



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

COMPORTAMIENTO DE LA COMUNIDAD DE NEMATODOS EN EL
CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*), INOCULADO CON HONGOS
MICORRÍZICOS

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

Martínez Villarreal Sandra Edith



Chapingo, México, 18 de Julio del 2012

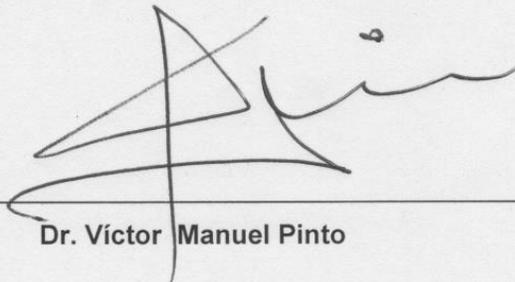


**COMPORTAMIENTO DE LA COMUNIDAD DE NEMATODOS EN EL
CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*), INOCULADO CON HONGOS
MICORRÍZICOS**

Tesis realizadas por el C. Ing. Sandra Edith Martínez Villarreal, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAÉSTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR



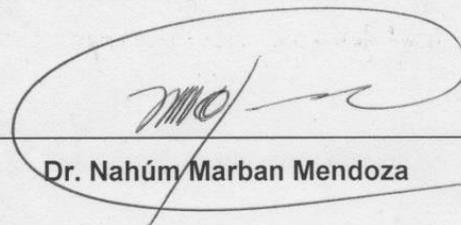
Dr. Víctor Manuel Pinto

ASESOR



M.C. Calixto Leopoldo Carrillo Fonseca

ASESOR



Dr. Nahúm Marban Mendoza

Chapingo, México, 18 de julio del 2012



AGRADECIMIENTOS

A dios, por brindarme la oportunidad de despertar hoy, al lado de mi esposo y mis dos queridos hijos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por darme la oportunidad de estudiar un posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo, al Departamento de Parasitología Agrícola y a la Maestría en Protección Vegetal, que han formado parte de mi vida profesional.

Al profesor Pinto y Calixto Fonseca por su acertada dirección en la presente investigación, sus ánimos, paciencia y amistad.

A mi familia que siempre me han estado apoyando y alentando seguir adelante.

A mis amigos y amigas, por sus consejos, ánimos y momentos especiales que pasamos juntos.

A todas aquellas personas que contribuyeron a la realización de este trabajo y en terminar la maestría.



DEDICATORIA

A mis padres: Rufina Villarreal Hernández y Fidel Martínez Hernández.

Por confiar en mí siempre.

A quien cambió mi vida: Carlos Alonso Molina Hdz. y mis hijos: Astrid Matilda y Ariel. A mi suegra Laura Molina que se encargó del cuidado de mis bebés mientras tenía que ir a la escuela.

A mis hermanos: Fidel, Janeth, Erika y Uriel.

A mis amigos y amigas. Gracias Mary y Katy por apoyarme siempre.



BIOGRAFÍA DEL AUTOR

Nací el 9 de marzo del 1986 en Axtla de Terrazas, San Luis Potosí. Mis padres Rufina Villarreal Hernández y Fidel Martínez Hernández me criaron en este pequeño pueblo. La cuarta hija de cinco hermanos, Fidel, Janeth, Erika y Uriel. A los 15 años, viendo la situación económica y familiar decidí estudiar en la Universidad Autónoma Chapingo. El 23 de junio del 2001 abandoné ese pueblo con muchos sueños, que con esfuerzo y dedicación al pasar los tres primeros años terminé la Preparatoria Agrícola. Los 5 años siguientes se los dediqué a Parasitología Agrícola terminando con éxito. Posteriormente me titulé con la tesis: Comparación entre tres materiales criollos de maíz (*Zea mays*) infestados por el nemátodo enquistado del maíz (*Punctodera chalcoensis* (Stone, Sossa Moss y Mulvey)) en San diego Huehuecalco, Estado de México. Trabajé un corto tiempo en la empresa SERVIPRO de México S.A de C.V. y en el INIFAP Valle de México. Después de un año de egresada, comencé la maestría en Protección Vegetal, que a pesar de tantos obstáculos en el camino, hoy presento mi investigación. Ser esposa, madre y profesionista es una gran tarea.

“Mientras papá y tú soñaban, yo trataba de hacer ciencia”



CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	i
INDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	iv
INTRODUCCION	1
1.1.1 Objetivo general.....	3
1.1.2 Objetivo particular.....	3
1.1.3 Hipótesis.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Maíz (<i>Zea mays</i> L.).....	4
2.1.1 Clasificación taxonómica (Reyes, 1990).....	4
2.1.2 Maíz criollo.....	4
2.1.3 Nematodos asociados a maíz.....	5
2.2 Nemátodos del maíz	
2.2.1 <i>Punctodera chalcoensis</i> (Stone, Sosa-Moss y Mulvey, 1976)	
2.2.1.1 Clasificación taxonómica.....	6
2.2.1.2 Importancia.....	7
2.2.1.3 Hospedantes.....	7
2.2.1.4 Morfología.....	10
2.2.1.5 Biología.....	10
2.2.1.6 Síntomas.....	11
2.2.2 <i>Pratylenchus spp.</i>	
2.2.2.1 Clasificación taxonómica.....	11
2.2.2.2 Importancia.....	11
2.2.2.3 Hospedantes.....	11
2.2.2.4 Morfología.....	12
2.2.2.5 Biología.....	13
2.2.2.6 Síntomas.....	14
2.2.3 <i>Aphelenchus spp.</i>	
2.2.3.1 Clasificación taxonómica.....	14
2.2.3.2 Importancia.....	15
2.2.3.3 Hospedantes.....	15
2.2.3.4 Morfología.....	16
2.2.3.5 Biología.....	17
2.2.3.6 Daños.....	17
2.2.3.7 Síntomas.....	17
2.2.4 <i>Tylenchus spp.</i>	
2.2.4.1 Clasificación taxonómica.....	18



2.2.4.2	Importancia.....	18
2.2.4.3	Hospedantes.....	18
2.2.4.4	Morfología.....	19
2.2.4.5	Daños.....	20
2.2.4.6	Síntomas.....	20
2.2 5 <i>Tylenchorhynchus spp.</i>		
2.2.5.1	Clasificación taxonómica.....	21
2.2.5.2	Importancia.....	21
2.2.5.3	Hospedantes.....	22
2.2.5.4	Morfología.....	22
2.2.5.5	Biología.....	23
2.2.5.6	Daños.....	24
2.2.5.7	Síntomas.....	24
2.2 6. <i>Paratylenchus spp.</i>		
2.2.6.1	Clasificación taxonómica.....	25
2.2.6.2	Importancia.....	25
2.2.6.3	Hospedantes.....	26
2.2.6.4	Morfología.....	26
2.2.6.5	Biología.....	27
2.2.6.6	Daños.....	27
2.3 Micorrizas		
2.3.1	Clasificación taxonómica.....	27
2.3.2	Importancia.....	28
2.3.3	Tipos de micorriza.....	29
2.3.4	Morfología de endomicorrizas.....	31
2.3.5	Dinámica de la asociación micorrízica.....	32
2.3.6	Forma de aplicación.....	34
2.3.7	Algunos factores que afectan la micorrización arbuscular..	35
2.4	Interacción microorganismo-micorriza.....	35
III.MATERIALES Y MÉTODOS		
3.1	Ubicación.....	38
3.2	Inóculo.....	38
3.3	Material vegetativo.....	38
3.3.1	Siembra.....	39
3.4	Micorriza.....	40
3.4.1	Inoculación.....	41
3.5	Diseño experimental.....	42
3.6 Toma de datos		
3.6.1.	Altura de la planta de maíz criollo.....	43



3.6.2. Diámetro del tallo.....	43
3.6.3. Área foliar.....	44
3.6.4 Peso de las plantas de maíz en fresco.....	44
3.6.5 Peso de la raíz final.....	44
3.6.6 Volumen de raíz final.....	45
3.6.7 Población inicial de quistes.....	45
3.6.8 Población final de quistes.....	46
3.6.9 Adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población inicial.....	47
3.6.10 Adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población final.....	48
3.6.11 Porcentaje de colonización micorrízica.....	49
3.7 Análisis estadístico.....	50
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. Análisis de varianza.....	51
4.2.1 Altura de planta.....	52
4.1.2 Diámetro de tallo.....	54
4.1.3 Área foliar.....	55
4.1.4 Peso fresco de planta	57
4.1.5 Peso de raíz de la planta de maíz.....	57
4.1.6 Volumen de raíz.....	58
4.2 Nemátodos.....	60
4.2.1 Población inicial de quistes.....	61
4.2.2 Población final de quistes.....	61
4.2.3 Población inicial de adultos y juveniles.....	63
4.2.4 Población final de adultos y juveniles.....	64
4.3 Micorrizas.....	65
4.3.1 Porcentaje de tejido colonizado por el hongo.....	65
4.3.2 Porcentaje total de colonización micorrízica	65
4.3.3 Micorrizas vesículo arbusculares.....	66
4.4 Correlación.....	68
V. CONCLUSIONES	69
VI. LITERATURA CITADA	70
VII. ANEXO	76

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación de medias por el Método de Tukey de las variables evaluadas.....	51
Cuadro 2. Valores de Pr > F de la altura de planta.....	52
Cuadro 3. Valores de Pr > F de diámetro de planta.....	54
Cuadro 4. Valores de Pr > F de la población inicial de quistes.....	61
Cuadro 5. Valores de Pr > F de la población final de quistes.....	63

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>P. chalconensis</i> en el campo (Becerra, 1978; Martínez, 2008).....	9
Figura 2. Parcela infectada por <i>P. chalconensis</i> en el cultivo del maíz (<i>Zea mays</i>).....	10
Figura 3. Achaparramiento causado por <i>P. chalconensis</i> en el cultivo del maíz.	10
Figura 4. <i>Pratylenchus spp.</i> ((Mai y Lyon, 1996) A) Hembra B) región anterior de la hembra C) Macho D) región posterior del macho.....	12
Figura 5. Ciclo biológico de <i>Pratylenchus spp.</i>	13
Figura 6. <i>Aphelenchus spp.</i> (Mai y Lyon, 1996) A) Hembra B) Región anterior de la hembra.	16
Figura 7. Representante de la familia <i>Tylenchus spp.</i> (Mai y Lyon, 1996) A) Cola del Macho B) Hembra madura.....	19
Figura 8. <i>Tylenchorhynchus spp.</i> ((Mai y Lyon, 1996) A) Hembra B) región anterior de la hembra C) Campo lateral D) región posterior del macho.....	23
Figura 9. <i>Paratylenchus spp.</i> ((Mai y Lyon, 1996) A) y C) Hembra madura B) Cola del macho D) Macho maduro.	26
Figura 10. Ecto y endomicorrizas colonizando el sistema radicular de una planta..	30
Figura 11. Arbúsculos de <i>Glomus musseae</i> en el córtex de una raíz de <i>Allium porrum</i>	31
Figura 12. Vesículas e hifas de una micorriza vesículo- arbuscular (VA) colonizando la raíz de una planta.....	31
Figura 13. Dinámica de la asociación micorrízica en la raíz (Sainz, 2006).....	33
Figura 14. Material criollo de maíz de Zumpango, Estado de México.....	38
Figura 15. Metodología de siembra, a) Humedeciendo el Peat Moss, b) colocación de semillas en el sustrato, c) Tres semillas de maíz por vaso y d) Siembra del material criollo.....	39
Figura 16. Transplante de plántulas de maíz, tratamientos: 1) suelo infestado de nemátodos con plantas no micorrizadas, 2) suelo infestado de nemátodos con plantas micorrizadas en plántula, 3) suelo infestado de nemátodos con plantas	



micorrizadas en semilla.....	40
Figura 17. Micorrizas comerciales utilizadas en el experimento.....	40
Figura 18. Metodología de la inoculación de micorrizas en las semillas de maíz antes de ser sembradas, a) y b) mezcla de leche con agua, c) y d) Micorrizas y e) Semillas en reposo.....	41
Figura 19. Tratamientos: 1) Suelo infestado de nemátodos con plantas sin micorrizas, 2) Suelo infestado de nemátodos con plantas micorrizadas en plántula, 3) Suelo infestado de nemátodos con plantas micorrizadas en semilla, en invernadero, en Chapingo, México.....	42
Figura 20. Estimación del área foliar de los tratamientos con papel milimétrico, para evaluar el efecto de los nemátodos.....	44
Figura 21. Extracción de quistes. A) Mezcla homogénea de la muestra. B) muestra en el tamizado de Cobb. C) Recolección de quistes de los tamices de 60 y 100 mallas. D) Colocación de la muestra sobre papel filtro. E) Secado de muestras.....	45
Figura 22. Conteo de a) quistes y b) huevecillos bajo microscopio compuesto....	46
Figura 23. Conteo de quistes en microscopio estereoscópico.....	46
Figura 24. Extracción de adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población inicial. A) Muestra homogenizada. B) Muestra inicial de suelo en el tamizado de Cobb. C) Recolección de nematodos filiformes. D) Primera centrifugación de la muestra tamizada agregando caolín. E) Segunda centrifugación añadiendo solución azucarada. F) Mezcla de suelo más solución azucarada. G) Resultado de este proceso (sobrenadante de azúcar más nemátodos). H) Vaciado del sobrenadante en el tamiz de 400 y recolección en un frasco de vidrio.....	47
Figura 25. Muestra observada de la población inicial al microscopio compuesto...	48
Figura 26. Tinción de raíces de Phillips y Hayman. A) Primera aplicación de KOH 10% a la raíz. B) Segunda aplicación de KOH 10% a la raíz por 8 días. C) Decantación de KOH al 10%, D) Adición de ácido clorhídrico al 10% en las raíces. E) Adición de fucsina. F) Muestras con colorante a baño María (90°C por 10 minutos). G) y H) Cambios de lactoglicerol a las muestras para evitar excesos de colorante.....	49
Figura 27. Altura de las plantas de maíz en el experimento.....	53
Figura 28. Alturas de las plantas de maíz en el experimento.	54
Figura 29. Diámetro de tallo de las plantas de maíz en el experimento.....	55
Figura 30. Área foliar de las plantas de maíz en el experimento (16/10/2010).....	56
Figura 31. Área foliar final de plantas en el cultivo de maíz.....	56
Figura 32. Peso fresco final de plantas en el cultivo de maíz.....	57
Figura 33. Peso de raíz de las plantas de maíz.....	58
Figura 34. Volumen de raíz de las plantas de maíz.....	59
Figura 35. Volumen de raíz de las plantas de maíz.....	59
Figura 36. Nematodos fitopatógenos en el cultivo del maíz. A) <i>Aphelenchus spp.</i> B) <i>Trichodorus spp.</i> C) <i>Tylenchus spp.</i> D) <i>Tylenchorhynchus spp.</i> , E) saprófagos, G) <i>Paratylenchus spp.</i> , H) <i>Psilenchus spp.</i> e I) <i>Punctodera chalcoensis</i>	60
Figura 37. Población inicial y final de quistes.....	62
Figura 38. Población inicial de nemátodos filiformes en los tratamientos.....	63



Figura 39. Población final de nemátodos filiformes en los tratamientos.....	64
Figura 40. Colonización total micorrízica en la raíz de la planta de maíz. A) Vesículas con 100% de colonización. B) Arbusculos e C) Hifas.....	65
Figura 41. Colonización total micorrízica de vesículas en la raíz de maíz.....	66
Figura 42. Micorrizas vesículo arbusculares extraídas del suelo.....	67
Figura 43. Número de micorrizas vesículo arbusculares extraídas del suelo, en cada uno de los tratamientos.....	67



COMPORTAMIENTO DE LA COMUNIDAD DE NEMATODOS EN EL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*), INOCULADO CON HONGOS MICORRÍZICOS

S.E. Martínez Villarreal¹; V. M. Pinto²; C.L. Carrillo Fonseca³

RESUMEN

El daño por nemátodos es evidente en el desarrollo de las plantas. Las micorrizas absorben agua y sales minerales, y protegen a la raíz de los nemátodos, la raíz le da al hongo hábitat y nutrimentos. Los objetivos de este estudio fueron: evaluar diferencias entre plantas de *Zea mays* L. inoculadas con micorrizas (*Glomus sp.*) y no inoculadas, para verificar la mejor forma de inoculación, en semilla o en plántula; y la respuesta de la comunidad de nemátodos fitopatógenos. Los tratamientos fueron: presencia de nemátodos en el suelo y plantas de maíz sin inocular micorrizas (NsM), presencia de nemátodos en el suelo y plantas de maíz inoculadas con micorrizas en las raíces al momento del trasplante (NMP), y presencia de nemátodos en el suelo y plantas de maíz inoculadas con micorrizas en la semilla (NMS). Con la comparación de medias por el método de Tukey, el mejor desarrollo del cultivo fue NMS, posteriormente NMP y el peor NsM. El cultivo al asociarse con hongos micorrízicos tuvo un 50 % mejor desarrollo y crecimiento. Es mejor inocular la micorriza en semilla y trasplantarla mínimo 15 días después de la inoculación y en plántula un mes antes del trasplante para su establecimiento en la raíz.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES:
Glomus sp., inoculación, daño, nematodo.

ABSTRACT

Nematode damage is apparent in the development of plants. The mycorrhizae absorb water and minerals, and they protect to root of the nematodes, the root gives habitat and nutrients to fungi. The objectives of this study were to assess differences between plants of *Zea mays* L. inoculated with mycorrhizal fungi (*Glomus sp.*) and not inoculated, it is to check the best form of inoculation, in seed or seedling, and the response from the community of phytopathogenic nematodes. The treatments were: the presence of nematodes in soil and corn plants without mycorrhizal inoculation (NSM), the presence of nematodes in soil and corn plants inoculated with mycorrhizal fungi in the roots when transplanting (NMP), and the presence of nematodes in soil and corn plants inoculated with mycorrhizal fungi in the seed (NMS). With the comparison of means by Tukey's method, the best crop development was NMS, NMP and then the worst NSM. The crop associated with mycorrhizal fungi had 50% better growth and development. It is best inoculate the seed and transplant it 15 days after inoculation and the inoculation on seedling one month before the transplant to be established in the root.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Glomus sp.*, inoculation, damage, nematode.

¹ Pasante de Maestro en Ciencias en Protección Vegetal; ² Doctor, Investigador del Depto. De Parasitología Agrícola; ³ Maestro en Ciencias, Investigador del Depto. De Parasitología Agrícola



I. INTRODUCCIÓN

Entre los cereales de mayor importancia en el mundo, el maíz compite con el trigo y arroz en el volumen mundial producido (ACERCA 2004; FAO 2004). Además es el cereal más cultivado en el mundo, su amplia distribución indica su gran capacidad de adaptación a diferentes ambientes (Vázquez, 2006).

Desde el punto de vista alimentario, social y económico el maíz es el cultivo más importante en México. Los principales estados productores de maíz blanco son: Sinaloa, Jalisco, Michoacán, Chiapas y Guerrero, Estado de México, Guanajuato, Veracruz y Puebla. En cuanto a la producción de maíz amarillo son: Chihuahua, Jalisco, Tamaulipas y Chiapas. En 2010, la superficie sembrada de maíz de grano es 7, 860, 705.49 ha con un rendimiento de 3.26 ton/ha.¹

Se estima en forma conservadora que las plagas que atacan el maíz son responsables de la pérdida de un 15 a 20 % de la producción nacional. El daño que causan los nematodos pasa desapercibido, si los factores de desarrollo de las plantas son favorables; sin embargo el problema de los nemátodos se incrementa cuando alguno de estos factores es adverso al desarrollo de las plantas y entonces, se observa en el cultivo su efecto detrimental (Pérez, 1971). Los nematodos asociados al maíz, mediante reconocimientos efectuados 10 años atrás en algunos estados del altiplano de México son: *Heterodera punctata* (*Puntodera chalcoensis*), *Pratylenchus penetrans*, *Tylenchorhynchus acti*, *Aphelenchus avenae*, *Helicotylenchus erythrinae*, *Pratylenchus nannus* y *Trichodorus* sp. (Vázquez, 1976).

La producción agrícola en la que se utilizan principalmente productos orgánicos, en lugar de productos químicos, pueden alcanzarse con el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan mantener la fertilidad del suelo y al mismo tiempo sean ambiental y socio-económicamente viables. De las asociaciones biológicas de carácter simbiótico que se encuentran en la naturaleza, aquellas que

¹http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/Integracion/EstadisticaDerivada/ComercioExterior/Estudios/Perspectivas/maiz96-12.pdf



ocurren en los vegetales son de especial importancia desde el punto de vista del aprovechamiento de hombre.

