

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

CONTROL ORGÁNICO DE *Meloidogyne incognita*
Chitwood, CON EXTRACTOS DE NEEM Y *Paecilomyces*
ilacinus EN EL CULTIVO DE PEPINO

POR
DOMINGO FÉLIX ZAZUETA

TESIS APROBADA POR LA
UNIDAD CULIACÁN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
PRODUCTOS AGRÍCOLAS PARA ZONAS TROPICALES Y
SUBTROPICALES

COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS

C.I.A.D., A.C.
RECIBID
16 MAYO 2008
12356
BIBLIOTECA

CULIACÁN, SINALOA.

OCTUBRE 2007



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A. C.**



UNIDAD CULIACÁN

**CONTROL ORGÁNICO DE *Meloidogyne incognita*
Chitwood, CON EXTRACTOS DE NEEM Y *Paecilomyces*
lilacinus EN EL CULTIVO DE PEPINO.**

Por:

DOMINGO FÉLIX ZAZUETA

**TESIS APROBADA POR LA UNIDAD CULIACÁN EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS PARA ZONAS
TROPICALES Y SUBTROPICALES**

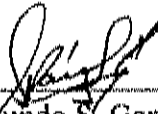
Como requisito parcial para obtener el grado de
maestría en ciencias

CULIACÁN, SINALOA

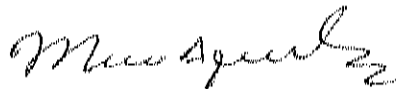
Octubre 2007

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Domingo Félix Zazueta, la han encontrado satisfactoriamente y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



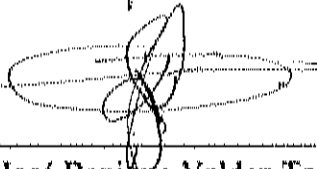
Dr. Raymundo S. García Estrada
Director de Tesis



Dr. Miguel Ángel Angulo Escalante
Asesor



M.C. José Armando Carrillo Fasio
Asesor



Dr. José Benigno Valdez Torres
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen citas breves del material contenido en la presente tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD).

La publicación en comunidades científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita, del director del trabajo de tesis.

Dr. Alfonso A. Gardea Bejar

Director General

DEDICATORIAS

A dios

Por permitirme encontrar en mi camino a personas tan generosas y comprensivas. Que con su gran apoyo y amor pude alcanzar un sueño de tantos.

Con todo mi amor y admiración a mi madre

Demetria Zazueta Beltrán

A la mejor mujer que conozco, te agradezco con toda el alma, por ser el pilar de la familia, el ejemplo de lucha incansable por sacarnos adelante y por tu gran fe que tienes y siempre tendrás. Por tu gran apoyo, dedicación y amor que nos compartes día con día. Te amo.....

A mis hermanos

Guadalupe, Mari, Moni, Miguel, Gris, Roxxy, Gilberto, Manuel, Alfonso

Con el más profundo cariño, por estar siempre unidos en todos los momentos buenos o malos que hemos compartido. Por su gran espíritu de lucha que los caracteriza y la seguridad de saber que nunca estaremos solos.....Los Amo Mucho y siempre los llevo en mi corazón!!

A mis sobrinos

Por ser la alegría de nuestra familia. A cada uno de ustedes los amo y siempre los llevo en mi corazón. Son para mi un estímulo de superación día con día y muchas gracias por formar parte de ella.

A mis cuñados

Muchas gracias por su apoyo y por ser parte de esta gran familia.

A Maria lizeth

Por tu gran amor y dedicación. Gracias por tu paciencia, por ayudarme a superar los momentos difíciles por compartir mis sueños y fracasos. Pero sobre todo por seguir con constancia el camino que recorreremos juntos. Eres parte importante en mi vida... Te Amo y siempre te amare...

A mis compadritos

Muchas gracias por su gran amistad, sinceridad y lealtad. Por enseñarme el verdadero significado de amistad. Por apoyarme cuando más lo necesite. Por dejarme ser parte de su pequeña familia. Siempre los llevare en mi corazón. Los amo...

A mi ahijado

Gracias por llegar a mi vida. Te amo...

A todos ustedes,

Que estuvieron ahí y me animaron cuando las cosas se pusieron difíciles.

¡¡Mil gracias y que Dios los bendiga ahora y siempre!

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Raymundo Saúl García Estrada y asesores MC. Armando carrillo Fasio, Dr. José Benigno Valdez Torres y al Dr. Miguel Ángel Angulo Escalante por su gran disposición en todo momento que requerí de su ayuda y orientación.

