchus*, bajo condiciones de campo en el cultivo del manzano.

Justificación

El presente trabajo fue realizado debido a que en la actualidad los rendimientos en las huertas de manzano en la sierra de Arteaga Coahuila de Zaragoza, han disminuido considerablemente, así también se presenta un retraso en el desarrollo vegetativo por la presencia de *Pratylenchus* spp.

Por lo anterior se tiene la necesidad de implementar un sistema de control, con el cual se evaluarán las poblaciones de nematodos, obteniendo como resultado un aumento en rendimientos en la producción, esto se realizará con la aplicación de nematicidas a base de extractos de origen biológico y botánico.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia Económica del Cultivo

En la última década, la superficie plantada de manzanos en México ha permanecido estable. En el 2013, ésta ascendió a 62,600 hectáreas, la producción nacional de manzano registró su récord al alcanzar 867,000 toneladas y en rendimiento de 14.7 ton/ha, nivel que representa un crecimiento bastante marcado en relación con el año previo.

La información disponible muestra una concentración de la oferta nacional en cuatro estados, donde Chihuahua es el mayor productor de manzana del país, entre el año 2009y 2012 participó en promedio con el 67.4 % del volumen y el 66.5% del valor generado. Durango, Coahuila y Puebla son también entidades importantes en el cultivo, en conjunto generaron 25.4% del volumen y el 26.5% del valor. (Figura 1)

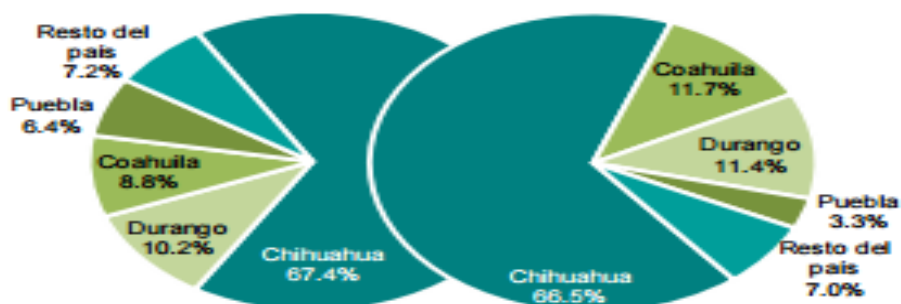


Figura 1. Estados productores de manzana 2009 – 2012 (SIAP-SAGARPA, 2012).

De acuerdo con el avance de siembras y cosechas de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), la producción de manzana en el estado de Chihuahua, principal entidad productora, se ha reducido entre 18 y 20 % (Ojeda, 2012).

Lo anterior obedece a problemas de sequía y heladas tardías que afectaron a la entidad durante el primer semestre de este año.

Estos efectos han ocasionado un importante incremento en los precios nacionales de la fruta. Así, de acuerdo con la información del Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados (SNIIM), en septiembre del 2012, el precio en centrales de abasto del país de la manzana Golden Delicious y Red Delicious mostró un alza de 33.8 y 20.2% con respecto al mismo mes del 2011, al ubicarse en 26,574 y 24,048 pesos por tonelada, respectivamente. Cabe mencionar que los precios del frutal alcanzados en el 2012 son los más altos de los últimos seis años.

Ante el escenario de altos precios, se esperaría que la oferta de manzana proveniente de otras entidades pueda cubrir parte de la demanda que abastecía el estado de Chihuahua.

Al cierre del ciclo 2012, aquellos productores que lograron superar los factores climáticos adversos e incorporaron innovaciones tecnológicas en sus huertos contarán con mayores ingresos derivados de la venta de su producto. En conclusión, es un buen negocio, pero necesita inversión (Ojeda, 2012).

Ubicación Taxonómica del Cultivo

El manzano *Pyrus malus* L., es un árbol de la Familia de las Rosáceas, cultivado por su fruto, apreciado como alimento. Domesticado hace más de 15,000 años, su origen parece ser el Cáucaso y las orillas del mar Caspio (Tamaro, 1968). Fue introducido en Europa por los romanos y en la actualidad existen unas 1,000 variedades/cultivares, como resultado de innumerables hibridaciones entre formas silvestres (Bianchini, 1994).

Clasificación Taxonómica

Sinnot y Wilson (1975), ubica al manzano dentro de la siguiente clasificación taxonómica.

Reino	Vegetal
División	Traqueofita
Clase	Angiospermas
Subclase	Dicotiledoneas
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Género	<i>Pyrus</i>
Especie	<i>malus</i> L.

Escobar (1981), cita que la especie *malus* L., se considera como un subgénero del genero *Pyrus* y que muchos autores mencionan al manzano como *Pyrus malus*.

Características Botánicas

Se caracteriza por ser caducifolio, aunque en ocasiones puede ser siempre verde (Baugher, 2003). Son árboles de una altura de 1.5 y 7 m y un ancho de base de 1.0 a 4.5 m (Jackson y Palmer, 1999); su hábito de crecimiento bajo condiciones naturales varia de una forma redonda en la copa hasta una piramidal.

Hojas

Presenta hojas ovaladas, elípticas, oblongas, lobuladas o aserradas (Baugher, 2003).

Yemas

Las yemas son ovoides con pequeñas escamas que sobresalen; las reproductivas son mixtas, terminales serradas sobre dardos y lamburdas en la mayoría de las variedades (Gil, 1999). Las yemas mixtas contienen entre cinco y ocho flores y un número similar de hojas, la flor central, en la mayoría de los casos es más grande y precoz que las laterales.

Flor

Una flor contiene cinco sépalos, cinco pétalos, cinco pistilos, y unos 20 estambres (Jackson y Palmer, 1999).

Las flores son blancas, rosas o carmín y se organizan en cimas (Westwood, 1993), el hipanto y el gineceo permanecen fusionados para formar un ovario inferior el cual se desarrolla en un fruto carnoso e indehiscente (Luby, 2003).