El estudio del sistema micorriza es muy importante, en esta asociación raíz-hongo, ambas estructuras resultan beneficiadas: la raíz le da al hongo hábitat y nutrimentos; el hongo absorbe agua y sales minerales para la raíz y además, la protege de ciertos patógenos (Castellano y Molina, 1989). La presencia de un hongo formador de micorriza eficaz reduce en alguna forma la invasión y reproducción de nematodos, debido posiblemente a un mecanismo físico que afecta la penetración del patógeno (Nehemiah, 1977; Roncadori y Hussey, 1977); citados por Estañol, 1992). Se ha observado que la especie del hongo formador de micorriza, así como el genotipo del hospedante, determina el comportamiento final del patógeno (Azcon y Ocampo, 1981).



1.1 OBJETIVO

1.1.1 Objetivo general

Evaluar en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) el comportamiento de las comunidades de nematodos fitopatógenos al interactuar con hongos micorrízicos.

1.1.2 Objetivo particular

- Evaluar diferencias entre plantas inoculadas con micorrizas y no inoculadas; para verificar la mejor forma de inoculación, en semilla o en plántula.
- Evaluar la respuesta de la comunidad de nemátodos fitopatógenos en plantas inoculadas con micorrizas y no inoculadas.

1.1.3 Hipótesis

- Cuando la capacidad de asociación de hongos micorrízicos es mayor en las raíces del cultivo de maíz disminuye el grado infección de nematodos, por lo tanto su daño es menor.
- El tiempo que tarda en establecerse en el suelo y el tipo de inoculación del hongo formador de micorriza en el hospedante determina la respuesta del nematodo.



II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Maíz (*Zea mays* L.)

2.1.1 Clasificación taxonómica (Reyes, 1990)

Reino: Vegetal

Phyllum: Tracheophyta

Clase: Angiosperma

Subclase: Monocotiledóneas

Orden: Graminales

Familia: Graminidae

Tribu: Maydini

Género: *Zea*

Especie: *Z. mays*

2.1.2 Maíz criollo

Un maíz criollo es un término campesino que se utiliza para denotar que es un material nativo de la comunidad, región, estado o país; y que se diferencia de un material extranjero, un maíz híbrido o una variedad mejorada. Son materiales que han sido formados por los agricultores durante muchos años, mediante una selección empírica, y lo conservan y manejan año tras año en complejo sistema de intercambio de semillas y genes (Anónimo, 2006).



2.1.3 Nematodos asociados a maíz

Talavera (1976), identificó al género *Punctodera* como uno de los más frecuentes en las zonas maiceras de Chalco y Texcoco, mientras que Vázquez (1976) lo encontró ampliamente distribuido en Tlaxcala, Puebla y México.

Becerra (1978), concluyó que los nemátodos predominantes en el suelo de maíz para la zona de Amecameca fueron: *Helicotylenchus* sp., *Tylenchorhynchus* spp., *Nothocriconema* sp., *Macroposthonia* sp., *Hoplolaimus* sp., larvas y machos de *Punctodera chalcoensis*, *Meloidogyne incognita*, *Trichodorus* sp., *Tylenchus* sp. y *Aphelenchus* sp.

Se ha reportado para el estado de Tabasco, los géneros de: *Helycotylenchus*, *Pratylenchus*, *Xiphinema*, *Meloidogyne*; y los géneros *Psilenchus*, *Aphelenchus*, *Tylenchus* y *Ditylenchus* (Ortiz, 1979).

Quiroga *et al.* (1992) reporta en Tabasco a: *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Criconemella*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchus*, *Aphelenchus*, *Aphelenchoides* y las familias Tylenchidae y Rhabditidae; como nemátodos asociados a raíces y suelo rizosférico de maíz en orden de importancia por el número de individuos. Sin embargo, no reportan a *Meloidogyne* ni *Xiphinema*.



2.2 Nemátodos del maíz

2.2.1 *Punctodera chalcoensis* (Stone, Sosa-Moss y Mulvey, 1976)

2.2.1.1 Clasificación taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Animalia

Superphylum: Aschelminthes

Phylum: Nematoda

Clase: Secernentea

Subclase: Tylenchia

Orden: Tylenchida

Suborden: Hoplolaimina

Superfamilia: Hoplolaimoidea

Familia: Heteroderidae

Subfamilia: Heteroderinae

Género: *Punctodera* (Mulvey & Stone, 1976)

Especie: *P. chalcoensis*

2.2.1.2 Importancia

Punctodera chalcoensis es un parásito importante del maíz en México, cuando está asociada con hongos puede causar hasta el 90 % de pérdidas en la producción (Sosa- Moss, 1987). La dispersión es a través de la raíz, de suelo infestado, y de material propagativo (raíz) mal esterilizado (CABI, 2001). Debido al volumen del comercio con México, y la importancia económica de la cosecha del maíz en los E.E.U.U., y a las pérdidas económicas divulgadas en México, este



nemátodo enquistado del maíz es categorizado en el grado de prioridad moderada (CAB International, 2001).

2.2.1.3 Hospedantes

El principal hospedante es el maíz (*Zea mays*), también en el teocintle (*Zea mexicana*) se presentan infestaciones (CAB International, 2001).

2.2.1.4 Morfología

Las hembras adultas son esféricas o alimonadas y miden de 0.4-0.7 mm de largo y 0.3-0.7 mm de ancho. El estilete es de 25 μ m largo. Las hembras adultas son de color blanco perla que se tornan cafés con el tiempo convirtiéndose en quistes. El quiste puede tener patrones de zigzag que son a veces rugosos. Los huevos son generalmente retenidos en el quiste hasta que eclosionan (Nickle, 1984).

2.2.1.5 Biología

Son habitantes sedentarios endoparásitos. Los quistes son persistentes (mayor a 10 años), color oscuro, estos se derivan del cuerpo de la hembra y contienen huevos. Los quistes de esta especie son subesféricos u ovoides, carecen de protuberancia posterior, bulba larga y una fenestra anal; son provistos de una bulba pequeña. El estado juvenil dos (J2) emerge de los quistes, penetran a las raíces de los hospedantes y establece un sitio de alimentación especializada (sinsitio) con el estilete. Se desarrollan convirtiéndose en hembras hinchadas que retienen los huevos, rompen la corteza de la raíz y salen de la superficie de la raíz. Al final de la fase de reproducción, las hembras mueren y se convierten en quistes café-oscuro (CABI, 2001).

Según Becerra (1978): el segundo estadio larvario del nemátodo, es el estado infectivo, encontrado en el suelo a los 13 días de sembrado el cultivo. A los 28 días había larvas de tercer estadio dentro de las raíces; se observaron pudriciones en las mismas pero en número reducido, en forma de pequeñas manchas alargadas café oscuro. A los 42 días estaba completo el tercer estadio



larval y la tercera muda se había efectuado ya en los nemátodos observados en el muestreo de los 57 días. La cuarta muda del macho y un gran número de ellos, se observaron a los 79 días, así el cuarto estadio de las hembras adheridas a las raíces. A los 90 días se encontró la mayor cantidad de machos en el suelo y a los 115 días se observaron los primeros quistes nuevamente formados. A los 130, 145 y 160 días siguieron encontrándose hembras en fase lechosa y quistes bien formados. Hasta aquí nos da indicios de que se presente una segunda generación en el campo. La ocurrencia progresiva de hembras y quistes recién formados (de agosto a noviembre) se debe a que no todos los quistes que representan el inóculo primario empiezan a liberar larvas de segundo estadio al mismo tiempo, por lo que las hembras y quistes que aparecen ya casi en el periodo de invierno se originan de larvas de segundo estadio que salieron mas tardíamente (Figura 1).

En un estudio en condiciones controladas del ciclo vital del nematodo, se demostró que la fase infestante, la ocasiona la larva del segundo estadio y su ciclo es completado hasta los 75 y 80 días después de la penetración; también que los exudados radicales tienen un notable efecto sobre la liberación de larvas a partir de quistes (Muñoz, 1983; citado por Nuñez, 1997).



Figura 1. Ciclo de vida de *P. chalcoensis* en el campo (Becerra, 1978; Martínez, 2008).



2.2.1.6 Síntomas

En las siembras tardías (finales de abril o principios de mayo) se han presentado síntomas de enanismo, clorosis, falta de vigor y baja producción, atribuibles a la acción de los nemátodos solos o interactuando con otros patógenos (Figura 2 y 3); *Erwinia* sp.y *Pseudomonas* sp. causaron daños más severos en presencia de *P. challoensis* (Becerra,1978).



Figura 2. Parcela infectada por *P. challoensis* en el cultivo del maíz (*Zea mays*).

Las plantas afectadas por *P. challoensis* tienen retraso en el crecimiento y son cloróticas. Hojas laterales cortas y retraso en el crecimiento del sistema radical dando la apariencia de un cepillo redondo. La fertilización puede particularmente encubrir los síntomas (Stone *et al.* 1976; citado por Nickle, 1984).

P. challoensis en las raíces de maíz, penetran la corteza dañando células corticales; después establecen sitios de alimentación permanentes en la endodermis, modificando las células endodérmicas y las adyacentes al periciclo para formar un sincitio. También observaron que el nemátodo comúnmente se empieza a alimentar de una célula endodérmica, pero a veces lo hace una célula cortical o del periciclo. El sincitio originado en la endodermis o

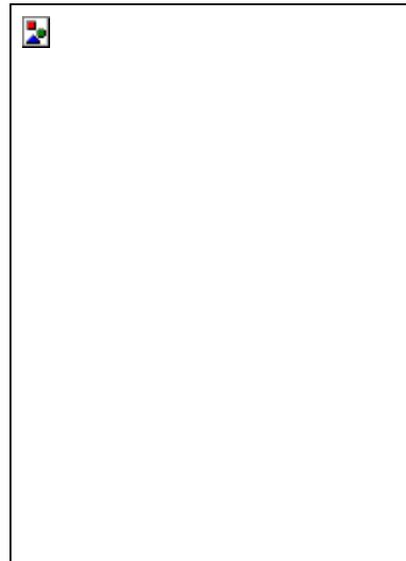


Figura 3. Achaparramiento causado por *P. challoensis* en el cultivo del maíz.

el periciclo se expande profundamente dentro del estele, y aquellas originadas de la célula cortical se expande dentro de la corteza y las porciones adyacentes del suelo (Suárez *et al.*, 1985; citado por Nuñez, 1997).



2.2.2 *Pratylenchus* spp.

2.2.2.1 Clasificación taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Animalia

Superphylum: Aschelminthes

Phylum: Nematoda

Clase: Secernentea

Subclase: Diplogasteria

Orden: Tylenchida

Suborden: Tylenchina

Superfamilia Tylenchoidea

Familia Pratylenchidae

Subfamilia Pratylenchinae

Género *Pratylenchus* (Filipjev, 1963) (Lee, 2002)

2.2.2.2 Importancia

Pratylenchus zeae ha reducido las producciones de maíz en un 20% en Estados Unidos (White, 2004).

2.2.2.3 Hospedantes

Más de cien vegetales se han encontrado infestados con nematodos lesionadores de una u otra clase, tales como alfalfa, algodón, garbanzo, caña de



azúcar, y tabaco, cereales como avena, maíz, centeno, trigo; col, zanahoria, patata y tomate; frutales como toronja, piña, frambuesa, fresa y plátano; árboles y arbustos como manzanos, higuera, caoba, durazno, nogal, así como plantas ornamentales (Christie, 1982).

2.2.2.4 Morfología

Nematodo cilíndrico < 1.0 mm. Cabeza cónica redondeada o truncada. Cutícula con finos anillos y pliegue laterales. Usualmente con cuatro incisuras. Estilete marcado de 14-19 μm y nódulos basales claramente visibles al microscopio. Istmo delgado. Bulbo espatulado o redondeado. Sobre posición del esófago ventralmente, lumen esofágico e intestino unidos por una válvula muscular oscura. Vulva normalmente con membranas cuticulares laterales, entre el 80 y 70% de la parte anterior a la cabeza. Ovario monodélfico- prodélfico no reflejado. Cola redondeada (Mai y Lyon, 1996).



Figura 4. *Pratylenchus* spp. ((Mai y Lyon, 1996) A) Hembra B) región anterior de la hembra C) Macho D) región posterior del macho.



2.2.2.5 Biología

Las hembras adultas ponen sus huevos por separado en los tejidos radiculares o en el suelo. El juvenil de la primera fase se muda a la segunda dentro del huevo, éste eclosiona del huevo y después muda tres veces hasta convertirse en adulto. Se ha demostrado que la presencia de raíces de maíz estimula la eclosión de los huevos. El ciclo de vida en maíz puede ser completado en 3-4 semanas a 24° C. Todos los juveniles fuera del huevo y adultos pueden infectar las raíces. La invasión de la raíz puede ocurrir en la punta de la raíz, en la región de los pelos y uniones de raíces laterales jóvenes (White, 2004).

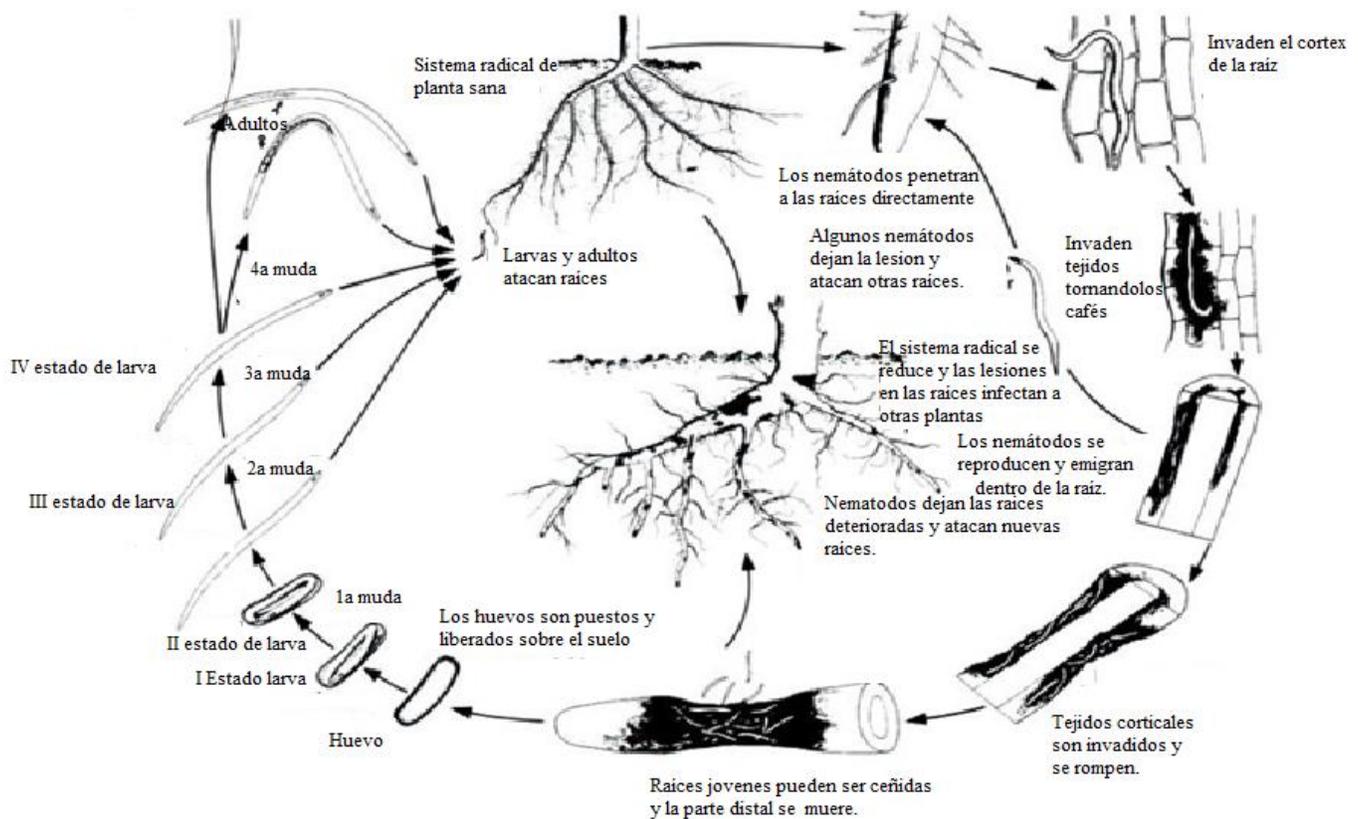


Figura 5. Ciclo biológico de *Pratylenchus* spp.

http://www.google.com.mx/imgres?q=pratylenchus+spp&hl=es&sa=X&rlz=1R2ACAW_esMX392&tbm=isch&prmd=imvns&tbid=Q3kwcWR_znLYBM:&imgrefurl=http://www.sardi.sa.gov.au/pestsdiseases/plant_soil_health/nematology_diagnostic_service/nematodes_in_south_australia&docid=mf5Pk3KDSRHs_M&w=818&h=608&ei=uAqGTrfvLM:gtgewlyw&zoom=1&iact=hc&vpx=840&vpy=157&dur=1538&hovh=193&hovw=260&tx=122&ty=97&page=1&tbid=153&tbw=206&start=0&ndsp=11&ved=1t:429,r:3,s:0&biw=1366&bih=538 1/ Oct/ 2011. Traducido por Martínez, 2012.



2.2.2.6 Síntomas

Con altas poblaciones de nematodos puede aparecer una reducción de las raíces fibrosas y un desprendimiento del tejido cortical en las raíces infectadas. Plantas raquílicas, a veces cloróticas, pueden localizarse en rodales o puede ser evidente una supresión general del crecimiento en todo el campo de maíz (White, 2004).

Cepeda (1996) menciona que las plantas muestran achaparramiento y clorosis, como si tuviera deficiencias minerales o falta de agua. A medida que la infección progresa el achaparramiento se hace más evidente, el follaje se marchita en días cálidos y adquiere un color café amarillento. La producción de plantas afectadas disminuye y si la infección es severa la planta muere.

2.2.3 *Aphelenchus* spp.

2.2.3.1 Clasificación taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Animalia

Superphylum: Aschelminthes

Phylum: Nematoda

Clase Secernentea

Subclase Diplogasteria

Orden Aphelenchida

Suborden Aphelenchina

Superfamilia Aphelenchoidea

Familia Aphelenchidae



Subfamilia Aphelenchinae

Género *Aphelenchus* (Bastian 1865) (Lee, 2002)

2.2.3.2 Importancia

Aphelenchus avenae es dispersado en material descompuesto como bulbos, tubérculos, rizomas y raíces. No es un parásito obligado de las plantas. En pruebas de invernadero invadió lesiones en raíces de maíz infectadas con *Phytium arrhenomanes* pero no invade de forma similar en raíces sanas en que este hongo no estaba presente (Rhoades y Lingord, 1959; citado por Mai y Lyon, 1996).

Los nematodos de vida libre están en diversos tipos de descomposición de materiales orgánicos, tanto animales y vegetales en condiciones naturales. En varias muestras tomadas de estiércol de cerdo se encontraron seis larvas, cuatro hembras y dos machos, pertenecientes al género *Aphelenchus* (Goodey, 1927).

2.2.3.3 Hospedantes

Los principales hospederos son el aguacate, ajo, alfalfa, algodón, avena, caña de azúcar, cafeto, camote, cebolla, ciruelo, cítricos, cocotero, mango, manzano, melón, nogal, papayo, piña, sorgo, tomate, trigo, vid y yuca (Cepeda, 1996).



2.2.3.4 Morfología

Los miembros de este género tienen el cuerpo cilíndrico, bulbo esofágico bien desarrollado que ocupa la tercera o cuarta de lo ancho del cuerpo y es visible bajo el microscopio de disección. Cuerpo disminuyendo anteriormente. Cutícula estriada transversalmente. Campo lateral con cisuras numerosas. Deiridios presentes a nivel del poro excretor. La cabeza ligeramente desplazada. Estilete con engrosamientos ligero en la base. Procorpus cilíndrico, levemente restringida donde se une con el bulbo esofágico medio ovoide, que contiene importantes placas bulbosas en semiluna. Glándulas esofágicas por lo general con o sin un lóbulo superposición del intestino dorso-lateral y se une al tubo digestivo donde el anillo nervioso rodea al bulbo medio. Poro excretor contrario al anillo nervioso. Intestino unido al bulbo medio por un istmo corto a altura de 1.5 del cuerpo. Vulva posterior, ovario extendido, prodelfico; saco postvulvar presente, oscuro y no, pero al llegar a la mitad de camino de la vulva hasta el ano. Vagina con paredes gruesas. El recto de una a dos anchos de cuerpo largo. La cola entre una y cuatro veces el ancho del cuerpo, cilíndrica con un extremo redondeado. Fásmidias subterminal. Macho con bursa, espículas iguales, delgadas y arqueadas ventralmente (Mai y Lyon, 1996). La familia Aphelenchoide presenta de seis a 14 campos laterales, y tienen una región del gobernáculo y espícula muy desarrollada (Cepeda, 1996).