Un especial agradecimiento a los técnicos del laboratorio de fitopatología Ing. Isidro Márquez y al Ing. Luis Pérez por el apoyo otorgado en la realización de este trabajo.

A mis maestros del CIAD por ser parte de mi formación: Dra. Maria Dolores Muy Rangel, Dr. Tomás Osuna Enciso, Dr. Jorge Siller Cepeda, Dr. Miguel Ángel Angulo Escalante, MC. Manuel Baez Sañudo, Dr. Felipe Peraza y Dr. Basilio Heredia.

A mis compañeros de maestría por los buenos momentos

A mis compañeros de generación de la facultad de agronomía.

Luis Alberto, Juan José, Aarón, Alejandro, Everardo, Alfredo, Rosendo y Claudia. Por todas las vivencias de esa época. Donde quieran que estén los recuerdo desde siempre y hasta siempre.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD) Unidad Culiacán, por brindarme la oportunidad y el espacio para formarme como Maestro en Ciencias en sus aulas y laboratorios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado a través del programa de formación de científicos y tecnólogos.

ÍNDICE

	Paginas
ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	7
PROBLEMA	8
JUSTIFICACIÓN.....	9
OBJETIVO GENERAL.....	10
Objetivos específicos fase de invernadero	10
Experimento 1	10
Experimento 2.....	10
HIPÓTESIS FASE INVERANDERO.....	11
Experimento 1	11
Experimento 2.....	11
Objetivos específicos fase de campo	12
HIPÓTESIS FASE CAMPO	13
META	13
REVISIÓN DE LITERATURA	14
El cultivo de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.).....	14
Importancia del cultivo	15
Nematodos fitoparásitos.....	16
Morfología de nematodos	16
Pared del cuerpo.....	16
Sistema digestivo.	17
Sistema nervioso.	17
Sistema reproductor,	17
Huevo,	18

Ecología y distribución	18
Síntomas ocasionados por los nematodos.....	19
Clasificación de los nematodos.....	20
Nematodos del nódulo de la raíz: <i>Meloidogyne</i> spp.	22
Importancia del género <i>Meloidogyne</i> spp.	22
Biología del género <i>Meloidogyne</i> spp.....	23
Síntomas ocasionados por <i>Meloidogyne</i> spp.	25
Factores que afectan a <i>Meloidogyne</i> spp.	26
Control de nematodos	27
Nematófago <i>Paecilomyces lilacinus</i>	30
Características de <i>Paecilomyces lilacinus</i>	30
Mecanismo de acción de <i>Paecilomyces lilacinus</i>	32
Antecedentes de <i>Paecilomyces lilacinus</i> en control de <i>Meloidogyne</i> spp.	33
Árbol de neem (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss).....	36
BIBLIOGRAFÍA	41

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de los nematodos	21
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>Meloidogyne incognita</i>	25
Figura 2. Principales síntomas causados por <i>Meloidogyne incognita</i> en pepino. A) Agallamiento de raíces de pepino. B) Síntomas en el follaje de pepino.....	26
Figura 3. Características microscópicas y macroscópicas de <i>Paecilomyces</i> spp. A). Esquema de conidióforos y conidias de <i>Paecilomyces</i> spp. B). Microfotografía de conidióforos y conidias de <i>Paecilomyces lilacinus</i> C). Morfología de las colonias de <i>Paecilomyces lilacinus</i>	31
Figura 4. A) Árbol de neem y B) semillas de neem.....	37

RESUMEN

Se realizaron 2 experimentos en invernadero fase 1 en las instalaciones del CIAD, con el objetivo de evaluar a *Paecilomyces lilacinus* (1×10^7 conidios / mL), aceite y torta de neem (al 4 , 10 y 20%) en el manejo de *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino. En el experimento 1 y 2 se observaron las plantas de pepino presentaron un incremento mayor de peso de follaje y raíz en los tratamientos con *P. lilacinus* y aceite de neem con relación al testigo. Los porcentajes de severidad de agallamiento causado por *M. incognita*, en los tratamientos con *P. lilacinus*, aceite de neem y torta de neem fueron de 28, 46 y 58% respectivamente. Lo que equivale a una efectividad en *P. lilacinus* del 62%, el aceite de neem 41% y torta de neem con 29%. Resultados similares se observaron en el experimento 2 donde se evaluaron los 2 tratamientos más efectivos del experimento 1. Existió un mayor incremento en follaje y peso de plantas de pepino, en el caso del porcentaje de severidad de agallamiento en *P. lilacinus* fue de 26% y en aceite de neem un 33%. Se determinó una efectividad biológica en *P. lilacinus* mostró un 67% y en aceite de neem un 58%. En las dosis altas de torta de neem (10% y 20%), se observaron síntomas de fitotoxicidad causando la muerte de plantas. Los resultados obtenidos demostraron que *P. lilacinus* fue el tratamiento que ejerció un mejor control. En la fase 2 de campo los resultados mostraron diferencias significativas en poblaciones de larvas de *M. incognita* en suelo a los 45 y 65 después del trasplante (DDT) *P. lilacinus*, aceite de neem y en combinación aceite de neem con *P. lilacinus*, en relación a los tratamientos de Vydate L y el testigo. Las plantas tratadas con el producto químico presentaron un índice poblacional menor en relación al testigo. Así mismo, en la