Fruto

El fruto es un pomo que se caracteriza por tener un ovario inferior con un endocarpio lignificado (Ryugo, 1993), esta es una fusión entre ovario y receptáculo, y las semillas nacen en cinco carpelos formado de tejidos del mesocarpio y receptáculo (Jackson y Palmer, 1999).

El fruto es oblongo, cónico u oblicuo, con diámetro de 2 a 13 cm, presenta varias tonalidades: verdes, amarillas y rojas (Baughner, 2003).

Condiciones Ambientales

El manzano es uno de los frutales templados más importantes del noreste de México. En Coahuila se cultiva en el municipio de Arteaga ubicado en el Sureste del estado, donde se tiene una superficie de aproximadamente 8000 Has (Anónimo, 2001).

El manzano es un árbol caducifolio que requiere de un periodo de exposición (de Noviembre a Febrero) de bajas temperaturas para acumular suficientes horas frío y lograr una adecuada y uniforme brotación de yemas vegetativas y florales, para obtener cosechas uniformes y de buenos rendimientos (Cepeda, 1993).

Una deficiente acumulación de frío trae como consecuencia un período de descanso prolongado, floración irregular y deficiente, inhibición de yemas vegetativas, desprendimiento de yemas florales y vegetativas y aborto de embriones (Calderón, 1993).

Nematodo de la Lesión *Pratylenchus* spp.

Importancia de *Pratylenchus* spp.

El daño directo como endoparásito migratorio ocasionado por este nematodo es de gran trascendencia aunado a la interacción que suele ocurrir con otros organismos patógenos que en conjunto incrementan las pérdidas ocasionadas por estos nematodos. Existen varias especies de *Pratylenchus* que están sujetas a medidas regulatorias entre las que destaca: *Pratylenchus musicola* y *Pratylenchus pratensis* (Ramírez, 2014).

Las huertas de frutales tales como peral, durazno, cerezo y manzano, tienen problemas de nematodos asociados con los bajos rendimientos; estos problemas son complejos y los nematodos asociados más generalmente son varias especies locales introducidas.

Se han reportado muchos géneros de nematodos asociados a arboles de manzano, pero solo las especies de *Pratylenchus* parece ser de mayor importancia económica; las especies varían con la localización geográfica y tal vez con el tipo de suelo (Mc elroy, 1972).

Los nematodos asociados a las lesiones, pueden causar declinación en los huertos manzaneros y provocar la falta de muchos árboles jóvenes (Townsshend, 1975).

P. penetrans es la especie importante asociada con manzanos enfermos y han sido registrados como un parásito de los patrones de manzano en Alemania, Canadá, Estados Unidos, Holanda e Inglaterra, implicándosele como un factor importante involucrado con el pobre desarrollo radical, pérdida del vigor y problemas de replante en los citados lugares (Figura 2).



Figura 2. *Pratylenchus penetrans* (Davis, 2005).

P. coffeae ha sido encontrado asociado con la interferencia en el desarrollo de plántula de manzano en Australia (Figura 3).



Figura 3. *Pratylenchus coffeae* (Jackson, 2003).

P. vulnus como un parásito del manzano en California y Oregón (Figura 4).



Figura 4. *Pratylenchus vulnus* (Gardner, 1997).

Nematodos asociados al manzano en la sierra de Arteaga, Coahuila

Cepeda y Arguindegui (1983) citaron al grupo de nematodos que fueron capturados con mayor frecuencia en los diversos microhabitat que compone un árbol de manzano. En toda el área de estudio se encontraron tanto nematodos parásitos como no parásitos asociados al cultivo de manzano. Se observaron los nematodos parásitos y no parásitos de las plantas muestreadas en la región manzanera de Arteaga, Coahuila.

A continuación se mencionan los géneros encontrados en la región de la Carbonera.

La Carbonera: *Dorylaimus*, *Xiphinema*, *Mononchus*, *Rhabditis*, *Tylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchus*, *Helicotylenchus*.

Cepeda y Arguindegui (1983) concluyeron que los géneros que se presentaron con mayor frecuencia en los puntos muestreados fueron: *Dorylaimus* sp (97.3%), *Rhabditis* sp (89.4%), *Pratylenchus* sp (81.5%), *Tylenchus* sp (76.3%), *Xiphinema* sp (68.4%), *Rotylenchus* sp (48.4%), y *Aphelenchus* sp (48.4%).

Especies de *Pratylenchus* reportadas para manzano

Las especies del nematodo de la lesión reportadas para el cultivo de manzano en diversas partes del mundo, son las siguientes: *thornei*, *vulnus*, *loosi*, *coffaeae*, *penetrans*, *minyus*, *fallax* (Pinochet, 1992).

Generalidades de *Pratylenchus*

Los especímenes del Género *Pratylenchus* fueron descritos por varios investigadores como miembros del Género *Tylenchus*, posteriormente Filipjev (1936), estableció el Género *Pratylenchus* que comprende 61 especies. El primer nematodo lesionante que se describió fue encontrado en Inglaterra (Mai, 1975).

Scribneri informó de un nematodo que dañaba los tubérculos de la papa, denominándose posteriormente *Pratylenchus scribneri*. A partir de entonces se han encontrado nematodos lesionadores en muchas partes del mundo donde se cultivan plantas, las que hacen a este nematodo una plaga de importancia económica.

Características generales de *Pratylenchus* (Cepeda, 1996).

- a) Nódulo basal claramente visible al microscopio.
- b) Cuerpo menor de 0.5 mm. de largo, cilíndrico.
- c) Adopta forma arqueada cuando está muerto.
- d) Cutícula con finos anillos y pliegues laterales.
- e) Usualmente con cuatro incisuras.
- f) Cabeza cónica redondeada o truncada.
- g) Istmo delgado.
- h) Bulbo medio estipulado o redondeado.
- i) Vulva normalmente con membranas cuticulares laterales (Figura 5).

Ubicación taxonómica

Coob (1917) citado por Filipjev (1936) registró al nematodo de la lesión en la siguiente forma.