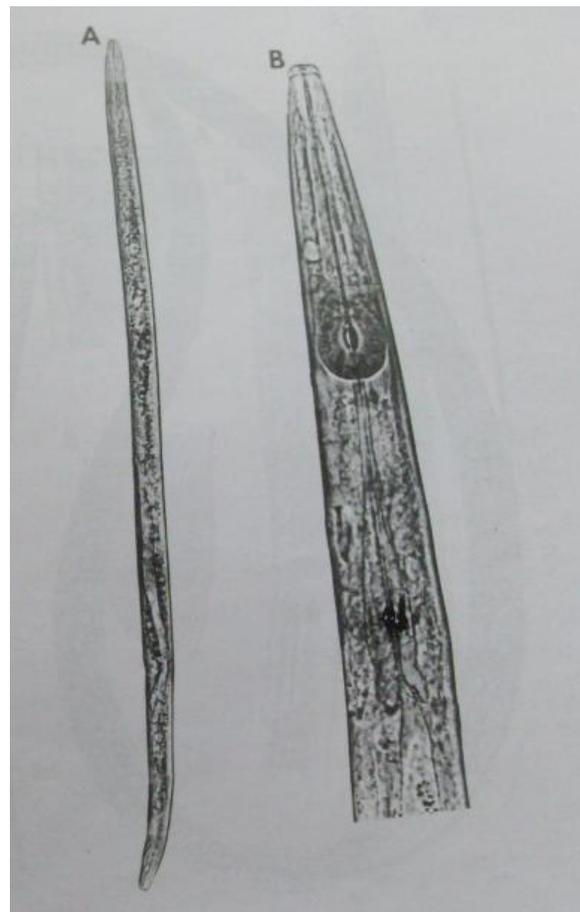


Figura 6. *Aphelenchus* spp. (Mai y Lyon, 1996) A) Hembra B) Región anterior de la hembra.



2.2.3.5 Biología

Las especies del género *Aphelenchus* pasan por cuatro mudas. Hibernan en yemas, zonas de crecimiento y hojas muertas sobre el terreno. Su periodo de actividad es durante la primavera, época en la que se distribuyen desplazándose de las zonas infectadas a otras plantas, nadan por una película de agua y ascienden al tallo, donde atacan yemas y hojas, y forman manchas grandes como pústulas, a la vez que mantienen a las hojas pequeñas deformadas y rugosas. Los huevecillos, las larvas y los adultos se desarrollan en hojas y yemas. Las hojas infectadas se marchitan y mueren, y se forman cicatrices alrededor de las yemas infectadas, finalmente la planta muere (Cepeda, 1996).

2.2.3.6 Daños

Aphelenchus avenae puede impedir la formación de micorrizas en la raíz del pino al alimentarse de ellas (<http://nema-agris.blogspot.mx/2011/04/nematodos-del-suelo.html>).

2.2.3.7 Síntomas

Invaden yemas florales, vegetativas o ambas, ocasionando deformaciones e inhiben la fecundación, ya que pueden destruir las partes florales. Las zonas infectadas se arrugan y enroscan, cuando el daño es grave se tornan de color rojizo, e impiden la fotosíntesis, lo que causa la muerte de la planta (Cepeda, 1996).



2.2 4 *Tylenchus spp.*

2.2.4.1 Clasificación taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Animalia

Superphylum: Aschelminthes

Phylum: Nematoda

Clase Secernentea

Orden Tylenchida

Suborden Tylenchina

Superfamilia Tylenchoidea

Familia Tylenchinae

Género *Tylenchus* (Bastian, 1865)

2.2.4.2 Importancia

Este género se encuentran en campos cultivados, alrededor de las raíces de muchas especies de plantas (Mai y Lyon, 1996).

2.2.4.3 Hospedantes

Se alimentan y reproducen en alfalfa, plantaciones forestales y tejidos de álamos (Mai y Lyon, 1996).



2.2.4.4 Morfología

Los miembros del género *Tylenchus* se caracterizan por su larga cola filiforme puntiaguda, esófago no sobrepuesto, estilete bien desarrollado con nódulos basales. Región labial estríada. Vulva a la mitad del cuerpo. Bursa corta adanal. Deiridios prominentes. Bulbo esofágico medio oval con aparato valvular refractivo. Istmo largo, esbelto, terminando en un bulbo basal piriforme conteniendo tres núcleos (Thorne, 1949; citado por Mai y Lyon, 1996).

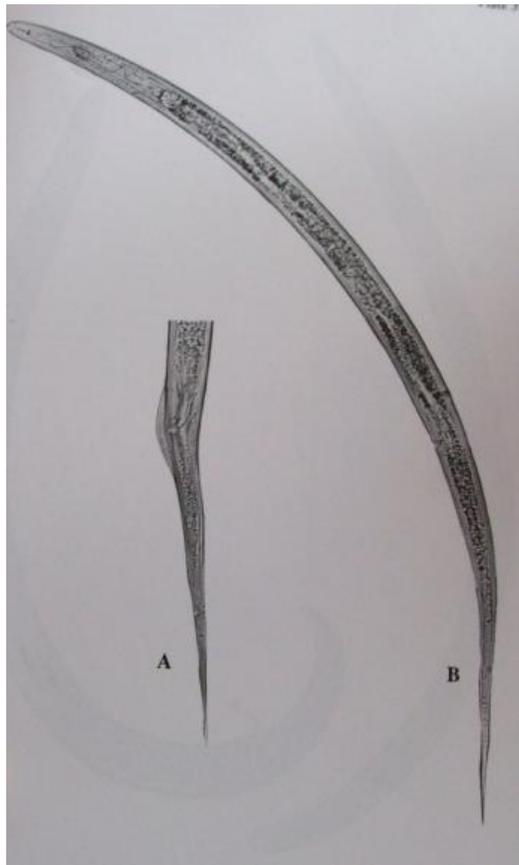


Figura 7. Representante de la familia *Tylenchus* spp. (Mai y Lyon, 1996) A) Cola del Macho B) Hembra madura.



2.2.4.5 Daños

Produce daños ligeros, su estilete pequeño penetra solo en las células de pared delgada. Son ectoparásitos de raíces de las plantas, y pelos radicales (<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Taxadata/G140.HTM#Life Cycle>).

Yeates *et al.* (1993) describe a *Tylenchus* como alimentadores de plantas (algas, líquenes), musgo (se alimentan por perforación) o hifas; también lo clasifica como asociación de plantas- nematodos lo que indica que fueron encontrados en la rizosfera de plantas.

(<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Taxadata/G140.HTM>)

2.2.4.6 Síntomas

Probablemente bastante pequeño, muchos reportes informan el rango de concurrencia y abundancia sin tener efectos en el crecimiento del cultivo (<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Taxadata/G140.HTM#Economic Importance>:).

Thorne (1961): *Tylenchus spp.* son encontrados frecuentemente en la rizosfera de plantas. Sin embargo, no han sido observados como ectoparasitos o endoparasitos, su pequeño y fuerte estilete indica que probablemente se alimentan de pelos radicales o micelio. Wood (1971): menciona que la alimentación y reproducción de *Tylenchus maiakus* ocurría en plántulas de pastos. *Tylenchus rikus* llevaban dichas acciones en hongos. Y en especies de *Tylenchus* observó la alimentación en hongos y musgos.

(<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Taxadata/G140.HTM#Hosts>:)



2.2 5 *Tylenchorhynchus* spp.

2.2.5.1 Clasificación taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Animalia

Superphylum: Aschelminthes

Phylum: Nematoda

Clase Secernentea

Subclase Diplogasteria

Orden Tylenchida

Suborden Tylenchina

Superfamilia Tylenchoidea

Familia Belonaimidae

Subfamilia Telotylenchinae

Género *Tylenchorhynchus* Cobb, 1913

(Lee, 2002)

2.5.2.2 Importancia

Estos fitonemátodos llegan a ser numerosos y causar grandes daños. Varias especies se adaptan a situaciones ecológicas. *T. claytoni* está presente en el este de Estados Unidos, Canadá y Europa en asociación con céspedes, papa, maíz, viveros, azaleas y algunas malezas. *T. cylindricus* es nativo de los suelos áridos del oeste de Estados Unidos. *T. annulatus* (= *T. martini*) está presente en áreas tropicales y subtropicales, frecuentemente en arroz, caña de azúcar y



pastos. *T. dubius* es común en Europa en una amplia variedad de hospedantes (Dropikin, 1989).

2.2.5.3 Hospedantes

Especies de *Tylenchohynchus* son asociadas con raíces de muchos cultivos, incluyendo tabaco, algodón, avena y maíz (Mai y Lyon, 1996). Cepeda (1996) menciona a alfalfa, algodón, avena, ajo, caña de azúcar, clavel, tabaco, maíz, manzano, chícharo, pastos, fresa, papa, plátano, piña, sandía, sorgo, soya, vid y algunas plantas desérticas (Christie, 1982).

2.2.5.4 Morfología

El nemátodo atrofiador es identificado por su esófago tilencoide, que tiene un bulbo medio bien desarrollado y un bulbo basal glandular muy prominente que no traslapa (White, 2004).

Esófago no sobrepuesto, cola cónica y estilete fuerte con nódulos basales son de ayuda para su identificación. Crestas longitudinales presentes en el cuerpo. Cola cónica o subcilíndrica, cutícula más gruesa en la porción distal. Cabeza continúa. Estilete de 15-30 μm , delgado como aguja. El macho con región caudal raramente lobulada, espículas bien desarrolladas con velo. Adquieren la forma de C al morir (Mai y Lyon, 1996).

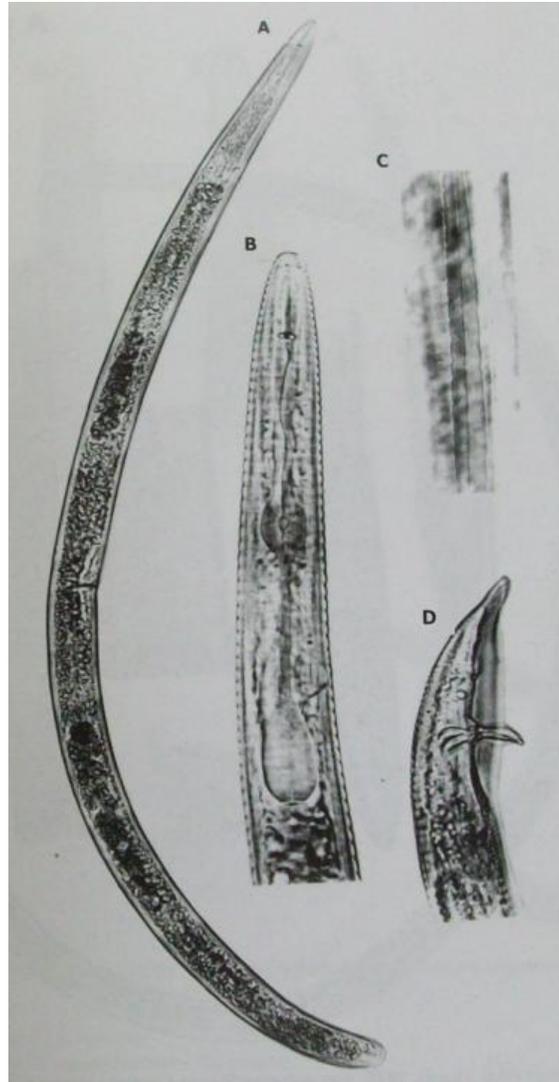


Figura 8. *Tylenchorhynchus* spp. ((Mai y Lyon, 1996) A) Hembra B) región anterior de la hembra C) Campo lateral D) región posterior del macho.

2.2.5.5 Biología

Tylenchorhynchus spp. es un ectoparasito de raíces. Se alimentan de las células epidermales en la proximidad de los pelos radicales y la región de elongación. Durante la alimentación, permanece en una mancha un corto de tiempo, poco menos de 10 minutos. Introduce su estilete hasta que una célula es abierta, los gránulos se mueven de las glándulas esofágicas al estilete en la célula. Aparentemente el contenido de la célula es parcialmente digerida antes de



que el nematodo la ingesta. *T. annulatus* es llamado “el hormiguero”. Los nemátodos se agregan en masas que aparecen tener cutículas pegajosas (Dropkin, 1989).

2.2.5.6 Daños

Se alimentan exclusivamente en la superficie de las raíces, aunque puede encontrarse parcial o completamente incrustados dentro de la raíz (White, 2004). El daño está asociado al retraso de crecimiento del sistema radical, amarillamiento en la planta, retraso del crecimiento y marchitamiento (Mai y Lyon, 1996).

Varios hongos son asociados con *Tylenchorhynchus* spp.: *Phoma medi. caginis* var. *pinodella* en chícharo, *Fusarium roseum* en *Poa pratensis*, y *Aphanomyces euteiches* en chícharo. Otros nematodos suprimen la reproducción de *Tylenchorhynchus*, porque el daño en las raíces es suficiente para reducir los sitios de alimentación. *Pratylenchus*, *Criconemoides* *Belonolaimus*, *Paratrichodorus*, *Heterodera*, y *Meloidogyne* son reportados por este efecto (Dropikin, 1989).

2.2.5.7 Síntomas

Los nematodos del raquitismo son parásitos radiculares, algunas veces penetran en la raíz convirtiéndose en endo parásitos. Las plantas que son atacadas por estos nematodos presentan disminución en el crecimiento de la porción aérea y del sistema radicular.



2.2 6. *Paratylenchus* spp.

2.2.6.1 Clasificación taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Animalia

Superphylum: Aschelminthes

Phylum: Nematoda

Clase Secernentea

Subclase Diplogasteria

Orden Tylenchida

Suborden Tylenchina

Superfamilia Criconematoidea

Familia Tylenchulidae

Subfamilia Paratylenchinae

Género *Paratylenchus* Micoletzky, 1992

(Lee, 2002)

2.2.6.2 Importancia

El género *Paratylenchus* es cosmopolita, se presenta en diferentes zonas climáticas y además son los nematodos parásitos más pequeños de plantas, muchas especies son ectoparásitas. Se le conoce con el nombre de nemátodos de alfiler (Cepeda, 1996).



2.2.6.3 Hospedantes

Afecta almendra, cereza, higuera, olivo, plátano, vid y un amplio rango de vegetales. Román en 1978, cita a este mismo género en cacao, cítricos, plátano y té. Además es parásito de cultivos hortícolas como calabaza, cocotero, pepino, piña, repollo y tomate (Mai y Lyon, 1996).

2.2.6.4 Morfología

Tiene nódulos medianos, fuertes y visibles al microscopio. El cuerpo es muy corto, aproximadamente de 0.5 mm de longitud (algunas especies sólo miden 0.20 mm). Cuando se observan relajados o muertos conservan la forma de reposo curvado. El estilete es fuerte, de longitud variable en las hembras, en los machos reducido o inexistente. El esófago es con bulbo medio y el bulbo basal ahusado. La vulva se localiza entre el 70 y 75% de la parte anterior de la cabeza. El ovario es monodélfico-prodélfico reflejado. El macho no tiene bursa (Mai y Lyon, 1996).



Figura 9. *Paratylenchus* spp. ((Mai y Lyon, 1996) A) y C) Hembra madura B) Cola del macho D) Macho maduro.



2.2.6.5 Biología

Segundo y tercer estado juvenil, así como hembras adultas de *Paratylenchus*, se alimentan. Sin embargo, J3- J4 carecen de estilete y sobreviven en el suelo por largos periodos sin alimento. Esta etapa requiere de exudados de raíces de hospedantes para realizar su última muda. Los adultos jóvenes entran a las raíces y se desarrollan grandes poblaciones, especialmente en suelos de textura fina (Mai y Lyon, 1996)

2.2.6.6 Daños

Los nemátodos de *Paratylenchus* insertan su estilete en las células epidermales o en la base de los pelos radicales. Los individuos pueden alimentarse de la misma célula por varios días sin matarla. Sin embargo en ciertos hospedantes, al alimentarse el nemátodo se observan áreas necróticas y poblaciones masivas pueden matar raíces (Cepeda, 1996).

2.3 Micorrizas

2.3.1 Clasificación taxonómica

Phylum: Zygomycota

Clase: Zygomycetes

Orden: Endogonales

Familia: Endogonaceae

Género: *Glomus* (tipo endotrófica)



2.3.2 Importancia

Existen en la naturaleza asociaciones biológicas de carácter simbiótico. Un tipo simbiótico la constituyen las formaciones radiculares llamadas "micorrizas" en diversas plantas tanto silvestres como cultivadas. Los hongos micorrízicos son microorganismos benéficos estrechamente relacionados con las raíces de muchas plantas de importancia económica. El término micorriza se deriva de las palabras griegas Myke = Hongo y Rhiza=raíz (Germann y Trappe, 1974; citados por Frausto y Nieves, 1989).

El término fue citado por primera vez por Frank en 1885 quien a la vez las clasificó en dos tipos: Micorrizas ectotrofas y micorrizas endotrofa. Esta terminología ha sufrido nuevas modificaciones como lo hacen Peyronel, Fassin, Fontana y Trappe, 1969, quienes introdujeron el término de Ectomicorriza, Endomicorriza y Ectoendomicorriza (citados por Frausto y Nieves, 1989).

La micorrización ha cobrado importancia en las dos últimas décadas en los que se han establecido ensayos de inoculación de micorrizas (Wallander, 1992; citado por Gonzáles, 2007). Las micorrizas hacen referencia a la simbiosis hongo-raíz. Esta simbiosis es un fenómeno general en los vegetales, que se asocian simbioticamente con más de 95% de ellos. El maíz y el sorgo presentan una dependencia elevada de las micorrizas, mientras que el trigo, la cebada y la avena manifiestan una dependencia escasa (Coyne, 1999).

Estos hongos son parásitos altamente especializados, no causan enfermedades en la raíz. Infectan pequeñas porciones de éstas y en ocasiones causan cambios en su apariencia física. El hongo micorrízico es benéfico para el crecimiento y desarrollo de su hospedero por muchas razones (Herrera y Ulloa, 2004). Las raíces micorrizadas viven por más tiempo y son menos sensibles a las enfermedades (Campbell, 1978; citado por Tarango et al. 2004). El mecanismo básico por el cual el hongo micorrízico protege a una raíz de los patógenos es al mejorar la nutrición de la planta, particularmente del fósforo debido a la capacidad de las hifas para explorar un volumen dado de sustrato con más eficiencia que el



sistema radical no micorrizada (Guzmán y Ferrera, 1990; citado por Ramírez, 2005); al ocupar los sitios de infección en la superficie radical que actúa el manto fúngico como barrera; y al producir antibióticos y otras sustancias de defensa (Marx, 1971, Dehne, 1982; citado por Tarango et al. 2004).

Los hongos micorrízicos son capaces de producir vitaminas, sustancias de crecimiento y hasta un antibiótico (Diatretinanitrillo) capaz de proteger a la planta contra el ataque de agentes pudridores de la raíz (Shemalskanova, 1982, citado por Fraustro y Lara, 1989).

Las micorrizas aumentan la velocidad de conducción del agua en las plantas, así como su tolerancia a ciertas enfermedades radicales (Guzmán-Plazola y Ferrera- Cerrato, 1990; citado por Ramírez, 2005). Además de mejorar la nutrición mineral (P y Zn) de los cultivos, disminuyen el estrés de la planta causado por factores bióticos; es decir, favorecen la conservación de agua manteniendo la planta más turgente, incrementan la sanidad (proveen protección contra ciertos hongos patógenos y nematodos) y longevidad de sus raíces, soportan mejor las altas temperaturas del suelo, disminuyen la toxicidad por elementos pesados y le confieren a la planta mayor resistencia al estrés (González, 2007). Otro beneficio es que mejoran la estructura del suelo ayudando a la cohesión de los agregados del suelo (Coyne, 1999). Las micorrizas mejoran la absorción de otros elementos como azufre, potasio y cobre, así como la capacidad de fijación de nitrógeno en plantas leguminosas (Powell, 1975; citado por Estañol, 1992).

2.3.3 Tipos de micorriza

Ectomicorrizas: las hifas no penetran en las células y están restringidas a los espacios entre ellas, donde forman una densa película de micelio que varía desde el color blanco hasta el negro, y normalmente tienen una espesura de 0.02 a 0.04 mm. Son formadas por hongos superiores (Basidiomicetos y Ascomicetos) y muchas especies maderables incluyendo plantas de la familia Pinaceae,



Fagaceae, Betulaceae, Rosaceae, Cupresaceae y Fabaceae (Fig. 4) (González, 1995).

Endomicorrizas: Viven dentro de la raíz y no son visibles a simple vista. Dentro de estas se clasifican separadamente a las micorrizas arbutoide, monotropoide, ericoide y orquideoide, sin embargo, la endomicorriza arbuscular es la más común y ocurre en más del 90% de las plantas superiores (Harley y Smith, 1983). La micorriza arbuscular se produce casi exclusivamente en gramíneas, leguminosas y prácticamente todas las plantas herbáceas, con excepción de las brassicaceas y lilaceas (Fig. 4) (Primavesi, 1982).