severidad de nodulación causado por *M. incognita* a los 45 y 65 (DDT) *P. lilacinus* mostró respectivamente un 28 y 30%, aceite de neem 34 y 36%, Aceite de neem y *P. lilacinus* 35 y 39% y Vydate L 47 y 48%. Esto equivale a una efectividad del 52% en *P. lilacinus* contra *M. incognita*, seguida por aceite de neem con un 42%, interacción aceite de neem y *P. lilacinus* con 36%, Vydate L con un 26%. Al analizar las medidas de los tamaños como parametro de evaluación para exportación, se observó que existieron diferencias significativas en los tratamientos en relación al testigo. Así mismo, al realizar el análisis económico por hectárea de los tratamientos en comparación al testigo, se obtuvo un margen de ganancia entre un rango mayor del 50% y en la recuperación de la inversión de ganancia en relación al testigo mayor al 40% situando a *P. lilacinus* como el mejor tratamiento con un capital neto obtenido de \$111,220 de pesos mexicanos, seguido por aceite de neem con \$ 99,971.

INTRODUCCIÓN

En la última década, en México se ha incrementado considerablemente la superficie destinada a la siembra de hortalizas. Siendo uno de los principales países que exportan su producción a los mercados internacionales, principalmente a los Estados Unidos de América.

En México, en el ciclo agrícola 2006-2007, se exportaron aproximadamente 4,285,885 mil toneladas de hortalizas y generando un ingreso de 3,849 millones de dólares (USDA, 2007), de los cuales el estado de Sinaloa aportó más del 18% de la producción.

Sinaloa se caracteriza por poseer una agricultura diversificada y tecnificada. Entre los cultivos que destacan por superficie sembrada y demanda de exportación están: tomate, chile, berenjena, cucurbitáceas como; melón, sandía y pepino. Sin embargo, estos son afectados por muchos factores tanto bióticos como abióticos, los cuales afectan la producción y calidad de los frutos, lo que trae como consecuencia una reducción de ganancias. Así mismo, los costos de producción se incrementan por estos patógenos.

Entre los factores que reducen la producción y rendimiento de las hortalizas se encuentran las enfermedades causados por fitopatógenos, siendo considerados los de mayor importancia aquellos que afectan al sistema radicular. Dentro de este grupo de

fitopatógenos destacan: los nematodos formadores de nodulos del género *Meloidogyne* spp. Las especies más comunes a nivel mundial y en México son: *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* y *M. hapla* (Cepeda, 1996).

Los nematodos noduladores constituyen uno de los grupos de parásitos más importantes debido a las grandes pérdidas que causan a nivel mundial en los cultivos agrícolas. Baker (1994), estimó el promedio anual de pérdidas en el rendimiento en los cultivos en plantas parasitadas por nematodos fué de un 5 hasta un 12% de la producción anualmente. En algunos países, donde las poblaciones de nematodos son demasiadas altas y los cultivares son muy susceptibles, las pérdidas anuales se han estimado desde un 49 hasta un 70% de la producción en los cultivos (Lamberti *et al.*, 1980).