Reino	Animalia
Phyllum	Nematoda
Clase	Secernentea
Subclase	Diplogasteria
Orden	Tylenchida
Suborden	Tylenchina
Superfamilia	Tylenchoidea
Familia	Pratylenchidae
Género	<i>Pratylenchus</i>

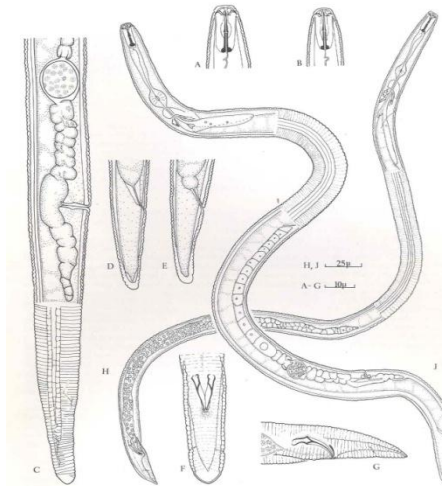


Figura 5. Características de *Pratylenchus* spp. (Darson, 2003).

Ciclo biológico

Los nematodos lesionantes son parásitos vagabundos; tanto como los adultos como las larvas de varias edades se encuentren dentro y fuera de las raíces, penetran justo detrás de la zona de alargamiento, el ciclo de vida varía según la especie (de 45 a 65 días). Los nematodos de este género hibernan en las raíces infectadas o en el suelo en forma de huevecillos, larvas o adultos; las hembras productoras de huevecillos son incapaces de sobrevivir al invierno. Las hembras, hayan sido o no fecundadas, ponen sus huevecillos individualmente o en pequeños grupos dentro de las raíces infectadas. Los huevecillos permanecen en las raíces y se incuban, cuando los tejidos de la raíz se degradan son liberados en el suelo. La primera etapa larval y la primera muda ocurren en el huevecillo. Durante la segunda etapa larvaria, la larva se mueve en el suelo o penetra en la raíz, en ambos casos se desarrolla hasta la etapa adulta (Figura 6). Cuando se encuentran en el suelo los nematodos son susceptibles a la desecación y durante los periodos de sequía permanecen en reposo hasta que vuelven las condiciones de humedad y las plantas reanudan su crecimiento (Cepeda, 1996).

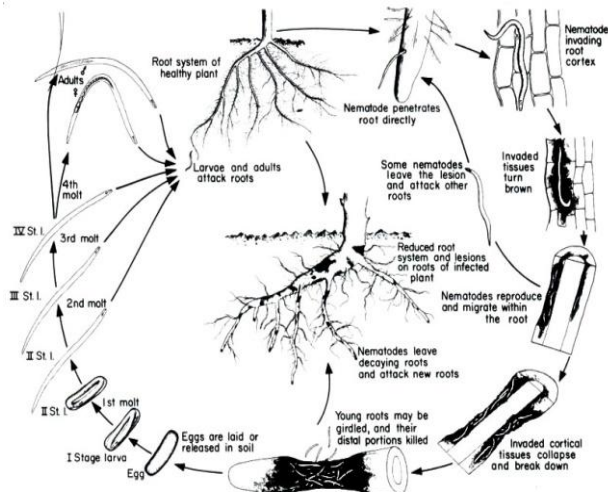


Figura 6. Ciclo de vida de *Pratylenchus* spp. (Davis, 2005).

Sintomatología

La sintomatología típica consta de crecimiento pobre, achaparramiento, amarillamiento de las hojas y caída de yemas jóvenes. Las raíces primarias de árboles afectados pueden mostrar lesiones longitudinales con márgenes necróticos (Figura 7). Las lesiones involucran tejido de la corteza de la raíz alcanzando el área del cambium vascular. Las raíces secundarias se observan distorsionadas, obscurecidas y necróticas (Lambereti, 1969).

Los nematodos penetran por la raíz y se alimentan del parénquima, produciendo un daño considerable que no se limita a las raíces. Es común que grandes cantidades de nematodos se encuentren en zonas particulares de la raíz. Las lesiones, pequeñas al principio se van ampliando conforme los nematodos se van alimentando en la periferia de las raíces. Las lesiones permiten la entrada de patógenos del suelo, los cuales aceleran los procesos de degeneración y pudrición de raíces. No obstante, se ha demostrado que *Pratylenchus* es capaz por sí sólo de causar pudrición radical (Southy, 1972).

La sintomatología varía entre los diferentes hospederos, pero la mayor parte de ellos se caracterizan por la mutilación de raíces como resultado de la formación de lesiones, raíces descoloridas, raquílicas y agrupadas cerca de la superficie del suelo (Maggenti, 1981).

No todas las plantas afectadas por *Pratylenchus* le permiten una reproducción y desarrollo adecuado, es necesario hacer los estudios pertinentes que demuestren de que magnitud es el problema de este nematodo en dicho hospedero.



Figura 7. Lesiones causadas por una alta población de *Pratylenchus* spp. (Davis, 2005).

Distribución

El nematodo de las lesiones se encuentra distribuido en todas las regiones agrícolas del mundo, concluyéndose que el clima no representa una barrera determinante para su dispersión. Se cree que algunas especies se adaptan a temperaturas frías y otras a regiones cálidas. Investigaciones realizadas sugieren que, en general son más numerosos en lugares cálidos de zonas templadas, que en los trópicos y subtrópicos (Hesling, 1961).

Los nematodos en un nivel local no se encuentran distribuidos uniformemente o aún al azar en el campo. La historia del lugar, condiciones locales del suelo y distribución de malezas son algunos de los factores que pueden afectar a las patrones locales de distribución, los nematodos no se mueven mucha distancia por si solos.

Los medios por los cuales pueden ser diseminados incluyen el agua viento, maquinaria, aves, insectos, por el mismo hombre (Mai, 1975).