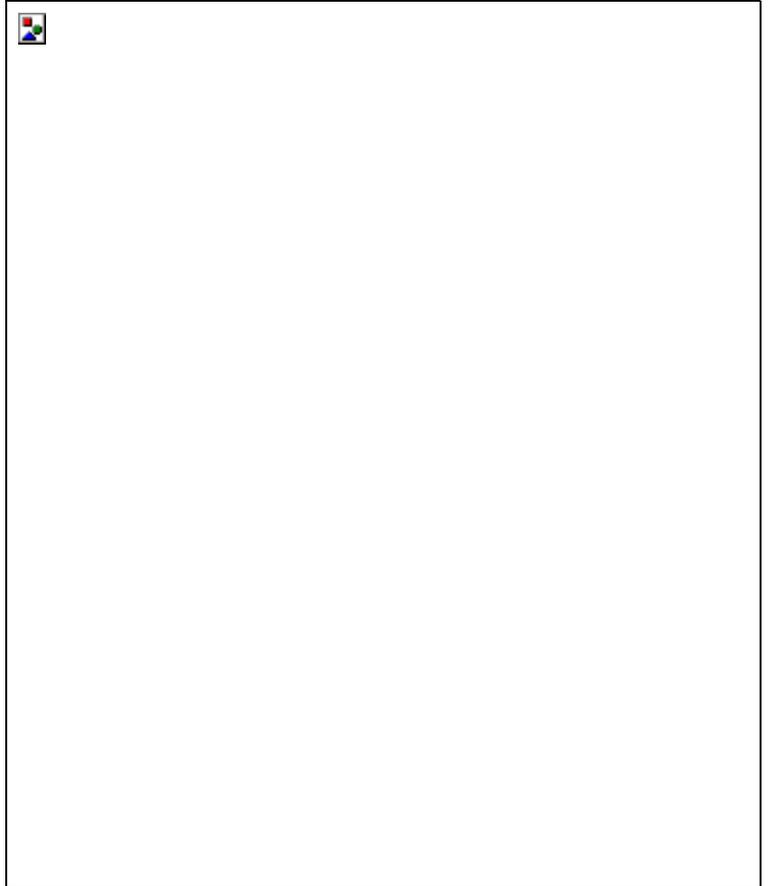


Figura 10. Ecto y endomicorrizas colonizando el sistema radicular de una planta.

Los hongos endomicorrízicos, no se establecen únicamente en las raíces cortas de las plantas sino también en las raíces que sustentan a éstas. La mayoría de los cultivos agrícolas económicamente importantes, los cultivos forrajeros, ornamentales, así como frutales, tienen endomicorrizas. Algunos árboles de importancia forestal tales como el maple, olmo, etc. forman endomicorrizas. Ciertas especies de árboles forestales pueden tener ecto y endormicorrizas (Piña, 1976 citado por Fraustro y Lara, 1989).



Herrera y Ulloa (2004), comentan que las especies de *Glomus sp.* pueden asociarse con gramíneas, palmas, cebolla, leguminosas, compuestas, helechos y briofitas.

2.3.4 Morfología de endomicorrizas

En los órganos infectados las hifas penetran a la corteza de la raíces y forman hifas principales en los espacios intercelulares y haustorios cortos y laterales en las células, o penetran directamente de una célula a otra. Dos estructuras se encuentran comúnmente: los arbuscúlos o haustorios ramificados dicotómicamente, presentes en muchas células, que permanecen intactos por un tiempo pero que eventualmente sufren una digestión o lisis, y las vesículas, que son los hinchamientos de las hifas, por lo general colocadas terminalmente y que se forman dentro o entre las células de la planta; estas vesículas adquieren una pared gruesa y muchos glóbulos de grasa. Los hongos endofíticos también forman un micelio por fuera de las raíces, en el suelo donde se diferencian largas hifas permanentes o hifas ramificadas y vesiculares similares a las que se encuentran dentro de los tejidos (fig. 5 y fig. 6) (Herrera y Ulloa, 2004).

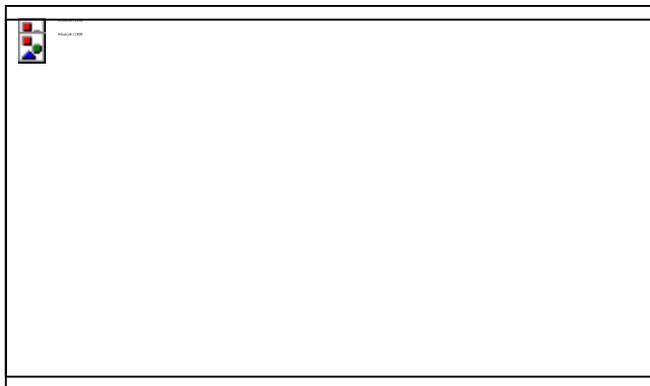


Figura 11. Arbuscúlos de *Glomus musseae* en el córtex de una raíz de *Allium porrum*

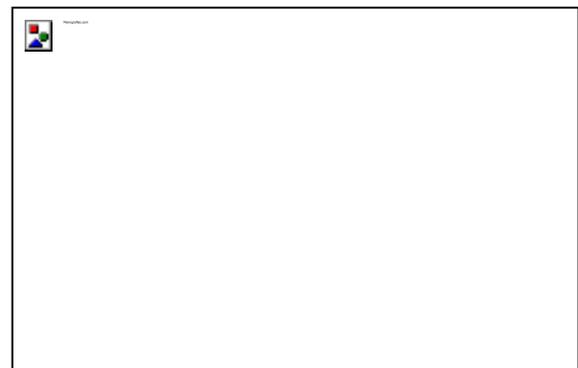


Figura 12. Vesículas e hifas de una micorriza vesículo- arbuscular (VA) colonizando la raíz de una planta.



Los hongos formadores de micorrizas producen esporas a partir del micelio externo, y en ocasiones a partir de micelio interno, los arbúsculos desarrollados se mantienen viables durante tres semanas, para después terminar convertidos en esporas. Como esporas pueden permanecer mucho tiempo, mientras que las hifas se colapsan sino encuentran una raíz hospedadora en un tiempo de 2 a 4 semanas (Bowen, 1994; citado por Gonzáles, 2007).

El género *Glomus spp.* forma clamidosporas terminales, globosas, subglobosas, ovaladas o cilíndricas. La espora cuando es joven presenta una pared transparente o hialina. Cuando la espora madura, su pared se engruesa y toma una coloración más oscura. Las esporas miden de 100 a 300 μm de diámetro y quedan separadas de la hifa sustentora por una septa, formando una conglomeración de esporas (esporocarpo) de aproximadamente 0.5 mm de diámetro (Trappe y Schenck, 1982; citado por Estañol, 1992).

2.3.5 Dinámica de la asociación micorrízica

El proceso y desarrollo de la colonización micorrízica sigue un modelo de tres fases:

a) Fase de latencia: tiempo requerido para la generación de esporas, crecimiento del tubo germinativo (hifa infectiva) y la penetración del endófito en el sistema radicular del hospedante. Esta fase dura aproximadamente de 15 a 32 días después de la inoculación (Saif, 1977; citado por Estañol, 1992).

b) Fase logarítmica: se asocia con la formación de micelio extenso en el suelo, que luego de 4 a 8 semanas de crecimiento se forman nuevas esporas en la vecindad de las raíces, las cuales pueden germinar e infectar nuevas raíces (Azcon y Ocampo, 1981).

c) Fase de estabilización: se produce una limitación y estabilización del porcentaje de raíces micorrizadas en un período que va de 30 a 60 días, según la planta hospedera (Saif, 1977; citado por Estañol, 1992).



Los propágulos infectivos del hongo micorrízico incluyen clamidosporas, esporocarpos, vesículas presentes en restos de raíces y posiblemente micelio viable presente en el suelo. Las hifas externas o que están presentes en fragmentos de raíz, se extienden en el suelo en busca del hospedante. Una vez que las hifas reconocen al hospedante, se adosan a la superficie de las raicillas, donde forman un apresorio y penetran a través de las células epidérmicas (Fig. 13).

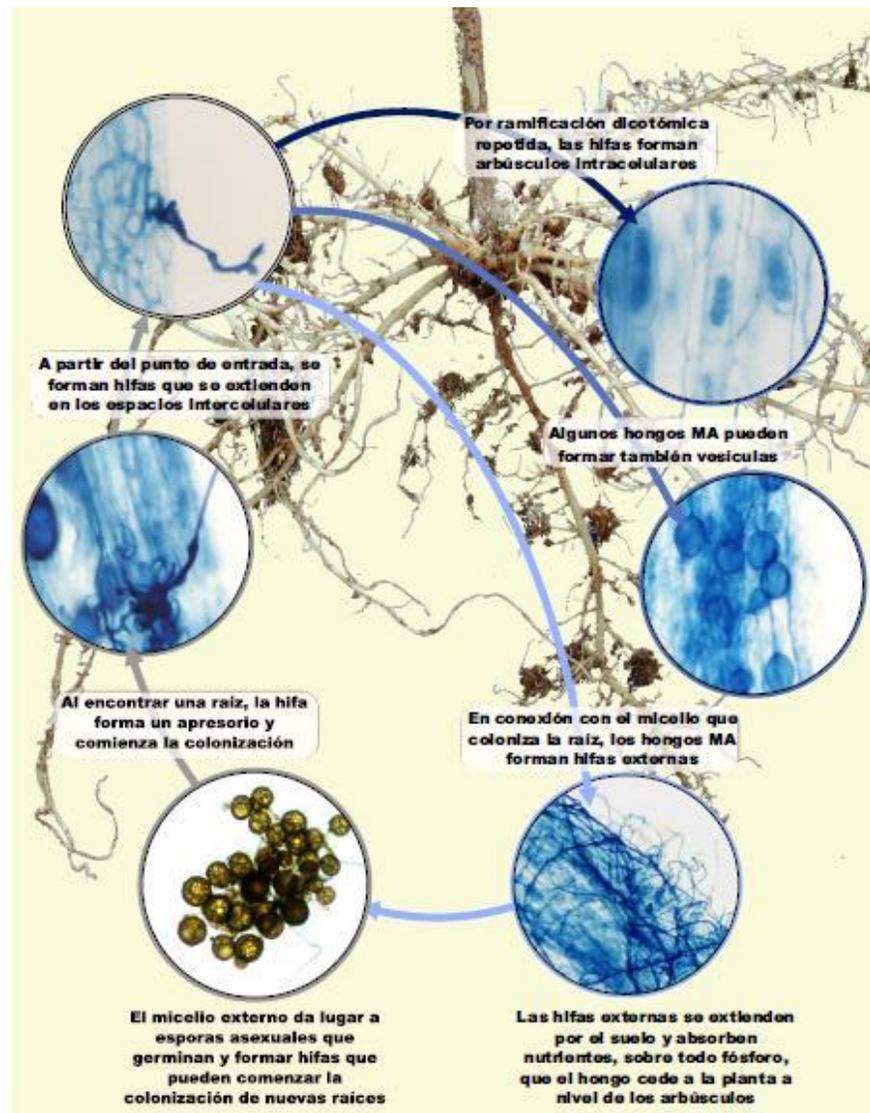


Figura 13. Dinámica de la asociación micorrízica en la raíz (Sainz, 2006).



2.3.6 Forma de aplicación

Montes *et al.*, (2001) inocularon *Glomus intraradices* en *Pinus engelmannii* de las siguientes formas: Inoculación en el trasplante, las plantas del almácigo se colocaron cada una en un recipiente con 20 ml de espora diluida, de ahí se trasplantaron al envase que contenía el sustrato. Inoculación por aspersión, en la parte aérea con ayuda de una pipeta se asperjó 20 ml del inóculo. Mezcla en el sustrato, se calculó el volumen del sustrato para 35 bolsas y se aplicó calculando 20 ml para cada una dando un total de 700 ml, se mezcló y se transplantó. El método de inoculación de *Glomus intraradices* en *Pinus engelmannii* al momento del trasplante de la planta demostró ser el mejor en lo que se refiere a la altura total de la planta, la longitud de raíz y el diámetro en la base del tallo. El método de inoculación por aspersión fue mejor respecto al número de raíces secundarias y la parte aérea de las plantas (Rivera *et al.*, 2001; citado por Estañol, 1992).

Contacto directo del hongo compatible con las raíces de crecimiento activo. Tal contacto puede ser originado de maneras diferentes: ya sea por germinación de esporas cercanas a las raíces; por expansión entre las partículas del suelo, por hifas procedentes de residuos miceliares o de micorrizas establecidas; por progreso de hifas a través de los tejidos internos de raíces dando en este lugar numerosas interacciones entre los elementos fúngicos y los celulares enfrentados. En tal caso el desarrollo de los hongos micorrízicos en la superficie de contacto o invasión parece estar fuertemente estimulada por ciertos exudados de la raíz (Macdonel, *et al.*; citado por Fraustro y Lara, 1989).

Algunas de las especies de *Glomus* forman esporas sobre cualquier superficie que encuentran, dentro de los exoesqueletos, en restos orgánicos como en cubiertas de las semillas y aún sobre las esporas del hongo vesículo arbúscular (VA), y así estas esporas aparentemente sanas se usan como inóculo (Morton y Walker, 1984).

El hongo micorrizico solo progresa en raíces de las plantas vivas de modo que la inoculación de micorrizas vesículo arbúscular implica establecer la micorriza



en plántulas para luego transportarlas al campo (Mangue, 1984; citado por Fraustro y Lara, 1989).

Ramírez (2005) inoculó endocomicorrizas en maíz, el nombre comercial del producto fue “Micorriza”, la semilla se extendió en un piso de cemento la tarde anterior a la siembra y se mezcló con el producto, obteniendo 30% más de rendimiento que la no tratada con micorriza.

2.3.7 Algunos factores que afectan la micorrización arbuscular

Las costras compactadas en la superficie del suelo hacen que las condiciones sean desfavorables para las micorrizas, tanto como los pisos de arado, que estancan el agua del terreno. Se benefician con una fertilización fosfatada, preferentemente de fosfatos poco solubles, como hiperfosfato, termofosfatos o fosfatos naturales (Primavesi, 1982).

La infección de MA (micorriza arbuscular) es considerablemente influenciado por la aplicación de diferentes fungitóxicos. Los efectos más drásticos se observan con PCNB (100 ppm) y thiram (100 ppm), los que interfieren también con el desarrollo y toma de fosfatos de las plantas (Johnen et al., 1979; citado por Indili, 2000).

La presencia del endófito exclusivamente en raíces y aun más la proporción del largo que las micorrizas ocuparon fue gradualmente disminuido por el incremento de pH, la presencia se tuvo sin alterarse hasta un pH 2.5. (Fitter *et al.*, 1895; citado por Indili, 2000).



2.4 Interacción microorganismo-micorriza

En algunas regiones el nogal pecanero sufre de fungosis llamada necrosis de las raicillas alimentadoras, causadas por varias especies de *Pythium*; sin embargo, cuando las raicillas son micorrizada por *Scleroderma bovista* la enfermedad no se presenta, pues este hongo benéfico produce antibióticos (Marx y Bryan, 1969).

Cuando las raíces de la alfalfa y el algodón son previamente endomicorrizadas con *Glomus sp.* una colonización del 70% evita totalmente la mortalidad por el hongo *Phymatotrichum omnivorum*, cuyo daño en la superficie radical es mínimo (Quintos *et al.* 2001, citado por Estañol, 1992).

Al combinar en cebolla dos especies de hongos formadores de micorriza vesículo- arbuscular con el nematodo *Ditylenchus dipsaci*, aplicado este último a diferentes tiempos, se encontró que al inocular el nematodo en forma simultánea y una semana después de *Glomus sp.* el hongo no fue capaz de reducir el daño ocasionado por el nemátodo; sin embargo al inocular el nematodo 24 días después de la inoculación de dicho hongo, este último fue capaz de reducir el efecto del nematodo, de tal manera que no hubo diferencias estadísticas con el testigo (sin microorganismos). Por otra parte cuando se inoculó *D. dipsaci* en forma simultánea una, dos y tres semanas posteriores a la inoculación de *Glomus intraradices*, este fue capaz de disminuir el daño ocasionado por el nematodo (Estañol, 1978).

En un trabajo con dos tipos de variedades de tabaco, el hongo *Gigaspora gigantea* y el nemátodo *Heterodera solanacearum*, encontraron que la presencia del hongo micorrízico inhibía la reproducción de este último (Fox y Spasoff, 1972; citados por Estañol, 2002).

El mecanismo responsable de reducir el daño por organismos que interactúan con el hongo formador de micorriza (V-A) aún no ha sido explicado claramente (Sikora, 1978).



Las especies forestales de coníferas, cuyas plántulas, cuando carecen de micorrizas no sobreviven a la primera estación de crecimiento después del trasplante (.Marx, op. Cit; citado por Fraustro y Lara, 1989). La presencia de micorrizas es necesaria para la sobrevivencia de ciertas especies de pino, solamente las plantas poseedoras de micorriza tienen mayor capacidad de recuperarse de deficiencias nutricionales. La asociación simbiótica de la planta *Pinus engelmannii* con *Glomus intraradices*, induce a la formación de un sistema radicular más fibroso con una mayor área de absorción de agua y nutrientes que son empleados durante la fotosíntesis para la transformación y/o elaboración de carbohidratos que son utilizados en la formación de nuevos órganos y tejidos de la planta y por ende en el incremento de biomasa (Solis, 1999).



III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación

El experimento se llevó a cabo en el invernadero de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México; que está situada en el km 38.5 carretera México - Texcoco. CP 56230, Chapingo, Estado de México.

3.2 Inóculo

Se trabajó con suelo de un lote infestado naturalmente por nematodos fitopatógenos, de Tequexquahuac, Estado de México.

3.3 Material vegetativo

Se utilizó un material de maíz criollo blanco, que se compró en el mercado de Zumpango, Estado de México (Fig. 7).

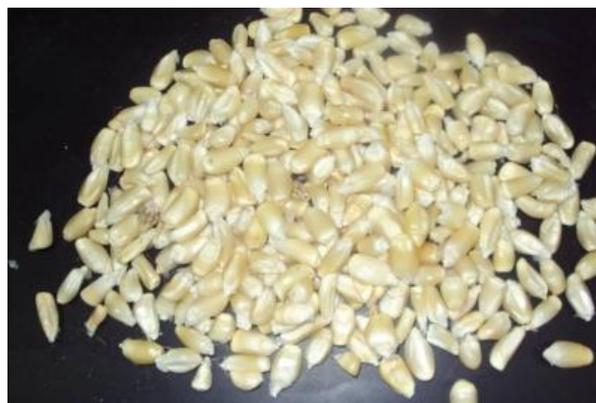


Figura 14. Material criollo de maíz de Zumpango, Estado de México



3.3.1 Siembra

Se sembró en vasos de unicel en sustrato Peat moss, en donde a cada uno se le colocaron 3 semillas. El 18 de agosto del 2010, se inició dicha acción con veinte vasos y el 23 de agosto con diez vasos a los cuales las semillas fueron inoculadas con micorrizas antes de sembrarlas (Figura 8).

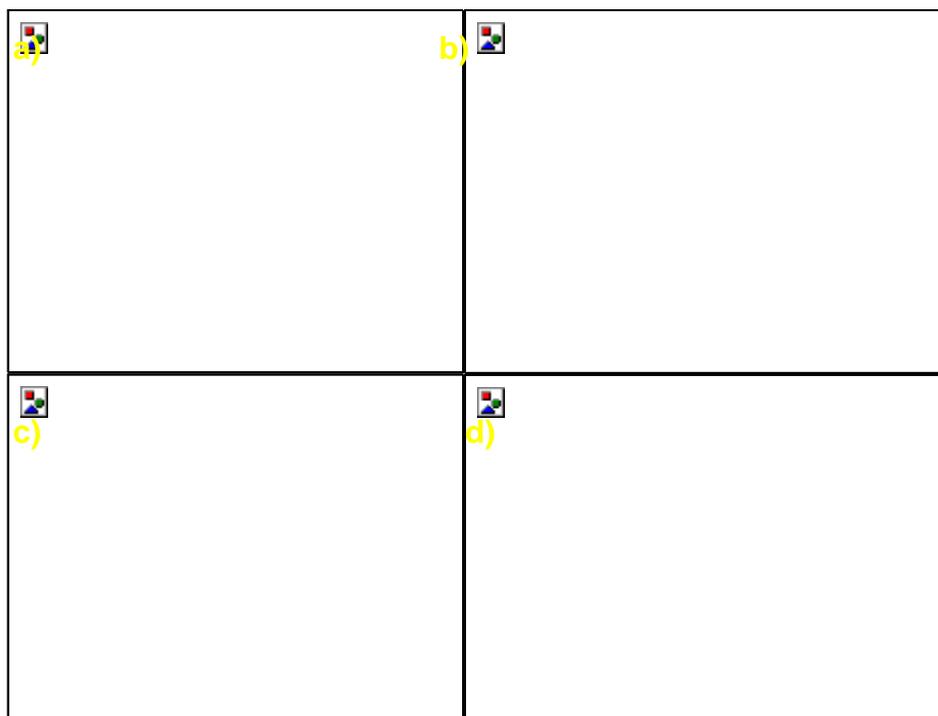


Figura 15. Metodología de siembra, a) Humedeciendo el Peat Moss, b) colocación de semillas en el sustrato, c) Tres semillas de maíz por vaso y d) Siembra del material criollo.