Metabolitos Secundarios

La acción de los metabolitos secundarios producidos por los hongos entomopatógenos sobre los hospederos es muy variada. Los mismos pueden participar en la solubilización de la cutícula del insecto o en la inhibición de procesos metabólicos y fisiológicos, impidiendo su desarrollo y provocando su muerte.

Las micotoxinas están definidas como los metabolitos secundarios tóxicos producidos por hongos filamentosos, también se acepta como definición la de metabolitos fúngicos cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea reduce la actividad, hace enfermar o causa la muerte de animales (sin excluir las aves) y personas (Pitt, 1996).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios fúngicos capaces de desencadenar diversas alteraciones y cuadros patológicos. Son moléculas relativamente pequeñas ($P_m < 700$) y suelen ser genotípicamente específicas para un grupo de especies de un mismo género. El mismo compuesto, no obstante, puede ser también elaborado por hongos pertenecientes a géneros distintos. En general, cuanto más compleja es la ruta biosintética de una micotoxina, menor será el número de especies fúngicas capaces de elaborarla (Moss, 1991).

Descripción de los Organismos Biológicos

Beauveria bassiana

Beauveria bassiana es uno de los entomopatógenos más estudiados y utilizados para el control biológico de plagas como regulador natural de poblaciones de insectos. Es el agente causal de la 'muscarda blanca' en algunos insectos (Figura 8).

Es un hongo Deuteromiceto que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno le hace capaz de parasitar a insectos

de diferentes especies, causando la conocida enfermedad blanca de la muscarda. Pertenece a los hongos entomopatógenos y actualmente es utilizado como insecticida biológico o biopesticida controlando un gran número de parásitos de las plantas (Hernández *et al.*, 2010).

Descubrimiento

La especie lleva el nombre del entomólogo italiano Agostino Bassi, el cual observó en 1835 la aparición de la enfermedad muscardina sobre los cuerpos de algunos gusanos de seda *Bombyx mori*.

Modo de acción

Los hongos pueden infectar insectos no solo a través del intestino, sino también por los espiráculos y particularmente en forma directa por la penetración del integumento, esta propiedad le ofrece la posibilidad de infectar al huésped independientemente de los hábitos alimenticios del insecto (Ferrón, 1977).

Cuando el hongo está presente en la hemolinfa, germina y produce nuevas hifas, extendiéndose así en la cavidad del cuerpo.

Después de muerto el insecto el hongo produce clamidosporas que pueden mantenerlo viable dentro de los insectos muertos, estas germinan posteriormente y emergen hifas que esporulan en la superficie del hospedero y producen nuevas esporas infectivas (Castrillón, 2000).

Clasificación taxonómica

Según Vuillemin (1912) clasificó al hongo de la siguiente manera:

Reino Fungi

División Ascomycota

Clase Sordariomycetes

Orden Hipocreales

Familia Clavicipitaceae

Género *Beauveria*

Especie *bassiana*

Metarhizium anisopliae

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

El proceso se inicia cuando la espora o conidia se adhiere a la cutícula del insecto, y luego se desarrolla un tubo germinativo y un apresorio, con este se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto, la germinación ocurre aproximadamente a las 12 horas post-inoculación y la formación de apresorio se presenta de 12 a 18 horas post-inoculación (Vicentini *et al.*, 1996).

Clasificación taxonómica

Metschn (1883) clasifica al hongo de la siguiente manera:

Reino Fungi

División Ascomyota

Clase Sordariomycetes

Orden Hipocreales

Familia Clavicipitadeae

Género *Metarhizium*

Especie *anisopliae*



Figura 8. Productos nematocidas utilizados (Monroy, 2015).

Paecilomyces lilacinus

Jatala (1985) mencionó que *P. lilacinus*, es un hongo que ofrece grandes ventajas como agente de control biológico, debido a su gran adaptabilidad a diferentes tipos de suelo y que cuenta con un alto potencial parasítico.

Paecisav (1997) reportó que durante varios años se ha investigado que *P. lilacinus* parasita huevos y hembras de nematodos, causando deformaciones, destrucción de ovarios y limitando la eclosión de huevos; a la vez se ha

comprobado que en condiciones de pH ligeramente ácido, produce toxinas que afectan el sistema nervioso de los nematodos.

Modo de acción

P. lilacinus acciona al parasitar los huevos del nematodo juveniles y adulto, cuando las esporas del *Paecilomyces lilacinus* entran en contacto con los nematodos se inicia el proceso de infección, estas esporas producen enzimas que diluyen la cutícula y penetran al interior del nemátodo. Cuando ingresa al hospedero, el hongo *P. lilacinus* se reproduce muy rápidamente emitiendo metabolitos tóxicos que envenenan el nematodo.

Las toxinas producidas por parte del *P. lilacinus* afectan el sistema nervioso y causan deformación en el estilete de los nematodos.

Clasificación taxonómica

Según Samson 1974

Reino Fungi

Clase Ascomycetes

Orden Eurotiales

Familia Trichocomaceae

Género *Paecilomyces*

Especie *lilacinus*.

***Bacillus thuringiensis*.**

Bacillus thuringiensis es el insecticida biológico más aplicado en el mundo y se utiliza para controlar diversos insectos que afectan la agricultura y la actividad

forestal, *Bacillus thuringiensis* es un bacilo gram positivo que habita en el suelo (Sneatt, 1986).

La característica principal de *B. thuringiensis* es que durante el proceso de esporulación produce una inclusión parasporal formada por uno o más cuerpos cristalinos de naturaleza proteica que son tóxicos para distintos invertebrados, especialmente larvas de insectos. Estas proteínas se llaman Cry (del inglés, Crystal) y constituyen la base del insecticida biológico más difundido a nivel mundial (Schenep, 1998).

Modo de acción

El mecanismo de acción de las proteínas Cry se describió principalmente en lepidópteros como un proceso de múltiples etapas. Los cristales de *B. thuringiensis* son ingeridos y luego solubilizados en el intestino medio del insecto, tras lo cual se liberan las proteínas cristalinas en forma de protoxinas. Estas no producirán el daño, sino que deberán ser procesadas por proteasas intestinales para generar las toxinas activas que llevarán a la muerte de la larva (Bravo 2004).

Clasificación taxonómica

Según Berliner (1915).

Dominio Bacteria

Filo Firmicutes

Clase Bacilli

Orden Bacillales

Familia Bacillaceae

Genero *Bacillus*

Especie *thuringiensis*

Pseudomonas fluorescens

Pseudomonas fluorescens es una bacteria que posee la capacidad de disminuir la acción de fitopatógenos a través de la producción de sideróforos y antibióticos (Clarc, 1989).

Dentro de los microorganismos rizosfericos promotores del crecimiento vegetal se encuentra *Pseudomonas fluorescens* que son bacilos rectos o ligeramente curvados, gran negativos, cuyas dimensiones están entre 0.5 1.0 x 1.5 5 micras, presentan movilidad gracias a que poseen varios flagelos polares, no producen esporas, tienen un metabolismo energético estrictamente aerobio y una nutrición quimiorganotrofica, es decir, que su metabolismo se basa en reacciones de óxido-reducción para obtener energía, utilizando sustancias oxidables a pH neutro o básico(Palleroni, 2005).

Clasificación taxonómica

Según Migula (1895).

Dominio Bacteria

Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Pseudomanadales
Familia	Pseudomonadaceae
Género	<i>Pseudomona</i>
Especie	<i>fluorescens</i>

Bioxer 1000

Es un producto alternativo a los fumigantes del suelo, botánico y no tóxico, recomendado para el control de nematodos fitopatógenos como *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Ditylenchus*, *Dorylaimus*, entre otros, así como para el control de hongos como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Phytophthora*, entre otros.

Composición porcentual

- Vinagre obtenidos de manzana con microorganismos naturales y no genéticamente modificados.
- Fermento de *Lactobacillus*.
- Algas marinas.
- Extracto acuoso de neem y crisantemo.

Nemafín

Es un producto que tiene actividad fisiológica en la planta, tanto catabólica como anabólica, incrementando la formación de clorofila, eficientando así la acción fotosintética.

Mantiene un sinergismo con microorganismos benéficos del suelo, favorece su multiplicación en beneficio de la disponibilidad de nutrientes.

Modo de acción

Actúa por contacto sobre la quitina de los nematodos, con efecto ovicida. Produce además cambios en la rizosfera microbial benéfica, promoviendo un aumento de los depredadores naturales.

Mejora la relación carbono/nitrógeno del suelo y los niveles de amonio alrededor de las raíces de la planta.

Composición:

- Componentes naturales, no genéticamente modificados
- Líquidos acuosos de la fermentación de (Leuconostocos, Acetobacterias Lactobacillus y Levaduras).
- Polifenoles naturales extraídos de plantas del desierto.
- Extractos algaiódicos extraídos de algas marinas.
- Ácidos carboxílicos.

Nematodos que controla

Pratylenchus spp. *Globodera* spp. *Heterodera* spp, *Radopholus similis*, *Meloidogyne incognita*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Trichodorus* spp., *Dorylaimus* spp, *Aphelenchus* spp y *Aphelenchoides* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el Municipio de Arteaga, Estado de Coahuila de Zaragoza, se localiza la principal región productiva de manzana *Pyrus malus* y con la finalidad de establecer el presente experimento, se seleccionó la Parcela No. 1 propiedad de la familia Cepeda, del Ejido el Tunal, del citado Municipio y Estado.

En la huerta ubicada en el cañón de la Carbonera, Arteaga, Coahuila de Zaragoza se establecieron los experimentos para el control de nematodo *Pratylenchus* spp., bajo condiciones de campo con un diseño estadístico de bloques al azar con 9 tratamientos y 4 repeticiones, las 36 unidades experimentales quedaron distribuidas en la huerta con 15 años de edad en producción comercial, en este lugar es donde se estableció el experimento.

Establecimiento del Experimento en Campo

Para el establecimiento del experimento se procedió a marcar las unidades (árboles) con el tratamiento y su repetición respectivamente, (Figura 9) se realizó una zanja para depositar el producto con una dosis de 40 ml por unidad con cada uno de los tratamientos descritos en el Cuadro 1. Transcurridos los 60 días después de la aplicación se tomó un nuevo muestreo para determinar población final, realizando un conteo y comparación con la población inicial y final, para poder determinar que tratamiento tubo mejor efecto en el control de *Pratylenchus* spp.



Figura 9. Identificación de unidades experimentales en base a tratamiento y repetición (Monroy, 2015).

Muestreo de Nematodos en Manzano

Para el muestreo antes del establecimiento del experimento para adultos de *Pratylenchus* spp., se utilizó un muestreo en cada unidad experimental (que constará de un árbol), en el punto cardinal (Norte), se tomará una muestra de 1.0 Kg de suelo a una profundidad de 0 - 30 cm.(Figura 10), esta muestra se mezclará y sólo se toma una muestra representativa de 100 g.(Figura 11) esta se procesará y analizará por el método del Embudo de Baerman, la muestra de agua más nematodos, es pasada al microscopio estereoscópico y compuesto, para la identificación a nivel de género y así poder conocer la población inicial y final en el suelo.



Figura 10. Muestreo de nematodos en el punto cardinal norte (Monroy, 2015).



Figura 11. Muestra representativa (Monroy, 2015).

Método del Embudo de Baerman

En un equipo de extracción de nematodos denominado Embudo de Baerman que está compuesto de un embudo de plástico, varilla, aro soporte metálico, una manguera de hule y una pinza de presión, se colocan 200 ml de agua destilada en un Embudo de Baerman, en la parte superior se coloca una malla plástica y sobre ésta un papel secante, sobre el cual se coloca la muestra de 100 g. de suelo para que permanezca húmeda y se deja reposar 48 horas (Figura 12).

Entre las ventajas de este método están el bajo costo, la portabilidad del equipo, y que además se obtienen ejemplares completos (Kimpinski y Welch, 1971).