El 8 de octubre del 2010 se realizó el trasplante de las plántulas de maíz, tanto las que fueron inoculadas con micorrizas en semilla y en plántula, y las sin inocular. Estas se situaron en bolsas de plástico negro (40 x 40) que contenían el suelo infestado por nematodos fitopatógenos (Figura 9).



Figura 16. Trasplante de plántulas de maíz, tratamientos: 1) suelo infestado de nemátodos con plantas no micorrizadas, 2) suelo infestado de nemátodos con plantas micorrizadas en plántula, 3) suelo infestado de nemátodos con plantas micorrizadas en semilla.

3.4 Micorriza

Se utilizó el producto comercial SPECTRUM MICO, que contiene por cada kilogramo de producto no menos de 2×10^4 unidades formadoras de colonias (UFC) de *Glomus sp.* (Fig. 10).

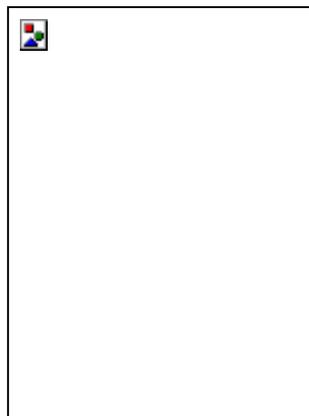


Figura 17. Micorrizas comerciales utilizadas en el experimento.



3.4.1 Inoculación

La inoculación de micorrizas se realizó en base a la recomendación del producto (1 Kg de producto para 1 ha). De acuerdo al agricultor, para una hectárea se necesitan aproximadamente 30, 000 semillas de maíz. Se colocaron en una caja Petri 60 semillas de maíz, a la cual se le agregó 1 ml de leche (este actuó como adherente) y 2 ml de agua, enseguida se les adicionó 2 gr de micorrizas (30, 000 semillas para un kilogramo de micorrizas), para desvanecer grumos y tratar de cubrir las semillas se le añadió 10 ml más de agua; se dejó reposar 30 minutos y después se sembró (Fig. 11).

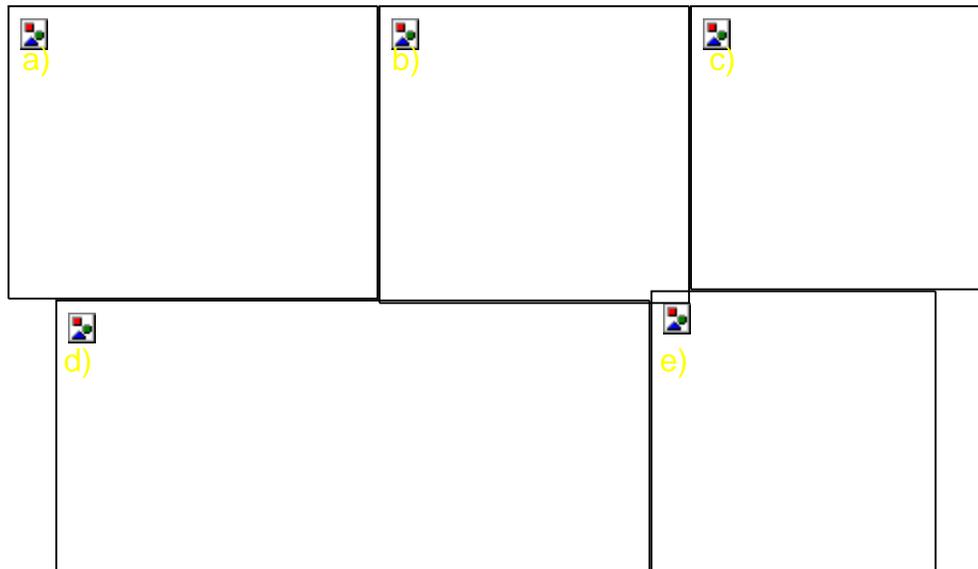


Figura 18. Metodología de la inoculación de micorrizas en las semillas de maíz antes de ser sembradas, a) y b) mezcla de leche con agua, c) y d) Micorrizas y e) Semillas en reposo.

La inoculación de micorrizas en la raíz de las plantas de maíz al momento del trasplante se hizo el 8 octubre del 2010, cuando estas tenían 30 cm de altura. Se colocaron 200 gr de micorrizas en un vaso de precipitados donde se le agregó 250 ml de agua y 10 ml de leche, (de acuerdo a lo mencionado en la etiqueta del producto: 1 kg de micorrizas en 1 L de agua, enseguida se sumergieron las raíces de las plantas a la mezcla y se dejaron reposar por 5 hrs.



3.5 Diseño experimental

El diseño del experimento fue completamente al azar. Se tuvieron tres tratamientos: presencia de nemátodos en el suelo y plantas de maíz sin inocular micorrizas (NsM), presencia de nemátodos en el suelo y plantas de maíz inoculadas con micorrizas en las raíces (NMP), y presencia de nemátodos en el suelo y plantas de maíz inoculadas con micorrizas en la semilla (NMS). Cada tratamiento consistió de 10 repeticiones (Figura 12).

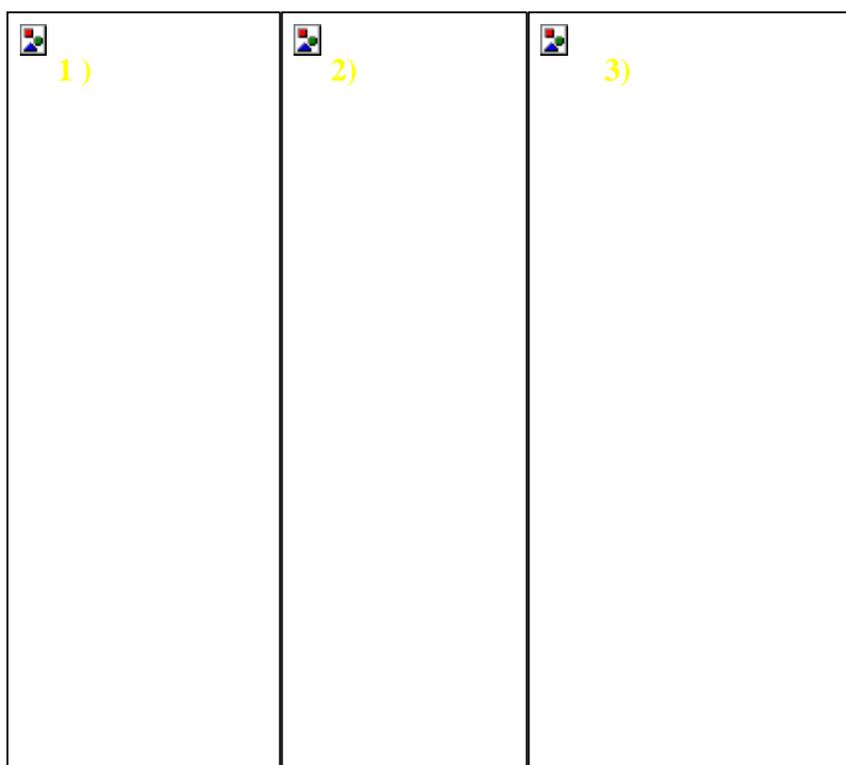


Figura 19. Tratamientos: 1) Suelo infestado de nemátodos con plantas sin micorrizas, 2) Suelo infestado de nemátodos con plantas micorrizadas en plántula, 3) Suelo infestado de nemátodos con plantas micorrizadas en semilla, en invernadero, en Chapingo, México.



3.6 Toma de datos

Se contabilizó en: plantas de maíz la altura de plantas, diámetro del tallo, área foliar, peso de plantas en fresco final, peso de raíz final y volumen de raíz final. En nemátodos la población inicial de quistes, población final de quistes, adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población inicial, adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población final. En micorrizas el porcentaje de colonización micorrízica.

3.6.1. Altura de la planta de maíz criollo

Con la ayuda de un flexómetro, se midió la altura de planta en centímetros, desde donde tocaba el suelo hasta la hoja más larga; se tomaron cinco lecturas: el 13 de octubre, 26 de octubre, 18 de noviembre, 1º de diciembre y 16 de diciembre del 2010.

3.6.2. Diámetro del tallo

Se midió el diámetro del tallo de la planta en milímetros con un vernier. Se tomaron cuatro lecturas: el 26 de octubre, 18 noviembre, 1º de diciembre, y 16 de diciembre del 2010.



3.6.3. Área foliar

Se estimó el área foliar de los tratamientos con papel milimétrico, evaluándola el 26 de noviembre y el 16 de diciembre del 2010.

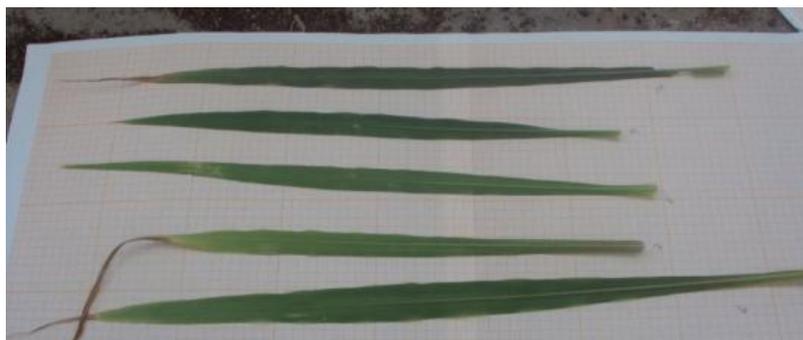


Figura 20. Estimación del área foliar de los tratamientos con papel milimétrico, para evaluar el efecto de los nemátodos.

3.6.4 Peso de las plantas de maíz en fresco

Para medir el daño potencial en el cultivo de maíz causado por los nemátodos se extrajo del suelo la planta completa y se pesó en una báscula en kilogramos.

3.6.5 Peso de la raíz final

Se pesó la raíz de la planta con ayuda de una báscula, en kilogramos. Se eliminó el suelo que pudiera llevar dicha estructura.



3.6.6 Volumen de raíz final

Se midió el volumen de raíz de la planta en una probeta de 1000 ml. Se colocaba un volumen conocido de agua y se introducía la raíz.

3.6.7 Población inicial de quistes

El 19 de octubre del 2010 se tomaron 30 muestras de suelo, estas consistieron de 100 gr de suelo húmedo que se extrajeron de un lado de la planta, eliminando los primeros 5 cm de suelo y tomando el resto como muestra. Se depositó el suelo en bolsas de polietileno y fueron trasladadas al laboratorio, donde se almacenaron en el refrigerador.

Para la extracción de quistes se utilizó la técnica del tamizado de Cobb (ver anexo), donde se recogieron de los tamices de 60 y 100 mallas y se colocaron sobre papel filtro para ser secados.



Figura 21. Extracción de quistes. A) Mezcla homogénea de la muestra. B) muestra en el tamizado de Cobb. C) Recolección de quistes de los tamices de 60 y 100 mallas. D) Colocación de la muestra sobre papel filtro. E) Secado de muestras.



El conteo de quistes se hizo de las muestras secas dispuestas en papel filtro vaciándose el contenido en una caja Petri de vidrio donde se observó con microscopio estereoscópico. Cada quiste encontrado se colocaba en un portaobjetos con una gota de glicerina y después se aplastaba con el cubreobjetos, con el propósito de observar al microscopio compuesto si el quiste tenía huevecillos y la cantidad aproximada.

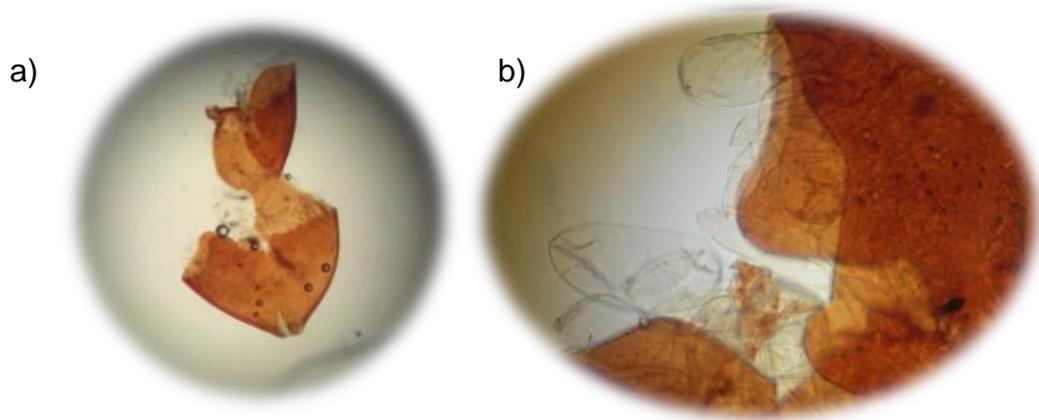


Figura 22. Conteo de a) quistes y b) huevecillos bajo microscopio compuesto.

3.6.8 Población final de quistes

El 16 de diciembre del 2010 se tomaron 30 muestras de suelo húmedo de 100 gr. El conteo de huevecillos se procedió de igual manera que para la población inicial.



Figura 23. Conteo de quistes en microscopio estereoscópico.



3.6.9 Adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población inicial

Se vertió la muestra inicial de suelo homogenizado en el tamizado de Cobb (ver anexo) y los nematodos filiformes fueron recogidos del tamiz de 400, posteriormente se centrifugó la muestra (ver anexo). El resultado de este proceso (sobrenadante de azúcar más nemátodos) se vació en el tamiz de 400 y se recogió en un frasco de vidrio, enseguida se añadió TAF (trietanolamida 2 ml, Formalina 40% 7 ml y agua destilada 91 ml) como fijador. Este procedimiento se repitió para cada una de las muestras iniciales.

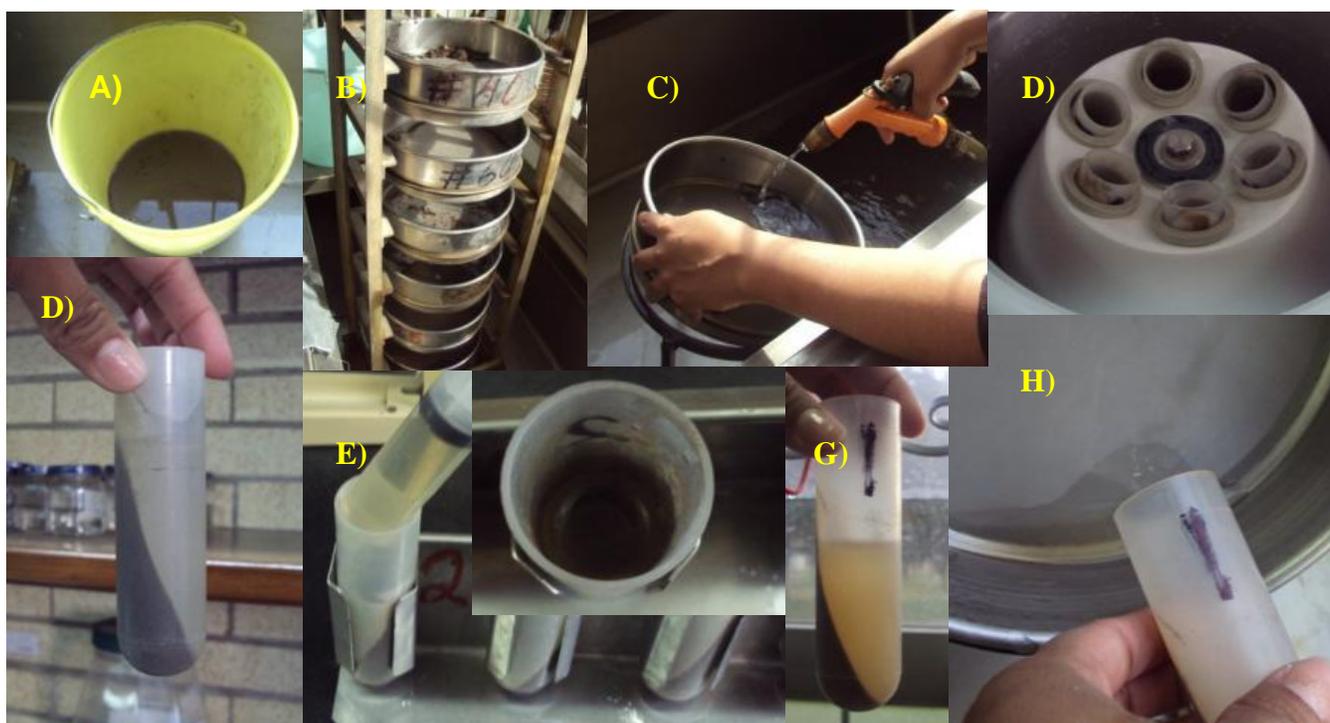


Figura 24. Extracción de adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población inicial. A) Muestra homogenizada. B) Muestra inicial de suelo en el tamizado de Cobb. C) Recolección de nematodos filiformes. D) Primera centrifugación de la muestra tamizada agregando caolín. E) Segunda centrifugación añadiendo solución azucarada. F) Mezcla de suelo más solución azucarada. G) Resultado de este proceso (sobrenadante de azúcar más nemátodos). H) Vaciado del sobrenadante en el tamiz de 400 y recolección en un frasco de vidrio.



Posteriormente se realizó la identificación y el conteo de nemátodos fitopatógenos, machos y juveniles (J2, J3, J4), para ello se inclinaba el frasco con la solución de nemátodos y se extraía del fondo 1 ml de la solución con una jeringa, enseguida se vació a una caja contadora y se observó al microscopio compuesto. La identificación de los ejemplares fue de acuerdo a la literatura citada, enfocándose en presencia o ausencia de estilete, cabeza y cola.



Figura 25. Muestra observada de la población inicial al microscopio compuesto.

3.6.10 Adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población final

Se utilizó el mismo procedimiento de adultos y juveniles de nematodos fitopatógenos en la población inicial, donde se procesó la muestra final de suelo.



3.6.11 Porcentaje de colonización micorrízica

Se llevó a cabo la técnica de tinción de raíces de Phillips y Hayman para evaluar el porcentaje de colonización micorrízica (1970), en el cual se hicieron modificaciones en este experimento (ver anexo).



Figura 26. Tinción de raíces de Phillips y Hayman. A) Primera aplicación de KOH 10% a la raíz. B) Segunda aplicación de KOH 10% a la raíz por 8 días. C) Decantación de KOH al 10%, D) Adición de ácido clorhídrico al 10% en las raíces. E) Adición de fucsina. F) Muestras con colorante a baño María (90°C por 10 minutos). G) y H) Cambios de lactoglicerol a las muestras para evitar excesos de colorante.



Bajo un microscopio compuesto a un aumento de 10X, se hizo el conteo de tejido colonizado por el hongo, haciendo tres recorridos a lo largo del trozo de cada segmento. Cuando la porción de raíz observada en el campo del microscopio presentó hifas, arbuscúlos o vesículas, se dio el valor de uno, independientemente de la cantidad y tipo de estructura.

Para determinar el porcentaje total de colonización micorrízica se empleó la relación siguiente: De acuerdo al tejido colonizado por el hongo, si un campo de visión media 2 mm y se hicieron cortes de raíz de 1 cm, se extrapolaron el número de vesículas que se observaban en ese campo.

$$\begin{array}{l} 2\text{mm} \text{ ----- } n \text{ vesículas observadas} \\ 10 \text{ mm} \text{ ----- } X \end{array}$$

3.7 Análisis estadístico

Al obtener los datos se capturaron en el software SAS System (Statycal Análisys Sistem) y se obtuvieron tablas de ANOVA (Análisis of Variance) y comparación de medias por el método de Tukey al 0.05%, y se graficaron.



IV. RESULTADOS

4.1. Análisis de varianza

Los resultados del análisis de varianza mostraron diferencias significativas en todas las variables evaluadas, excepto área foliar inicial y población inicial de quistes. De los tres tratamientos evaluados, de acuerdo a la comparación de medias por el método de Tukey, el que tuvo el mejor desarrollo del cultivo fue el de inoculación de micorrizas en semilla con presencia de nemátodos, seguido de inoculación de micorrizas en plántula con presencia de nemátodos y el peor fue el testigo (sin inoculación de micorrizas con presencia de nemátodos) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Comparación de medias por el Método de Tukey de las variables evaluadas.