Figura 12. Embudo de Baerman (Monroy, 2015).

Transcurridas las 48 horas se toma la manguera plástica, se abre la válvula de paso y se recoge el sedimento, 2 ml de agua más nematodos en un tubo de ensaye. La muestra obtenida que se encuentra reposado en el tubo de ensaye, se pasa a un vidrio de reloj, para observar bajo el microscopio. Utilizando agujas de bambú se realiza la captura y el conteo de cada uno de los nematodos presentes en la muestra, a la vez se tiene disponibles porta objetos lisos de vidrio, donde se coloca una pequeña gota de lactofenol para inactivar los nematodos y una gota de azul de metileno para dar color a las partes externas e internas del nematodo, enseguida se realizan montajes semipermanentes y conteos e identificación de nematodos presentes bajo el microscopio compuesto (Cepeda, 1996).

Los tratamientos se aplicaron bajo las dosis, que se describen a continuación (Cuadro1).

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos utilizados.

TRATAMIENTO	NEMATICIDA	DOSIS
1	Mezcla de Concentrados Celulares	40 ml
2	Mezcla de Metabolitos Secundarios	40ml
3	Concentrados Enzimáticos de Proteasas de <i>Beauveria bassiana</i>	40ml
4	Concentrados Enzimáticos de Proteasas de <i>Metarhizium anisopliae</i>	40ml
5	Concentrados Enzimáticos de Quitinasas de <i>Beauveria bassiana</i>	40ml
6	Concentrados enzimáticos de Quitinasas de <i>Metarhizium anisopliae</i>	40 ml
7	Bioxer 1000	40 ml
8	Nemafín	40 ml
9	Testigo – agua	Testigo

Los tratamientos se aplicaron al momento de instalar el experimento con mochila aspersora manual, en la zona de goteo del frutal, realizando una zanja y depositando el producto en el interior de la zanja para posteriormente tapparla zanja con suelo (Figura 13).



Figura 13. Aplicación de productos (Monroy, 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de la población inicial de los nematodos en estado adulto de *Pratylenchus* spp. (Figura14).

Con el objetivo de conocer la población inicial, al momento de instalar el experimento y apegada a la metodología, los resultados obtenidos de la población inicial se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Población inicial del nematodo de la lesión *Pratylenchus* spp., en base a la media de cada tratamiento.

Tratamiento	Media aritmética	Comparación estadística
9	259.75	A
6	256.75	A B
7	246.75	A B C
8	241.50	A B C D
3	237.50	A B C D
4	230.25	A B C D
1	227.00	B C D
5	224.50	C D
2	213.25	D

El cuadro anterior nos indica que la población del nematodo de la lesión es homogénea al menos en seis de los nueve tratamientos, teniendo una ligera variación en los tratamientos 1, 5,2 esto debido a la distribución espacial del nematodo en el campo.

En el Apéndice 1 podemos observar la concentración de datos, el análisis de varianza, el coeficiente de variación, tabla de medias, la comparación estadística por la prueba de Tukey y los valores de la tabla (0.01) y (0.05).

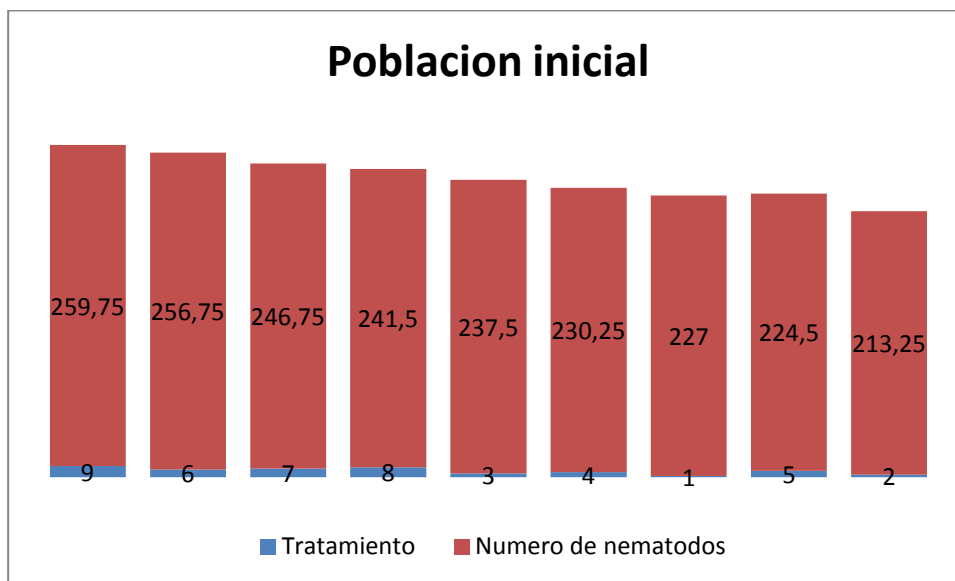


Figura 14. Numero de nematodos por tratamiento.

Resultados de la Población Final

Con el objetivo de conocer la población final y apegada a la metodología, los resultados obtenidos de la población final del nematodo de la lesión *Pratylenchus* spp., en estado adulto se presentan a continuación (Cuadro3).

Cuadro 3 Población final del nematodo de la lesión.