Variable/fecha	Tratamiento	Grupo Tukey	Tratamiento	Grupo Tukey	Tratamiento	Grupo Tukey
Altura (cm)	NsM		NMP		NMS	
13 octubre	44.20	B	43.50	B	53.950	A
26 octubre	58.95	B	60.15	B	82.250	A
18 noviembre	87.20	B	90.55	B	121.450	A
1º de diciembre	101.30	B	113.75	B	144.10	A
16 de diciembre	104.80	B	119.050	B	148.450	A
Diámetro (mm)						
26 octubre	58.880	B	65.400	BA	81.00	A
18 noviembre	41.900	B	46.70	B	74.10	A
1º de diciembre	47.50	B	57.70	B	69.20	A
16 de diciembre	81.00	B	78.00	B	121.00	A
Área final (cm²)						
16 de diciembre	69.87	B	120.15	A	147.51	A
Peso fresco final de la planta (gr)						
16 de diciembre	32.17	B	57.60	B	83.26	A
Peso de raíz (gr)						
16 de diciembre	3.9	B	4.89	BA	6.85	A
Volumen de raíz (cm³)						
16 de diciembre	2.30	B	3.2	B	8.8	A
Población final de quistes						
16 de diciembre	155	BA	230	A	110.0	B
Huevecillos por quiste final						
16 de diciembre	21, 545	BA	31, 970	A	15,290	B
Vesículas en raíz						
16 de diciembre	3	B	70	A	60.5	A

A y B: grupo Tukey ($\alpha=0.05$)

NsM: presencia de nematodos en el suelo y plantas de maíz sin inocular micorrizas.

NMP: presencia de nematodos en el suelo y plántulas de maíz inoculadas con micorrizas en las raíces.

NMS: presencia de nematodos en el suelo y plantas de maíz inoculadas con micorrizas en la semilla.



4.2.1 Altura de planta

El análisis de varianza mostró que en las cinco lecturas de altura de plantas de maíz, hubo diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS, con un alfa de 0.05 (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores de Pr > F de la altura de planta

Variable	Pr>F
13 octubre	0.106 *
26 octubre	<.0001*
18 noviembre	<.0001*
1º de diciembre	<.0001*
16 de diciembre	0.0001*

Pr > F: probabilidad de F; NS: no significativo; *: significativo ($p \leq 0.05$).

Con la comparación de medias por el método de Tukey las plantas que fueron inoculadas con micorriza en la semilla (NMS) mostraron las mayores alturas que el resto de los tratamientos, en las cinco lecturas tomadas (Fig. 28). En las lecturas del 13 y 26 de octubre, las que le prosiguieron a NMS fueron el tratamiento en que había nemátodos en el suelo pero no fue inoculada con micorrizas (NsM) y por último las plantas que fueron inoculadas antes del trasplante (NMP) (cuadro 1 y fig. 28). Esto se debe a que llevaban desventaja las plantas NMP, ya que necesitan un tiempo para que las micorrizas se establezcan en las raíces y así protegerse de los patógenos, en este caso solo estuvo 5 horas y luego se trasplantó al suelo infestado por nemátodos. Saif (1977; citado por Estañol, 1992) menciona que hay una fase de latencia, que es el tiempo requerido para la generación de esporas, crecimiento del tubo germinativo (hifa infectiva) y la penetración del endófito en el sistema radicular del hospedante, esta fase dura aproximadamente de 15 a 32 días después de la inoculación.

Para las lecturas tomadas el 18 de noviembre, 1º de diciembre y 16 de diciembre las plantas que le seguían a las NMS fueron las NMP y después las NsM, aunque con la prueba de Tukey agrupaba a las dos. En esta fecha ya tenían



un mes de inoculadas las de trasplante, es decir, las micorrizas ya habían penetrado en el sistema radicular y tenían mayor defensa contra los nematodos encontrados en el suelo en comparación a las que no se les inoculó micorrizas. González (2007) menciona que las micorrizas incrementan la sanidad, proveen protección contra ciertos hongos patógenos y nematodos; longevidad de sus raíces, y le confieren a la planta mayor resistencia al estrés.



Figura 27. Altura de las plantas de maíz en el experimento.

Las plantas NMS hasta el 16 de diciembre llevaban 113 días de estar expuestas a las micorrizas, es decir, ya habían pasado la fase de latencia, fase logarítmica y probablemente la de estabilización. Según Saif (1977; citado por Estañol, 1992): la fase de latencia dura aproximadamente de 15 a 32 días después de la inoculación, la fase logarítmica: se asocia con la formación de micelio extenso en el suelo, que luego de 4 a 8 semanas de crecimiento se forman nuevas esporas en la vecindad de las raíces, las cuales pueden germinar e infectar nuevas raíces (Azcon y Ocampo, 1981). Y en la fase de estabilización se produce una limitación y estabilización del porcentaje de raíces micorrizadas en un



período que va de 30 a 60 días, según la planta hospedera (citado por Estañol, 1992).

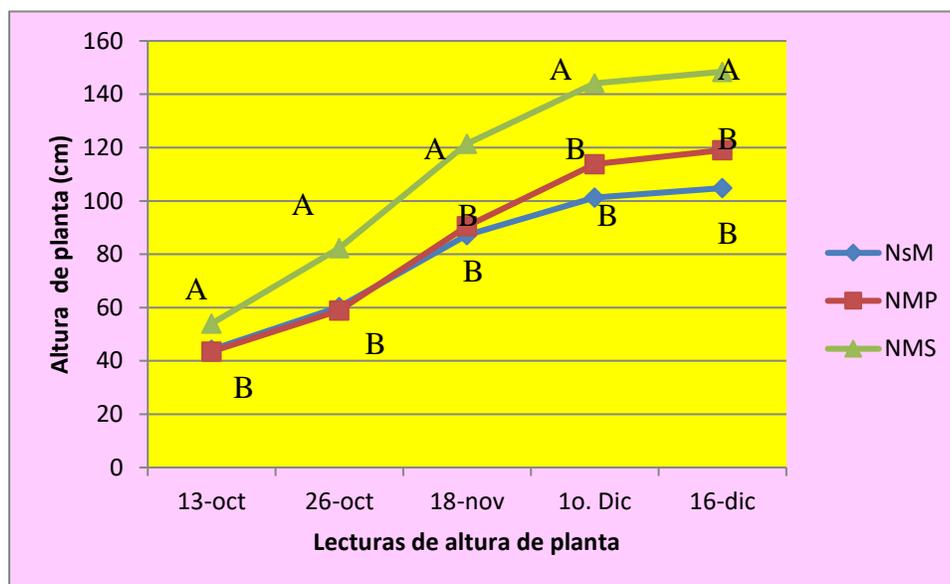


Figura 28. Alturas de las plantas de maíz en el experimento.

A y B: Grupo Tukey ($\alpha=0.05$)

4.1.2 Diámetro de tallo

El análisis de varianza mostró que en las cuatro lecturas de diámetro de tallo de plantas de maíz, hubo diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS, con un alfa de 0.05 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores de Pr > F de diámetro de planta

Variable	Pr>F
26 octubre	0.0086*
18 noviembre	0.0006*
1º de diciembre	<.0001*
16 de diciembre	0.0127*

Pr > F: probabilidad de F; NS: no significativo; *: significativo ($p \leq 0.05$).



Con la comparación de medias por el método de Tukey las plantas que fueron inoculadas con micorriza en la semilla (NMS) mostraron el mayor diámetro de tallo que el resto de los tratamientos. En la lectura tomada el 26 de octubre las plantas NMP mostraron un diámetro mayor que las de NsM y para las siguientes lecturas estadísticamente estos dos tratamientos era iguales (Cuadro 1 y figura 29)

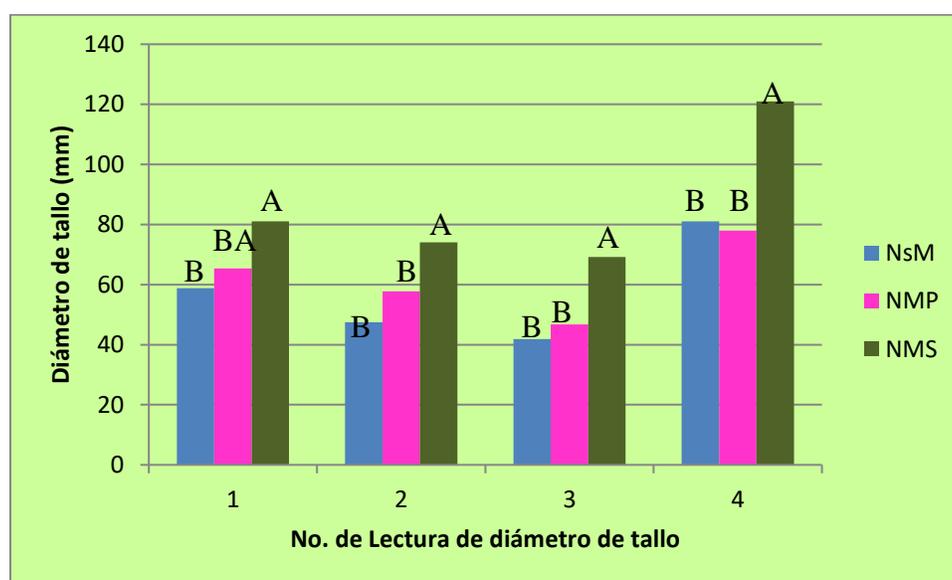


Figura 29. Diámetro de tallo de las plantas de maíz en el experimento.

A, BA y B: Grupo Tukey ($\alpha=0.05$)

4.1.3 Área foliar

El análisis de varianza del área foliar evaluado el 26 de octubre en plantas de maíz, no mostró diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS, con un alfa de 0.05 (Figura 30).



Figura 30. Área foliar de las plantas de maíz en el experimento (16/10/2010).

Para la segunda evaluación (16 de diciembre del 2010) el análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los tratamientos, con un alfa de 0.05 y un $Pr > F$ de 0.0015. Los tratamientos NMS y NMP se agruparon en plantas con área foliar mayor, de acuerdo a la comparación de medias de Tukey (Figura 31).

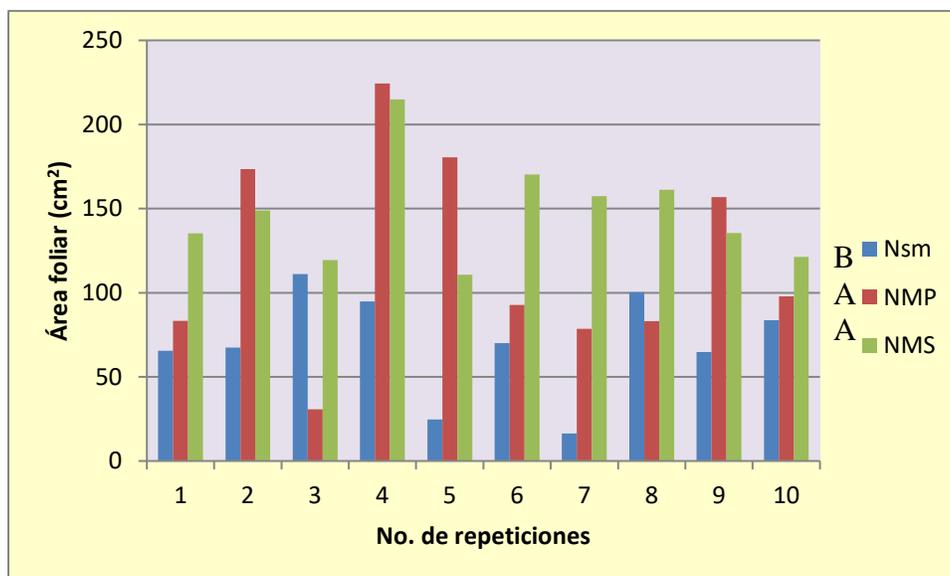


Figura 31. Área foliar final de plantas en el cultivo de maíz.

A y B: Grupo Tukey ($\alpha=0.05$)



4.1.4 Peso fresco de planta

La variable peso fresco de planta final (16 de diciembre del 2010) mostró diferencia significativa entre los tratamientos, con un alfa de 0.05 y un $Pr > F$ de 0.0002, en el análisis de varianza. Con la comparación de medias de Tuckey las plantas que fueron inoculadas con micorriza en la semilla NMS fueron las de mayor peso y agrupó a las NMP y NsM en plantas de menor peso (Figura 32).

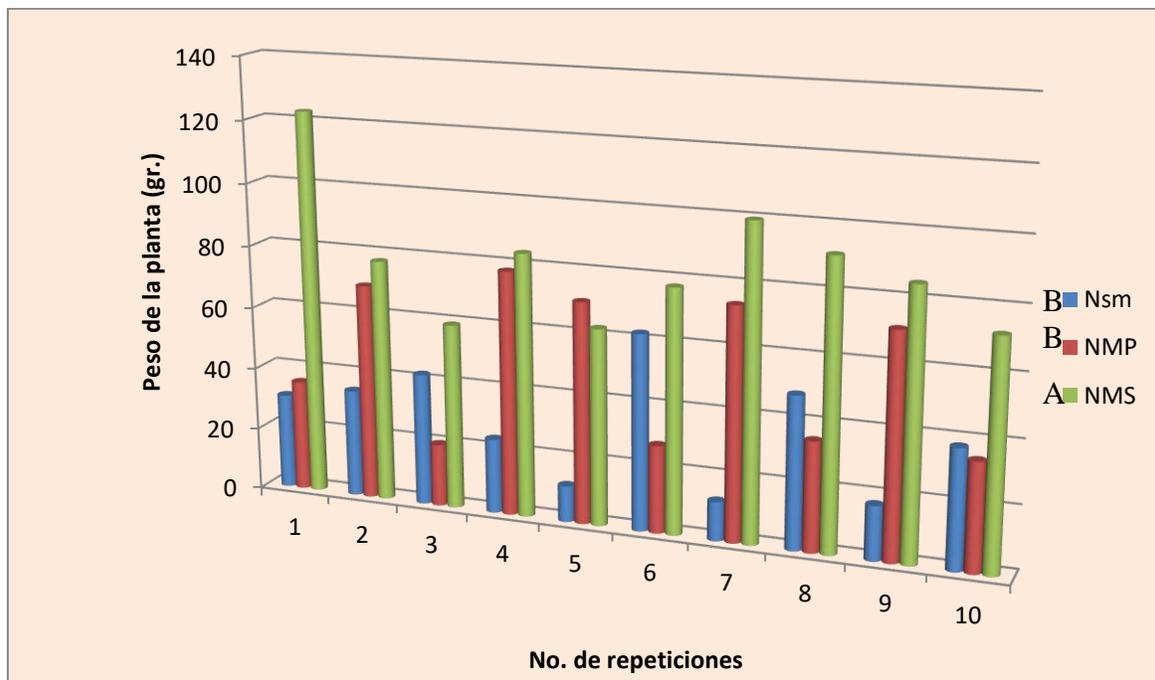


Figura 32. Peso fresco final de plantas en el cultivo de maíz.
A y B: Grupo Tukey ($\alpha=0.05$)

4.1.5 Peso de raíz de la planta de maíz.

El análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS en el peso de raíz de las plantas, con un alfa de 0.05 y un $Pr > F$ de 0.0261. Con la comparación de medias por el método de Tukey las plantas que fueron inoculadas con micorriza en la semilla (NMS) mostraron el mayor peso de raíz, siguiéndole la NMP y finalmente NsM (Figura 33).

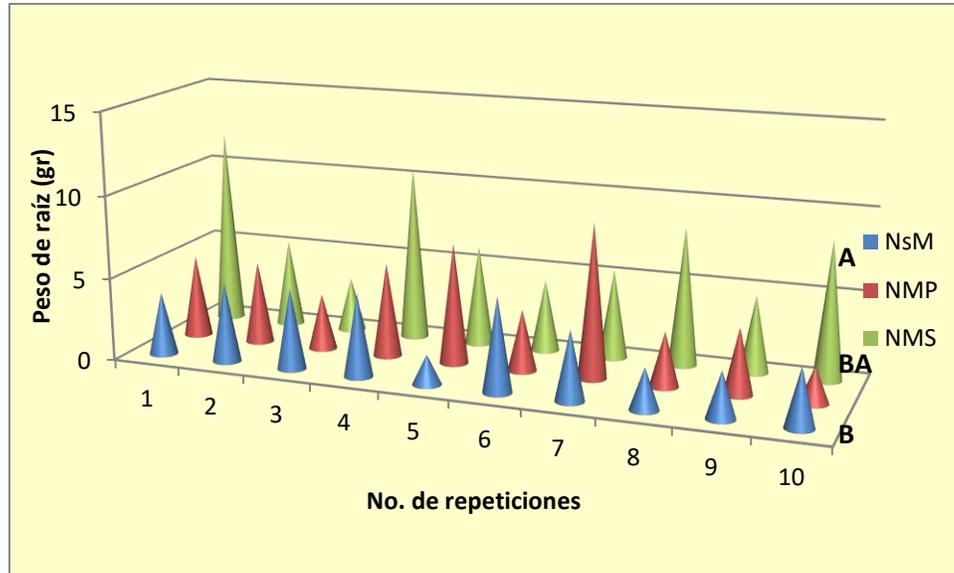


Figura 33. Peso de raíz de las plantas de maíz.

A, BA y B: Grupo Tukey ($\alpha=0.05$)

4.1.6 Volumen de raíz

Hubo diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS, con un alfa de 0.05 y un $Pr > F = <.0001$, en el análisis de varianza de volumen de raíz en plantas de maíz. Las plantas del tratamiento NMS fueron las de mayor volumen de raíz, de acuerdo a la comparación de medias de Tukey (Figura 34 y 35).

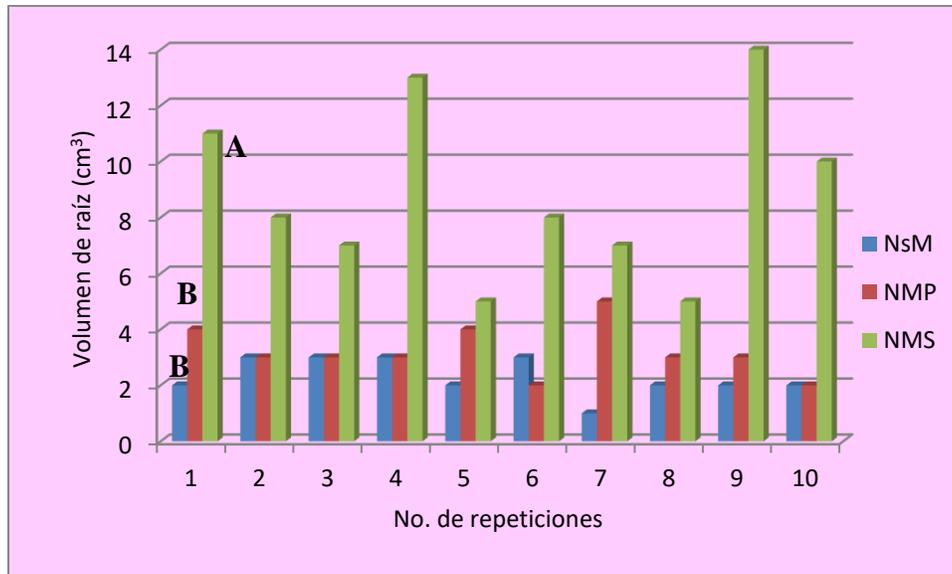


Figura 34. Volumen de raíz de las plantas de maíz.
A y B: Grupo Tukey ($\alpha=0.05$)



Figura 35. Volumen de raíz de las plantas de maíz.



4.2 Nemátodos

En el suelo estudiado se encontraron nemátodos fitopatógenos como los pertenecientes a los géneros *Aphelenchus* spp., *Trichodorus* spp., *Tylenchus* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Paratylenchus* spp., *Pratylenchus* spp., *Psilenchus* spp., larvas de *Punctodera chalcoensis* y saprófagos (figura 36).

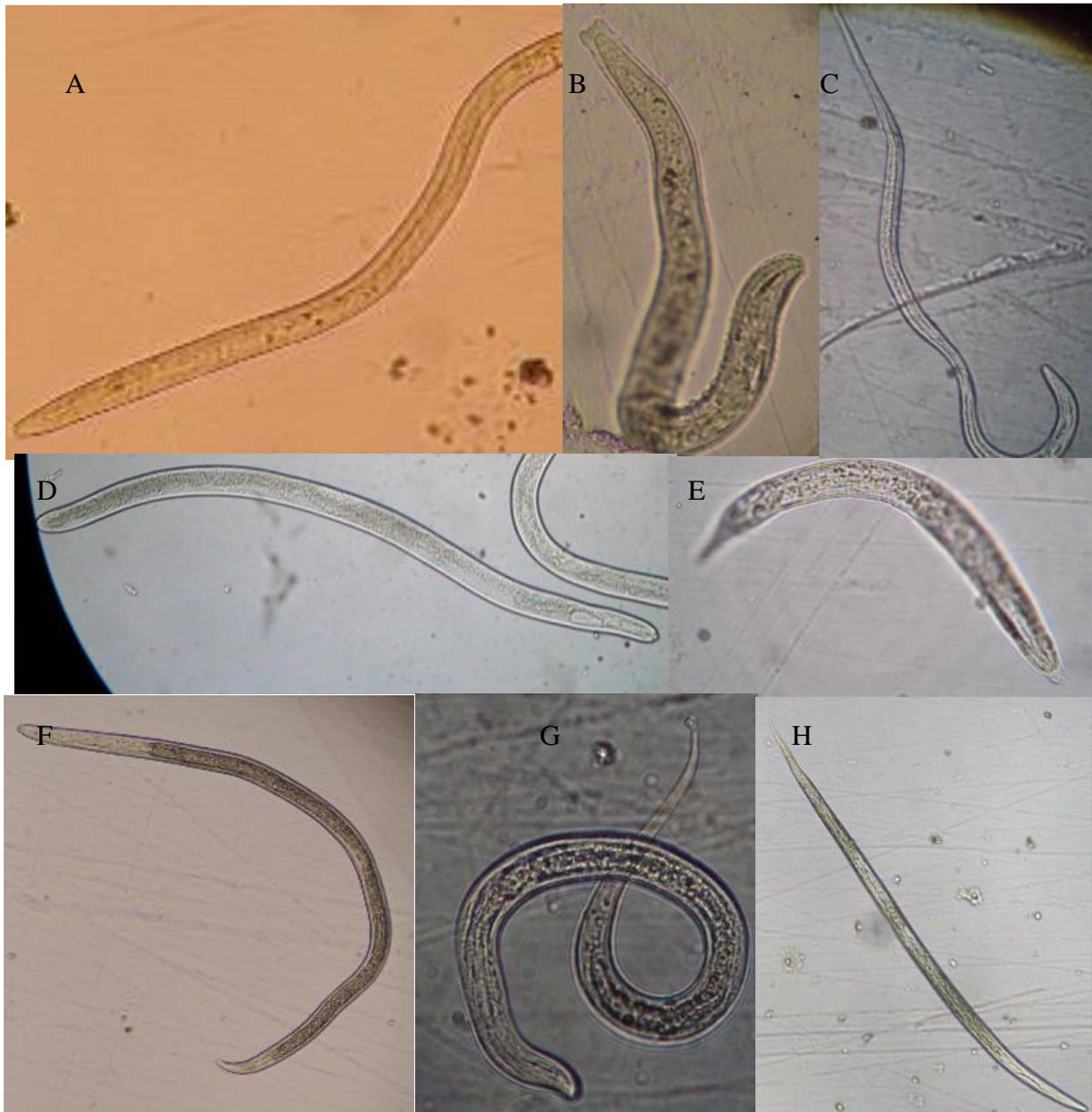


Figura 36. Nemátodos fitopatógenos en el cultivo del maíz. A) *Aphelenchus* spp. B) *Trichodorus* spp. C) *Tylenchus* spp. D) *Tylenchorhynchus* spp., E) saprófagos, G) *Paratylenchus* spp., H) *Psilenchus* spp. e I) *Punctodera chalcoensis*.



4.2.1 Población inicial de quistes

De acuerdo a los muestreos realizados, los tratamientos NsM, NMP y NMS tenían en promedio 4, 4 y 5 quistes en 100 gr de suelo, respectivamente; de los cuales uno de ellos estaba vacío (es decir ya había eclosionado) y la media de huevecillos por quiste es de 139 . Cada unidad experimental tenía 5 kg de suelo infestado, extrapolando los datos, cada una de los tratamientos tendría en promedio: NsM y NMP= 200 quistes, 50 eclosionados y 20, 850 huevecillos; y NMS= 250 quistes, 50 eclosionados y 27,800 huevecillos (Figura 37).

El análisis de varianza no mostró diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS en la población inicial de quistes, número de huevecillos por quiste y eclosionados, con un alfa de 0.05 (Cuadro 4). Todas las unidades experimentales tenían la misma población inicial de quistes en el trasplante.

Cuadro 4. Valores de $Pr > F$ de la población inicial de quistes.

Variable	Pr>F
	0.1448
Quiste iniciales	NS
Huevecillos por quiste	0.1448
	NS
Eclosionados	0.502 NS

Pr > F: probabilidad de F; NS: no significativo; *: significativo ($p \leq 0.05$).

4.2.2 Población final de quistes

Por los muestreos realizados, los tratamientos NsM, NMP y NMS tenían en promedio 3, 5 y 2 quistes en 100 gr de suelo, respectivamente; de los cuales dos de ellos estaban vacíos (es decir ya había eclosionado) en los tratamientos NsM y NMP y en NMS uno; la media de huevecillos por quiste es de 250. Cada unidad experimental tenía 5 kg de suelo infestado, extrapolando los datos, cada una de los tratamientos tendría en promedio: NsM = 150 quistes, 100 eclosionados y



37,500 huevecillos; NMP= 250 quistes, 100 eclosionados y 62,500 huevecillos; y NMS= 100 quistes, 50 eclosionados y 25,000 huevecillos (Figura 37).

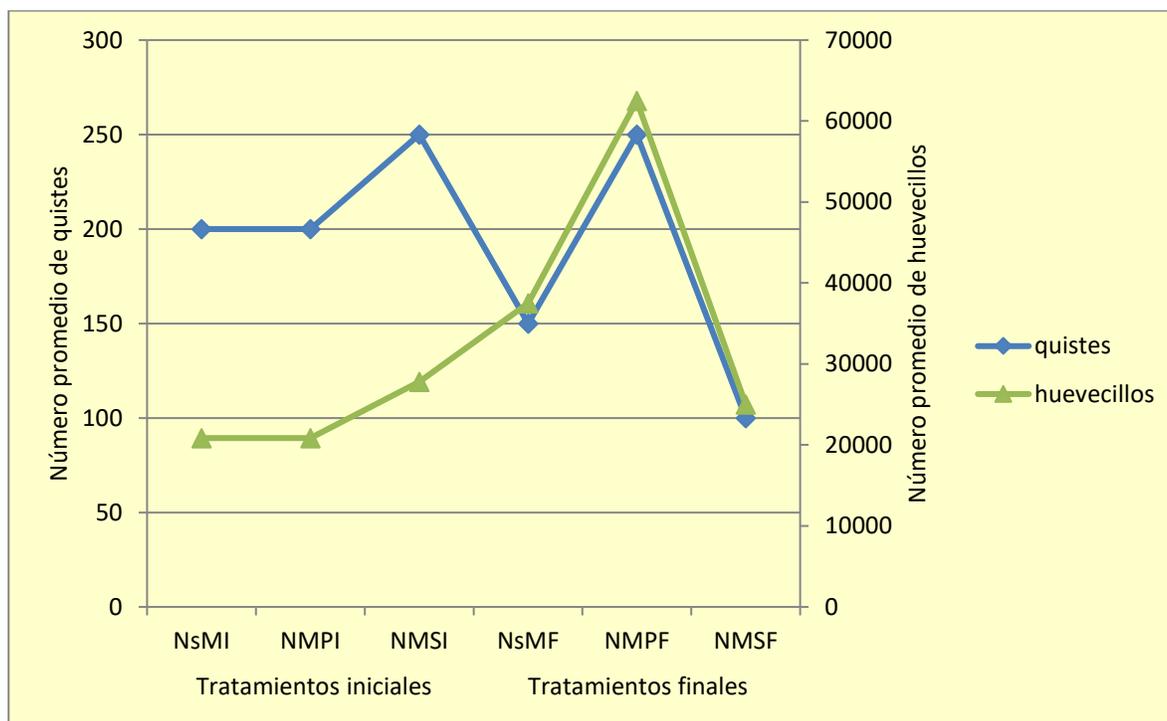


Figura 37. Población inicial y final de quistes.

Hubo diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS, con un alfa de 0.05 (Cuadro 5), en el análisis de varianza de población final de quistes y el número de huevecillos por quiste final. El tratamiento NMP tuvo una mayor población final de quistes y número de huevecillos por quiste, de acuerdo a la comparación de medias de Tukey; siguiéndole NsM y por último NMS (Cuadro 1). Y no mostró diferencia significativa entre los tratamientos el número de huevecillos eclosionados, con un alfa de 0.05 (Cuadro 5). Se presentó el efecto del hongo micorrízico en el tratamiento NMS, ya que redujo el número de quistes final. Según Fox y Spasoff, 1972; citados por Estañol, 2002: en un trabajo con dos tipos de variedades de tabaco, el hongo *Gigaspora gigantea* y el nemátodo *Heterodera solanacearum*, encontraron que la presencia del hongo micorrízico inhibía la reproducción de este último. O como cita Marx, 1971; citado por Tarango et al. 2004: El mecanismo básico por el cual el hongo micorrízico protege a una raíz de



los patógenos es al ocupar los sitios de infección en la superficie radical que actúa el manto fúngico como barrera; y al producir antibióticos y otras sustancias de defensa.

Cuadro 5. Valores de Pr > F de la población final de quistes.

Variable	Pr>F
Quiste finales	0.0425 *
Huevecillos por quiste	0.042 *
Eclosionados	0.0915 NS

Pr > F: probabilidad de F; NS: no significativo; *: significativo ($p \leq 0.05$).

4.2.3 Población inicial de adultos y juveniles

El análisis de varianza no mostró diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS en la población inicial de nemátodos filiformes. Todos los tratamientos tenían la misma población inicial de nemátodos filiformes en el trasplante. Los géneros fitófagos que se encontraron en las muestras con mayor número de individuos son: *Aphelenchus spp.*, *Tylenchorhynchus spp.*, *Tylenchus spp.*, *Pratylenchus* y saprófagos (figura 38).

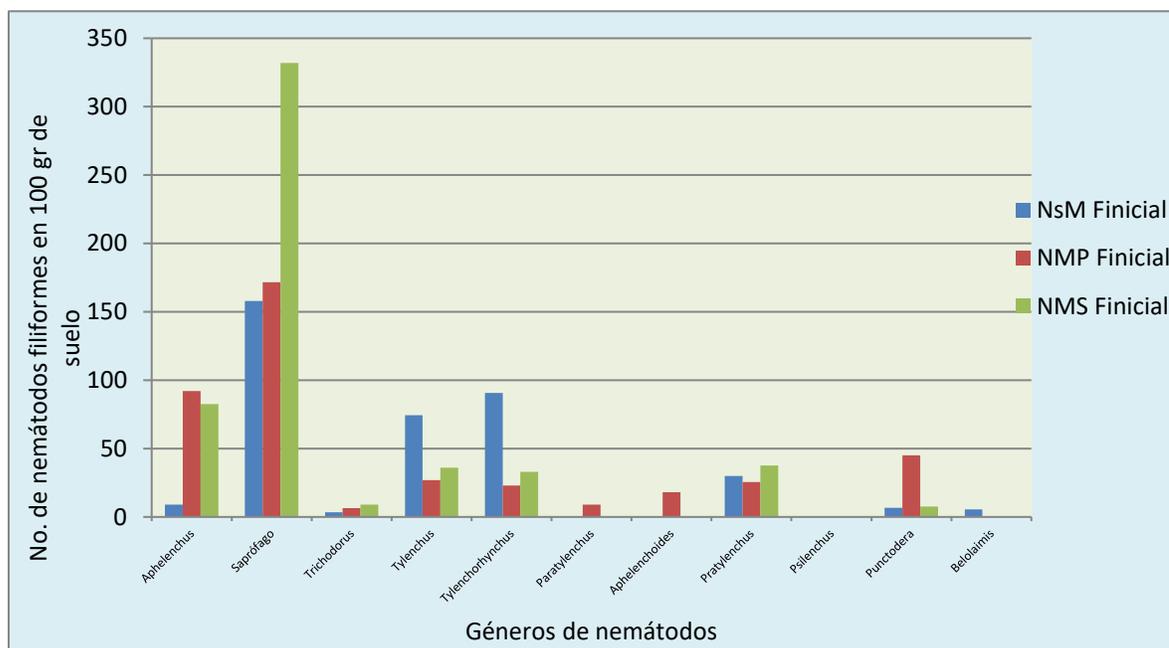


Figura 38. Población inicial de nemátodos filiformes en los tratamientos.



4.2.4 Población final de adultos y juveniles

El análisis de varianza no mostró diferencia significativa entre los tratamientos NsM, NMP y NMS en la población final de nemátodos filiformes. Todos los tratamientos tenían la misma población final de nemátodos filiformes al término de la evaluación. Los géneros fitófagos que se encontraron en las muestras con mayor número de individuos son: *Aphelenchus spp.*, *Tylenchorhynchus spp.*, *Tylenchus spp.*, *Pratylenchus spp.*, *Punctodera chalcoensis* y saprófagos (Figura 39).

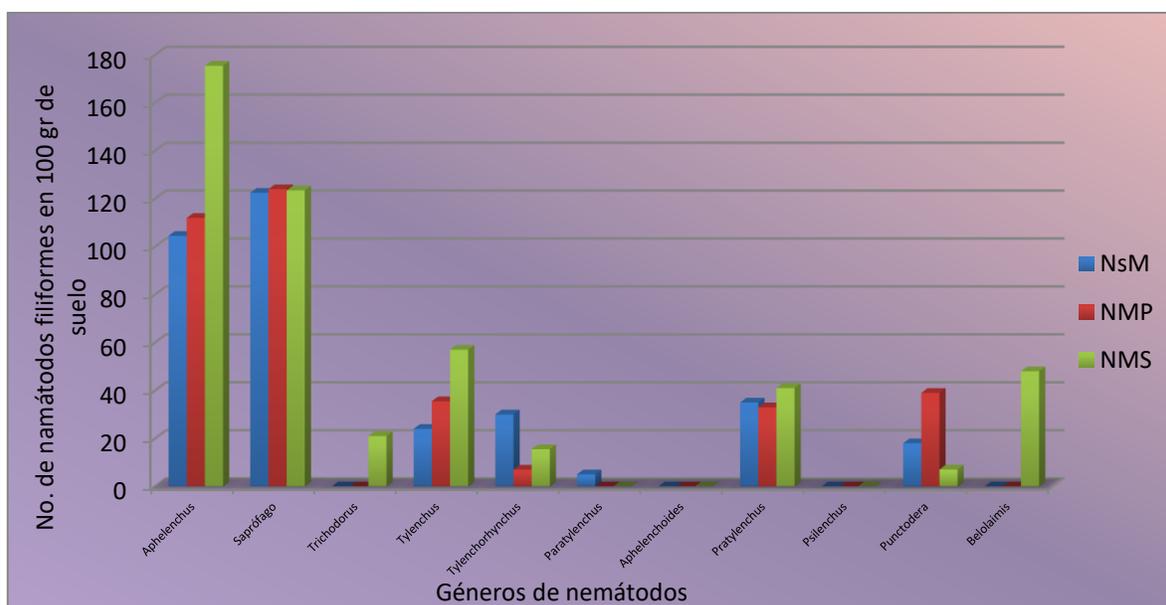


Figura 39. Población final de nemátodos filiformes en los tratamientos.



4.3 Micorrizas

4.3.1 Porcentaje de tejido colonizado por el hongo

En el microscopio compuesto a un aumento de 10X, se observó el tejido colonizado por el hongo. Los tratamientos NMP y NMS presentaron 100% de colonización del hongo, mientras que en NsM fue del 40%, aunque no se aplicó micorrizas en este último tratamiento se corroboró que existe naturalmente en el suelo pero en un porcentaje bajo.

4.3.2 Porcentaje total de colonización micorrízica

Se presentaron vesículas, hifas y arbuscúlos en los tratamientos NMP y NSM. En el NsM se observaron un número reducido de vesículas y muy aisladas (figura 40).

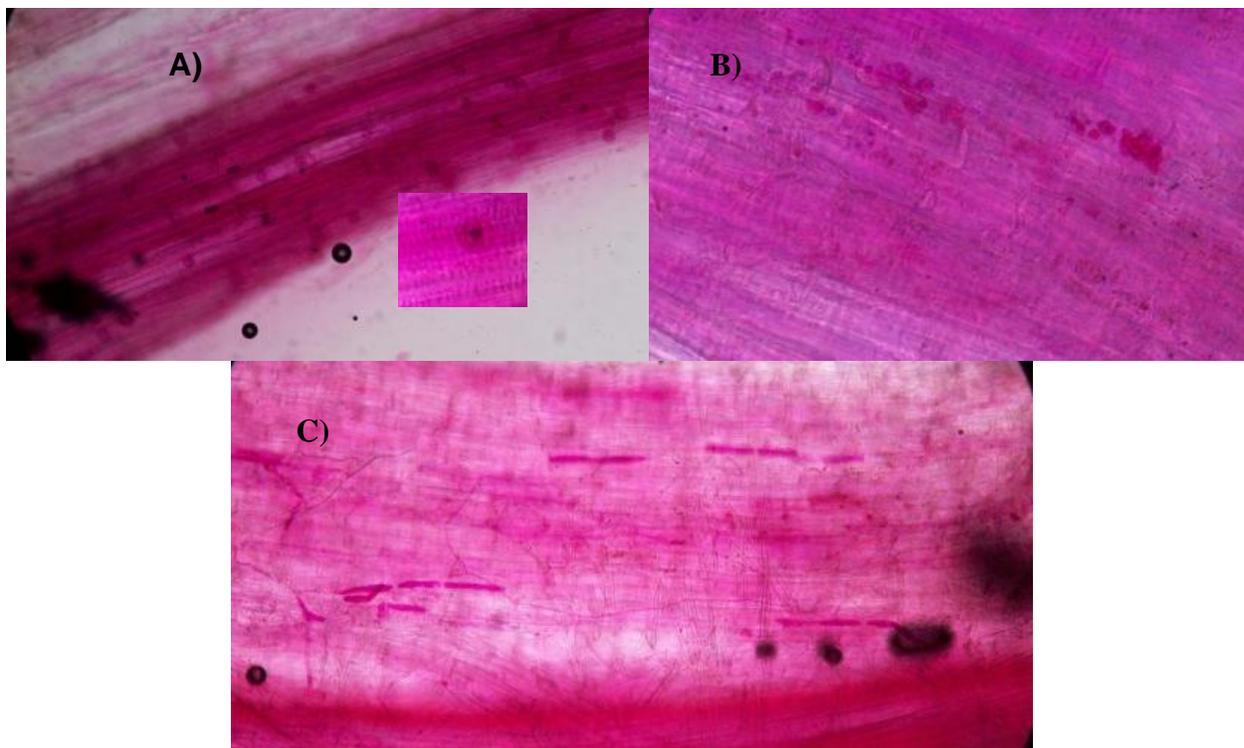


Figura 40. Colonización total micorrízica en la raíz de la planta de maíz. A) Vesículas con 100% de colonización. B) Arbuscúlos e C) Hifas.



El análisis de varianza indica que existen diferencias significativas entre tratamientos con respecto a la colonización total micorrízica de vesículas en la raíz muestreada de maíz, con un alfa de 0.05 y un $P > F = 0.0046$. Las plantas del tratamiento NMP y NMS fueron las de mayor número de vesículas, de acuerdo a la comparación de medias de Tukey (Cuadro 1 y Figura 41).

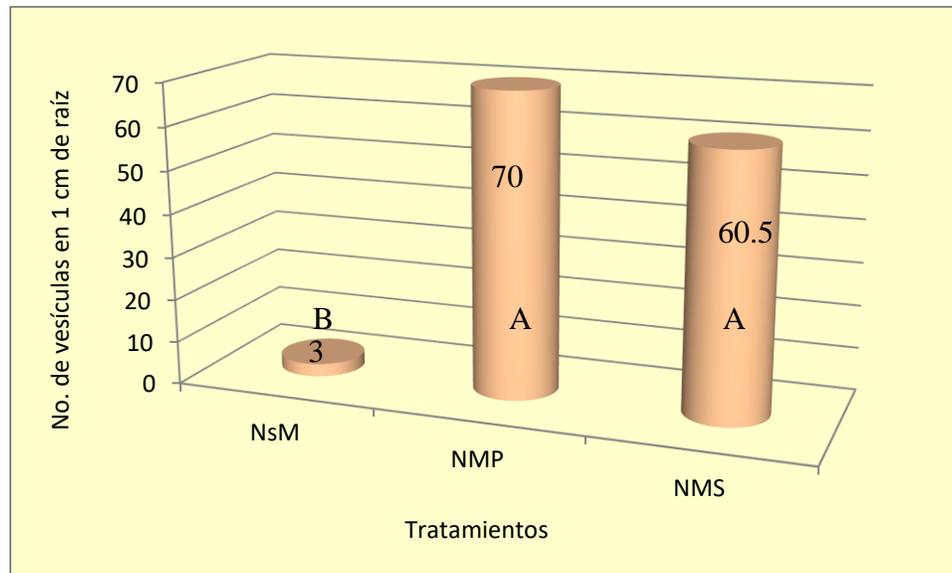


Figura 41. Colonización total micorrízica de vesículas en la raíz de maíz.