TRATAMIENTO	R1	R2	R3	R4
1	63	120	48	52
2	53	36	48	39
3	50	45	58	15
4	25	31	43	37
5	25	29	39	27
6	40	65	58	47
7	29	36	31	3
8	33	29	26	19
9	219	264	245	242

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTO	8	151598.71	18949.83	87.89	0.000
BLOQUES	3	1875.64	625.21	2.89	0.055
ERROR	24	5174.60	215.60		
TOTAL	35	158648.96			

C.V= 23.30

TABLA DE MEDIAS (NIVEL DE SIGNIFICANSIA= 0.01)

TRATAMIENTO	MEDIA ARITMETICA	COMPARACION ESTADISTICA
9	242.50	A
1	70.75	B
6	52.50	B C
2	44.00	B C
3	42.00	B C
4	34.00	B C
5	30.00	B C
8	26.75	C
7	24.75	C

Tukey = 42.6559

Valores de la tabla (0.05)= 4.81 (0.01)=5.81

TABLA DE MEDIAS (NIVEL DE SIGNIFICANCA= 0.05)

TRATAMIENTO	MEDIA ARITMETICA	COMPARACION ESTADISTICA
9	242.50	A
1	70.75	B
6	52.50	B C
2	44.00	B C
3	42.00	B C
4	34.00	C
5	30.00	C
8	26.00	C
7	24.75	C

Tukey =35.3141

Valores de la tabla (0.05)= 4.81,(0.01)=5.81

Cepeda y Zarate (2013) expresaron los resultados obtenidos en ensayos establecidos en laboratorio e invernadero para determinar la efectividad de distintos organismos entomopatógenos sobre el control del nematodo *Dorylaimus carteri* en el cultivo del cafeto y tomate. Teniendo un mejor resultado en los tratamientos a base de concentrados celulares de *Paecilomyces lilacinus*, metabolitos secundarios de *Paecilomyces lilacinus* y concentrados enzimáticos de proteasas de *Metarhizium anisopliae* en la etapa de laboratorio.

Para el presente trabajo donde se evaluaron distintos productos nematicidas a base de extractos de diferentes hongos, bacterias, algas y vegetales todos con efectos nematicidas, se realizaron pruebas a nivel de campo para determinar su efectividad en el control de *Pratylenchus* spp., sobre el cultivo de manzano.

Los resultados obtenidos estadísticamente en las pruebas de campo nos determinan que el productos que tiene mejor efecto en la disminución de *Pratylenchus* spp., son los siguientes: tratamiento 4 Concentrados Enzimáticos de Proteasas de *Metarhizium anisopliae*, tratamiento 5 Concentrados Enzimáticos de Quitinasas de *Beauveria bassiana*, tratamiento 8 Nemaflin, tratamiento 7 Bioxer 1000, con un nivel de significancia de 0.05.

En la comparación estadística con un nivel de significancia de 0.01 se muestra que los tratamientos que tuvieron mejor efecto en la disminución de *Pratylenchus* spp. Fuerón los siguientes: 7 Bioxer 1000, 8 Nemaflin, considerando a Bioxer 1000 como el mejor de estos dos últimos.

CONCLUSIONES

En el control del nematodo de la lesión *Pratylenchus* spp., se presentan en base a su %efectividad los productos nematicidas empleados en el control de *Pratylenchus* spp., siendo el tratamiento siete quien presentó mejor efecto en la disminución de las poblaciones de los nematodos.

Los mejores tratamientos en el control de *Pratylenchus* spp., fueron el tratamiento 7 Bioxer 1000, tratamiento 8 Nemaflin, tratamiento 5 Concentrados Enzimáticos de Quitinasas de *Beauveria bassiana*, tratamiento 4 Concentrados Enzimáticos de Proteasas de *Metarhizium anisopliae*.

Tomando en cuenta la tabla de medias aritméticas con un nivel de significancia de 0.01 se concluye que los tratamientos: 7 Bioxer 1000, 8 Nemaflin, fueron los mejores, considerando a Bioxer1000 como el mejor tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo, 2001. Anuario estadístico: Coahuila de Zaragoza. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. pp. 331-349
- Baugher, A. 2003. Anatomy and taxonomy. pp. 3-8. En: Baugher, A. y S. Singha (eds.). Concise encyclopedia of temperate tree fruit. Food Products Press, New York, NY.
- Berliner.1915. *Bacillus thuringiensis*
- [.http://es.wikipedia.org/wiki/Bacillus_thuringiensis](http://es.wikipedia.org/wiki/Bacillus_thuringiensis)
- Bianchini, F. 1994. Frutos de la tierra. Editorial Aedos. Barcelona, España. p 126.
- Bravo A, Gómez I, Conde J, Muñoz-Garay C, Sánchez J, Miranda R, et al. Oligomerization triggers binding of a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1667: 38-46.
- Calderón, A.E. 1993. Fruticultura General. El esfuerzo del hombre. Editorial LIMUSA. Tercera Edición. México, D.F. 763 p.
- Castrillón, C. 2000. Distribución de las Especies de Picudo del Plátano y Evaluación de sus Entomopatógenos Nativos en el Departamento de Risaralda. CORPOICA-Comité de Cafeteros de Risaralda-UMATA Departamento de Risaralda. Manizales. Colombia. 72 p.
- Cepeda, S. M. 1996. Prácticas de nematología agrícola. 1a edición. Ed. Trillas, México. UAAAN. 105 p.
- Cepeda, S.M. y P.R.J. Arguindégui. 1983. Nemátodos asociados al cultivo del manzano *Pyrus malus* L., en el municipio de Arteaga, Coah. Boletín No. 5. Saltillo, Coah., México. pp 60 – 65
- Cepeda, S.M. y Zarate, J.M.S.2013 Evaluación de efectividad de organismos biológicos para el control del nematodo de la raíz de escobilla *Dorylaimus*

- carteri* Carter, en café *Coffea arabica*, bajo condiciones de laboratorio y en tomate *Solanum lycopersicum* bajo condiciones de invernadero. Tesis Licenciatura UAAAN Saltillo Coahuila, México 62 p.
- Cepeda, S. M. 1993. El Manzano. Ed. Trillas, UAAAN, México, 208 p
- Clark, F.E. (1989) Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, INC. UK, p. 275
- Davis, E.L. and A.E. Mac Guidwin. 2000. Lesion nematode disease. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1030-02
Updated 2005
- Darso. 2003. Management options for *Pratylenchus penetrans* in Easter lily. Journal of Nematology 35:443-449
- Escobar, R. 1981. Enciclopedia Agrícola y de conocimientos afines. 2a. edición. Mexico. 327 p.
- Ferrón, P. 1977. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Ann. Rev. Entomol. 23:409-442
- Filipjev. 1936. New and Known Species of *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae) from Haryana, India, with Remarks on Intraspecific Variations.
- Gardner 1997.
http://nematode.net/NN3_frontpage.cgi?navbar_selection=speciestable&subnav_selection=Pratylenchus_vulnus
- Gil, G.F. 1999. Fruticultura: el potencial productivo. Alfaomega Grupo Editor, México, DF.
- Hernández, V. V. M. y Berlanga P.A.M. 1997. Uso de *Beauveria bassiana* como insecticida microbial. Ficha técnica CB-03. Centro nacional de referencia de control biológico. SAGAR Y CONASA. Tecomán, Colima. 4p.