A, y B: Grupo Tukey ($\alpha=0.05$)

4.3.3 Micorrizas vesículo arbusculares

El análisis de varianza indicó que no existen diferencias significativas entre tratamientos con respecto a número de micorrizas vesículo arbusculares (MVA) (extraídas de las muestras de 100 gr de suelo) con un alfa de 0.05 (Figura 42).



Figura 42. Micorrizas vesículo arbusculares extraídas del suelo.

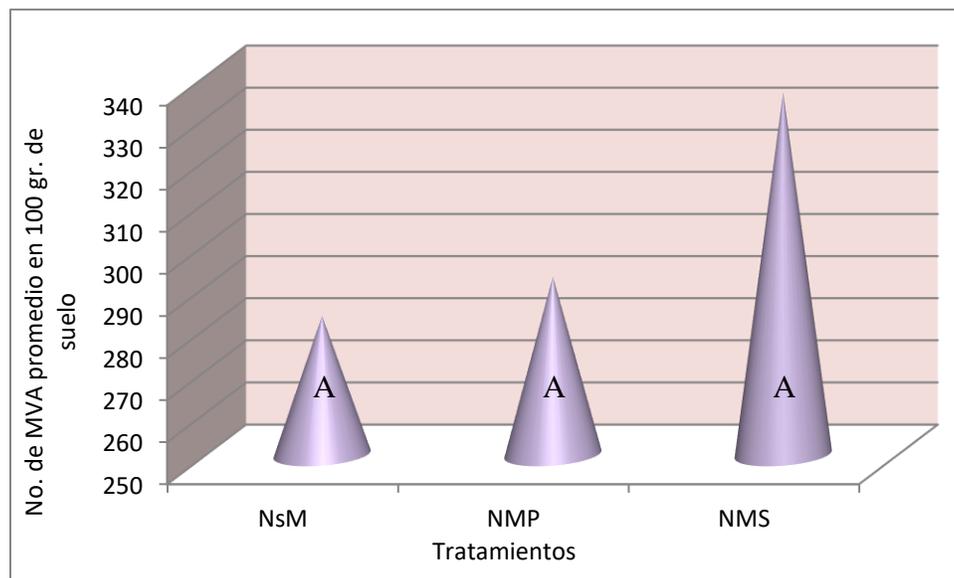


Figura 43. Promedio de micorrizas vesículo arbusculares extraídas del suelo, en cada uno de los tratamientos.

A: Grupo Tukey ($\alpha=0.05$)



4.4 Correlación

El área inicial de la planta de maíz está correlacionada con el número de quistes inicial igual a 0.47814 (error tipo I al 1%), es decir, los tratamientos estaban expuestos al mismo número de quistes al hacerse el trasplante de maíz, pero al haberse establecido la micorriza en el suelo y proporcionarle a la planta nutrientes y sanidad, la altura de planta final y el diámetro también se correlacionaron. Existe una correlación entre la altura de la planta final y el número de quistes inicial igual a 0.3760 (error tipo I al 4%), por lo que el número de quistes inicial explica el comportamiento de la última altura. Otra es el diámetro final y el número de quistes inicial igual a 0.3715 (error tipo I al 4%). Según White (2004) los síntomas más característicos que causan los nemátodos encontrados en el experimento son: reducción de las raíces fibrosas, achaparramiento, raquitismo y a veces clorosis, pueden localizarse en rodales o puede ser evidente una supresión general del crecimiento en todo el campo de maíz; NMS y NMP tuvieron mejor altura final de planta, diámetro final, área final, peso de planta final, peso de raíz y volumen de raíz, es decir, hubo una protección en la raíz al ataque de los nemátodos; como lo cita Coyne (1999): las micorrizas aumentan la tolerancia a las enfermedades en las plantas, mejoran la nutrición y compiten con microorganismos patógenos por el espacio en las raíces de las plantas y mejoran la estructura del suelo ayudando a la cohesión de los agregados del suelo.

El volumen de raíz explica las diferentes alturas, el diámetro, el área, el peso de planta, y el peso de raíz de la planta de maíz. A mayor volumen de raíz mejor crecimiento tendrá la planta. El tratamiento con raíces inoculadas con micorriza en semilla tuvieron el mejor desarrollo de la planta.

El número de vesículas está correlacionado con el tipo de tratamiento. En NMS y NMP se inocularon micorrizas en semilla y en plántula, y en NsM no se inocularon pero están presentes en la naturaleza en un bajo porcentaje. Además están conectadas con las MVA, el número de vesículas depende de las MVA que hay en el suelo. Según Sainz, 2006: algunos hongos micorrízicos arbusculares forman también vesículas.



V. CONCLUSIONES

El cultivo de maíz (*Zea mays* L.) al asociarse con hongos micorrízicos, en este estudio el género *Glomus* spp., tuvo un 50 % mejor desarrollo y crecimiento, en promedio.

En altura de plantas de maíz con NMS presentó un 30% más crecimiento con respecto a NsM, en el diámetro del tallo 34%, área foliar final 54%, peso fresco de planta 61%, peso de raíz 43% y volumen de raíz 73%.

Es mejor inocular la micorriza en semilla y trasplantarla mínimo 15 días después de la inoculación. Inocular micorrizas en plántula un mes antes del trasplante, para permitir su establecimiento en la raíz. El tiempo que tardó en establecerse en la raíz y en el suelo, y el tipo de inoculación del hongo formador de micorriza en el hospedante, determinó el porcentaje de daño del nemátodo.



VI. BIBLIOGRAFIA

Anónimo. 2006. Catálogo de Maíces criollos de Oaxaca. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, campo experimental Valles Centrales de Oaxaca. Libro técnico no. 6. Pp. 11-60.

Azcon, R. y Ocampo J. A. 1981. Factors affecting the vesicular- arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars *New Phytol.* 87: 677/ 685.

Becerra L., E. N. 1978. Relación del nematodo enquistado del maíz *Punctodera chalcoensis* (Stone, Sosa Moss y Mulvey) con otros microorganismos fitopatógenos del suelo. Tesis para Maestro en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México. pp: 27-56.

CAB International. 2001. *Punctodera chalcoensis* in Crop protection compendium, global module, 3rd edition. Wallingford, UK: CAB International.

Castellano, M., R. Molina. 1989. "Mycorrhizae". En: Landis, T., R. Tinus, S. Mc Donald, J. Barnett. *The Container Tree Nursery Manual*, vol. 5. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 101-167.

Cepeda M. S. 1996. Nematología Agrícola. Editorial Trillas. México, D.F. 59-156 pp.

Christie J.R. 1982. Nemátodos Vegetales su ecología y control. LIMUSA S.A. 3ra. edición. México D.F. 124-174 pp.



Coyne M. 1999. Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio. Editorial Parafino. España. 348-351 pp.

Dropkin V.H. 1989. Introduction to plant Nematology. 2ª. Edición. Jonh Wiley & Sons. Canada. Pp 186-217.

Estañol, B.E. 1978. Efecto de la inoculación de *Rhizobium phaseoli* y dela endomicorriza (V-A), sobre el parasitismo de los nematodos *Meloidogyne incognita* y *Ditylenchus dipsaci* en cultivos de frijol y cebolla. Tesis profesional. E.N.E.P. "Zaragoza". U.N.A.M., México. 91 pp.

Estañol, B.E. 1992. Estudio de la interacción entre maíz con alta capacidad de asociación con la micorriza vesiculo-arbuscular (V-A), y su comportamiento hacia el nematodo *Meloidogyne chitwoodi*. Tesis de maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. 121 pp.

Fraustro, C.J.L. y Lara C.B.N. 1989. Prueba de micorrizacion en durazno *Prunus pérsica* (L) Batsch y café *Coffea arabica* (L) Var. Caturra en vivero. Tesis: Ing. Agrónomo Parasitólogo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". Uruapan, Michoacán. 99 pág.

Gonzáles, C. 1995. Interacción de la simbiosis endomicorriza y la fijación biológica de nitrógeno. Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillos, Méxicop. Pp 166-180.

Gonzáles, R.M. 2007. Encalado y micorrizas en la corrección de Deficiencias de Fósforo en un andisol cultivado con *Pinus halepensis* Mill. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Depto. Suelos. 50 pp.

Goodey T..1927. On the Nematode Genus Aphelenchus. Journal of Helminthology, 5, pp 203-220



Harley, J.L. and S.E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. Nueva York, USA. Pp 169.

Hernández C. J. M. 1999. La diversidad del maíz mexicano y su conservación. En: Memorias del segundo taller Nacional de Especialidades de Maíz. Saltillo, Coahuila, México. Pp. 1-13.

Herrera T. y Ulloa M.. 2004. El reino de los hongos. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de cultura económica. México, D.F. Pp. 364- 371.

Indili, N.E. 2000. Nodulación y micorrización arbuscular de seis genotipos de frijol en competencia de malezas. Tesis: Ing. Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Depto. De Parasitología Agrícola.

Lee D.L., 2002. The biology of nematodes. Taylor & Francis Group. Florida U.S.A. 14-17 pág.

Main W.F and Lyon H.H.. 1996. Plant- parasitic nematodes a pictorial key to genera. Fifth editions. Cornell University Press. United States of America. Pp. 1-174.

Marx, D.H, and W. C. Bryan. 1969. *Scleroderma bovista*, an ectotrophic mycorrhizal fungus of pecan. Phytopathology 59:1128-1132.

Martínez V.S.E. 2008. Comparación de tres materiales de maíz criollo (*Zea mays*) infestados por el nemátodo enquistado del maíz (*Punctodera chalconensis*) bajo condiciones de temporal en San Diego Huehualco, Estado de México. Tesis de licenciatura. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp 12-16.



Montes R.G., Solis G.S., y Quintos E.M. 2001. Efecto del inoculante comercial burize (*glomus intraradices*) sobre el desarrollo de *Pinus engelmannii* carr. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 7(2): 123-126.

Morton, J.B. and Walker. 1984. *Glomus diaphanum* a new species en the Endogonaceae cominon in West Virginia Mycotaxen Pp 6-14.

Nickle R. 1984. Plant and Insect Nematodes. Marcel Dekker. New York and Basel. United Satate of America. Pp. 77-80.

Núñez A., T. A. 1997. Respuesta de ocho variedades de maíz al ataque del nemátodo *Punctodera chalcoensis* bajo condiciones de invernadero en Chapingo, México. Tesis Profesional. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp 5-11.

Pérez B.J., G. 1971. Evaluación de la susceptibilidad del cultivo del trigo al ataque del nematodo *Pratylenchus thornei* Sher y Allen 1953. Tesis de maestría. Escuela de Graduados. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. 98 p.

Primavesi, A. 1982. Manejo ecológico del suelo: la agricultura en regiones tropicales. 5ta. Edición. Librería el Ateneo. Bueno Aires Argentina. Pc. 154-165.

Ramírez A., S. 2005. Uso de biofertilizantes comerciales Azos (*Azospirillum*) y micorriza (micorrizas) en la produccí{on de maíz A-79) en el municipio de Yuriria, Guanajuato. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Dpto. de Zootecnia.

Sanchez O., A. 1972. Efecto de DECP (1,2-Dibromo-3- Cloropropano) en el desarrollo y rendimiento de maíz y sorgo forrajero. Tesis de licenciatura. División



de Ciencias Agropecuarias y Marítimas. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Pag. 8.

Sikora, R. A. Influence of the endotrophic mycorrhiza *Glomus mosseae* on the host- parasite relationship of *Meloidogyne incognita* on tomato. In. Bibliography on VAM (1970-1982). CIAT . 107 pp.Sosa- Musgo, C. 1987. Nemátodos enquistados en México, América Central y Suramérica. *Nematología Mediterránea* 15:1 - 12.

Solis, S. G. 1999. Notas de clase de Genética Forestal. Instituto Tecnológico Forestal. El Salto, P. N., Dgo., México. 110 p.

Sosa Moss, C. 1987. Cyst nematodes in Mexico, Central America and South America. *Nematologia Mediterranea* 15:1-12.

Shurtleff M.C. and Averre C.W. III. 2005. Diagnosing Plant Diseases caused by Nematodes. The American Phytopathological Society. Minesota U.S.A. 1-15 pp.

Tarango R., S.H.,Macial L.,C.B., Alarcón A., Moreno P.J. 2004. Micorrizas en nogal pecadero y pistachero. Centro de investigaciones Regionales Norte-Centro Campo Experimental Delicias. Folleto no. 16. INIFAP 43 p.

Thorne, G. (1961), Tylenchinae, chapter 5 in: Principles of Nematology, McGraw-Hill Book Company Inc., New York - Toronto - London, 553 pp.

Vázquez J., T. 1976. Infestaciones de nemátodos fitoparásitos como factor limitante en la producción de maíz en el Altiplano Mexicano. Folleto. DAGEM. 79 p.

Vázquez G., J. 2006. Ecofisiología del maíz. Agroclimatología. Universidad Autónoma de Chiapas. Vol. 1. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. pp 3-4.



Wellhuasen, E. J., Roberts L. M. y Hernández X. E. 1952. Razas de Maíz en México (su origen, características y distribución). Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México. D.F. 112 pp.

White D.G. 2004. Compendium of corn diseases. The American Phytopathological Society. Pilot Knob Road. USA. pp 56-61.

Wood, F.H. (1971), Studies on the biology of soil-dwelling nematodes from tussock grassland, Ph.D. thesis, University of Canterbury, New Zealand, 286 pp.

Yeates, G.W., Bongers, T., Goede, R.G.M. de, Freckman, D.W., Georgieva, S.S. 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera - an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*, 25 (3): 315-331



ANEXO

TÉCNICA DE TINCIÓN PARA EVALUAR EL PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN MICORRÍZICA PHILLIPS Y HAYMAN (1970).

Citado por Indilí, 2000:

Fijación de raíces

Las raíces se colocaron en bolsas de plástico transparente, en donde se les agregó de 1.0-1.5 ml de fijador FAA, dependiendo del tamaño de la raíz. Las raíces se mantuvieron en refrigeración.

Clareo y tinción de las raíces micorrizadas

La metodología usada para el fijado, clareo y tinción de raíces fue la respuesta por Phillips y Hayman (1970), modificada por Kormanik y McGraw (1984), fue adaptada al cultivo del frijol:

- a) Se lavaron las raíces para eliminar los residuos de FAA
- b) Se colocaron las raíces en capsulas esterilizables.
- c) Las capsulas esterilizables fueron colocadas en un vaso de precipitados de 1Lt, al cual se le agregó hidróxido de potasio (KOH) al 10%, tratando de cubrir la mayoría de las capsulas.
- d) El vaso que contenía las raíces con KOH, se colocó en una autoclave para calentarlos durante 5 min a 10 libras de presión.
- e) Transcurrido el tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se le retiró el KOH enjuagándolo con agua de la llave.
- f) Nuevamente al vaso se le agregó hidróxido de potasio al 10% y se dejó en reposo durante 43 hrs, con el fin de eliminar el gran contenido de taninos que contenían las raíces.
- g) Después de las 43 hrs se retiró el KOH y se enjugó con agua de llave.



- h) Se le agregó agua oxigenada al 10% durante 3 minutos.
- i) Después de este tiempo se eliminó el agua oxigenada y se enjuagó con agua de llave.
- j) Enseguida se aplicó ácido clorhídrico (HCl) al 10% y se agitó por 3 min.
- k) Después de haber sido agitado se retiró el HCl pero en este paso ya no se enjuagó.
- l) Se le agregó la solución colorante a base de azul de tripan al 0.04%
- m) una vez con el colorante, nuevamente se volvieron a calentar las raíces durante 7 minutos a 7 libras de presión.
- n) Se retiró la solución colorante.
- o) Por último se les agregó lactoglicerol limpio, haciendo varios cambios durante 20 días, con el fin de que el lactoglicerol aclarara el protoplasma de las raíces, dejando teñido únicamente las estructuras de las micorrizas.

<u>FAA</u>	<u>Lactoglicerol</u>	<u>Azul de tripan</u>
Ácido acético 95 ml	Ácido láctico 500 ml	Lactoglicerol 2.5 L
Formol 13 ml	Glicerina 500 ml	Azul de tripan 1gr
Alcohol 50% 200 ml	Agua 50 ml	

En la presente tesis:

- Se colocaron las raíces en tubos de ensayo.
- Se calentaron las raíces a baño maría por 10 minutos a 90°C, y no en autoclave.
- En el inciso f) se reposó el KOH 10% por ocho días.
- Se utilizó el colorante Fucsina+l actoglicerol
- Se hizo cambio de lactoglicerol por ocho días y se obtuvieron buenas preparaciones.



METODO DE TAMIZADO Y DECANTACION DE COBB (1918)

I. METODOLOGIA

Material necesario:

- 100 ml de suelo
- 2 recipientes (baldes 1 y 2) de aproximadamente 4 litros de capacidad
- 1 espátula
- Tamices de 500u ó 34 mesh, 350u ó 45 mesh, 175u d 80 mesh 100u ó 150 mesh, 50u ó 280 mesh
- 4 vasos de 500 ó 250 ml.

Procedimiento:

1. Coloque 100 ml de suelo en un recipiente o balde (1) con agua (m<s o menos 2 litros). Agite bien con una espátula para separar los nematodos de las partículas del suelo, deje reposar la suspensión por 5 segundos para permitir que las partículas más grandes del suelo sedimenten.
2. Pase íntegramente toda la suspensión a través de un tamiz de 500u sobre el otro recipiente o balde (2). Descarte el suelo que queda en el balde 1 y el material grueso que ha quedado en el tamiz de 500u, porque todos los nemátodos activos han pasado a través del tamiz y se encuentran en el recipiente 2. Algunos nematodos muy largos como los *Mermithidae* y algunos *Longidoridae* no pasan rápidamente por lo que es conveniente agitar suavemente dentro del agua los restos que quedaron en el tamiz. Lave el tamiz y el balde 1.
3. Agite la suspensión que contiene el recipiente 2 y pásela lentamente por un tamiz de 350u sobre el recipiente 1. Al suelo que ha quedado en el recipiente 2 agréguele un poco más de agua, agite y pase esta suspensión lentamente por el



tamiz de 350u sobre el mismo recipiente 2, repita esta operación una tercera vez. Descarte el suelo que quedó en el recipiente o balde 2 y deje limpio el recipiente.

4. Lo que queda en el tamiz de 350u son los nematodos activos muy grandes como *Longidorus* y algunos *Xiphinema*. Para extraerlos enjuague el tamiz con una piseta y recoja la suspensión en un vaso que le llamaremos 1. Esta operación se realiza cada vez que se pasa la suspensión del recipiente 2, a través del tamiz de 350 u. Deje limpio el tamiz de 350u.

5. Agite la suspensión que se colectó en el recipiente 1 del paso 3, y pásela lentamente a través de un tamiz de 175u sobre el recipiente 2 el mismo número de veces y de la misma manera como en el paso 3. Descarte el suelo que quedó en el recipiente 1 y deje limpio el recipiente.

6. Lo que queda en el tamiz de 175 u son nematodos medianos como por ejemplo.: *Helicotylenchus*. Para extraerlos, enjuague el tamiz con una piseta y reciba la suspensión en un vaso que le llamaremos 2. Esta operación se realiza cada vez que se pasa la suspensión del recipiente 1 sobre el tamiz de 175u. Deje limpio el tamiz de 175u.

7. Agite la suspensión que se colectó en el recipiente 2 del paso 5 y pásela lentamente a través de un tamiz de 100 u, sobre el recipiente 1, de la misma manera y el mismo número de veces como en el paso 3. Descarte el suelo que queda en el recipiente 2 y deje limpio el recipiente.

8. Lo que queda en el tamiz de 100u son nematodos pequeños como por ej.: *Pratylenchus*, para extraerlos enjuague el tamiz con la piseta y reciba la suspensión en un vaso al que llamaremos 3. Esta operación se realiza después que se pasa la suspensión del recipiente 2 sobre el tamiz de 100 u. Deje limpio el tamiz de 100 u.

9. La suspensión que se recibió en el recipiente 1 del paso 7 se agita y pasa lentamente a través de un tamiz de 50 u, el mismo número de veces y de la misma



manera como en el paso 3. La suspensión que pasa por el tamiz y el recipiente 1 se descarta. Deje limpio el recipiente.

10. Lo que queda en el tamiz de 50u son los nematodos más pequeños y juveniles; para extraerlos enjuague el tamiz con una piseta y reciba la suspensión en un vaso que llamaremos 4. Deje limpio el tamiz de 50 u.

11. Los nematodos que se encuentran en los vasos 1, 2, 3 y 4 se observan directamente pero si las suspensiones contienen muchas partículas de suelo y están turbias, se pueden colocar en embudos de Baerman o filtros de algodón para clarificar las suspensiones.

<http://tarwi.lamolina.edu.pe/~fonz/fitonematologia/practicass/pract4.htm>