- Hesling, J. J. and H.R. Wallace, H.R. 1961. Observations on the biology of chrysanthemum eelworm *Aphelenchoides ritzemabosi* (Schwartz) Steiner in florists chrysanthemum. I. Spread of eelworm infestation. *Annu. Appl. Biol.* 49:195-209.
- Jackson, D. y J. Palmer. 1999. Pome fruits. pp. 189-202. En: Jackson, D.I. y N.E. Looney (eds.). *Temperate and subtropical fruit production*. 2a ed. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Jackson, G.V.H., Ruabete TK & Wright JG. 2003. Burrowing and lesion nematodes of bananas. 2nd Edition. Secretariat of the Pacific Community Pest Advisory Leaflet No. 5.
- Jatala, P. 1985. Biological control of nematodes. Pp.303 – 308 In: Sasser, J.N. & C.C. Carter (eds), *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Volume 1. North Carolina State
- Kimpinski, J. y Welch, H.E. Comparison of - Baerman funnel and sugar flotation extraction from compacted and non compacted soils. *Nematologica* 17: 319-320. 1971.
- Lamberti, F. and Baines, R.C. 1969. Pathogenicity of four species of *Meloidogyne* on three varieties of olive trees. *Journal of Nematology*, 1(2):111-115
- Luby, J. 2003. Taxonomic classification and brief history. pp. 1-14. En: Ferree, D.C. e I.J. Warrington (eds.). *Apples, botany, production and uses*. CABI Publishing, Wallingford, UK
- Mai, N.F. and Lyon, H.H. 1975. Pictorial key to genera of plant – parasitic nematoda. 4th. Ed. Edit. Coinstock publishing associates a division of Cornell University Press. Ithaca y London. 220p
- Maggenti, A. 1981. *General Nematology*. Springer-Verlag, New York, NY.
- Mc Elroy, F.D. 1972 Nematodes of tree fruits and smallfruits. Pages 335-376 in J.M. Webster, ed. *Economic nematology*. Academic press, new York. 563 p.

Metschn 1883 <http://www.uniprot.org/taxonomy/5530>

Migula. 1985. *Pseudomonas fluorescens*

[http://es.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas fluorescens](http://es.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_fluorescens)

Moss, MO. The environmental factors controlling mycotoxin formation. En: Smith JE, Henderson RS (Eds.) Mycotoxins and animal foods. Boca Raton, CRC Press Inc, 1991: 37-56.

Ojeda 2012

<http://eleconomista.com.mx/columnas/agro-negocios/2012/10/22/produccion-manzana-mexico>.

Paecisav – I, 1997. Boletín técnico. Nematicida biológico. INISAV. La Habana, Cuba.

Palleroni, N.J., (2005). Bergey manual of systematic bacteriology.(vol 2, part B) new York: springer, 323-370

Pinochet, J., Verdejo, S., Soler, A. and Canals, J. 1992. Host range of a population of *Pratylenchus vulnus* in commercial fruit, nut, citrus, and grape rootstocks in Spain. Journal of Nematology, 24(4S):693-698

Pitt, J.I. 1996. What are Mycotoxins Australian Mycotoxin Newsletter.7(4).p.

Ramírez-Suárez Ángel, 2014 Laboratorio de Nematología “Dr. Carlos Sosa-Moss”. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, DGSV. SENASICA-SAGARPA. Correspondencia: angelrasu75@ huskers.unl.edu.

Ryugo, K. 1993. Fruticultura: ciencia y arte. AGT Editor, México, DF.

Samson RA (1974) *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. Studies in Mycology 6. Centra albureauvoor Schimmel cultures, Baarn, 116 pp

- Schnepf E, Crickmore N, Van Rie J, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, et al.
Bacillus thuringiensis and its pesticidal crystal proteins. *MicrobiolMolBiol Rev*
 1998; 62: 775-806.
- Sinnot, E. y K. Wilson. 1975. *Botánica; principios y problemas*. Ed. Continental.
 Mexico. 548 p.
- Sneath P. Spore forming gram-positive rods and cocci. En: Butler J, editor.
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1986, p. 1104-207
- Southy, J. F. 1972. *Anguina tritici*. Commonwealth Institute of Helminthology
 Descriptions of Plant Parasitic Nematodes, Set 1, No. 13, pp.1-4. St. Albans,
 England.
- Tamaro, D. 1968. *Tratado de fruticultura*. Editorial Barcelona. España. 939 p
- Townshend, J. L. 1975. Root-lesion Nematodes in: Orchards. Bull Ministry of
 Agriculture. Canada. 4 p.
- Vicentini, S;Magalhaes, B.P.1996. Infection of he grasshopper, rhammatocerus
 schistocercoides rehn by the entomopathogenic fungus, *Metarhizium*
flavoviride gamsy rozsygal. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil*26
 (2): 309-314.
- Vuillemin, 1912. *Beauveria bassiana*.
<http://eol.org/pages/160292/names?all=1>
- Westwood, M.N. 1993. *Temperate-zone pomology*. 3a Ed. Timper Press, Oregon,
 OR.USA.

ANEXO

NOTA: Las fotografías de las paginas 17 – 23 – 24 – 25 – 26 – 28, son inéditas del sustentante, fueron tomadas en el Cañón de la Carbonera, Arteaga, Coahuila de Zaragoza, durante el desarrollo del presente trabajo.