Actualmente este tipo de nematodos se han encontrado atacando a diversos cultivos como tomate, chile, berenjena, melón y pepino entre otros (Carrillo *et al.*, 2002). Las prácticas recomendadas para eliminar o disminuir las poblaciones de nemátodos en cultivos están basadas en la utilización de métodos químicos, físicos, genéticos, culturales y biológicos (Guevara, 2006). Sin embargo, tradicionalmente los agricultores utilizan el control químico o nematicidas como la principal opción ya que su efecto es rápido y eficaz. El uso de nematicidas químicos es considerado una excelente alternativa para el control de nemátodos fitoparasíticos en los cultivos hortícolas en México. Aplicaciones bien dirigidas de químicos han permitido lograr incrementos significativos en el crecimiento y la producción agrícola (Gowen, 1995; Araya y Cheves, 1997). Los nematicidas químicos registrados y que el agricultor tiene a disposición son el Oxamyl

(Vydate L.), Ethoprop (Mocap 10G) y Fenamiphos (Nemacur 15G). Estos enfrentan varios cuestionamientos ambientales, por la amenaza para el agroecosistema. Estos tienen un fuerte impacto negativo sobre la salud pública como son problemas de leucemia, desnutrición, afecciones respiratorias e irritaciones de la piel. Así mismo, afectando también al agroecosistema como la contaminación de la flora, fauna, suelos y mantos acuíferos (Valdez *et al.*, 2000).

Actualmente, en México se ha detectado el uso de agroquímicos que han sido eliminados en otros países. Algunos de estos productos han sido restringidos del mercado por lo antes mencionado. Uno de los nematocidas más ampliamente utilizado es el bromuro de metilo; sin embargo, se ha restringido su uso por ser altamente tóxico para la salud humana y el medio ambiente, en especial la capa de ozono (Gomez *et al.*, 2004).

Debido a los inconvenientes que tiene el uso de productos químicos como estrategia de control en plantas parasitadas en nematodos, es importante desarrollar un programa de control enfocado a una agricultura sustentable y de esta manera contribuir a la conservación del ambiente. El control biológico es el uso de productos que contienen un microorganismo como ingrediente activo o bien se extraen de un ser vivo (plantas) mediante procedimientos que no alteran su composición química. Se presenta como una alternativa potencial libre de riesgo frente a los numerosos y crecientes problemas derivados del uso de productos químicos. El hongo *Paecilomyces lilacinus* se ha desarrollado como una alternativa de control biológico o como un agente contra plantas parasitadas por nematodos. Los huevecillos de los nematodos son los sitios infectivos

Morgan-Jones *et al.* (1984), evaluaron *in vitro* la capacidad de parasitismo de una cepa de *P. lilacinus* sobre *Meloidogyne arenaria*; observando que las hifas del hongo penetraron los huevecillos del nematodo a través de minúsculos poros formados por disolución de la capa vitelina. Una vez dentro del huevo, las hifas al dilatarse comprimen las capas de quitina y lípidos, invaden el huevo e inclusive a las larvas en desarrollo, cuyas cutículas se disuelven.

Otra alternativa para el control de nemátodos es el uso de diversos materiales a base de extractos vegetales, dentro de estas se encuentran las especies que pertenecen a la familia *Meliaceae*, por ejemplo el árbol del neem (*Azadirachta indica* A.Juss) (Mohammad, 2000). El modo de acción de este compuesto es muy complejo y su mecanismo sobre el nematodo está siendo ampliamente investigado. En la actualidad numerosos estudios demuestran la actividad antialimentaria, inhibición de crecimiento, inhibición de oviposición (Koul *et al.*, 1990).

Las pérdidas económicas que generan los nematodos fitoparasíticos en las hortalizas y el uso indiscriminado de nematicidas para tratar de controlar del patógeno causa una serie de factores adversos al medio ambiente y a la salud pública, justifican la continua búsqueda de nuevas alternativas de control. Asimismo mejorar su productividad y proteger a nuestro medio ambiente. Por esta razón, se diseñó un estudio dirigido a la evaluación de productos a base de hongos y extractos vegetales para controlar al nematodo nodulador. Nuestro interés es encontrar una alternativa de control efectivo y viable que permita minimizar el uso de productos químicos.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿Presentará *Paecilomyces lilacinus* la misma efectividad biológica en comparación a los extractos de aceite y pasta de neem sobre *Meloidogyne incognita*?
- ¿Existirá sinergismo en combinación *Paecilomyces lilacinus* y aceite de neem en el control de *Meloidogyne incognita*?
- ¿Controlarán eficazmente los productos biológicos *Paecilomyces lilacinus* y aceite de neem en comparación al producto químico Vidate L sobre *Meloidogyne incognita*?
- ¿Existirá una mayor producción de frutos de pepino en los tratamientos donde pueda existir un mejor control de *Meloidogyne incognita*?

ESTRATEGIA PARA RESOLVER LAS PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

Se realizara el trabajo en 2 fases

❖ Fase 1 invernadero:

❖ Experimento 1

❖ Experimento 2

❖ Fase 2 campo:

❖ Experimento 1

PROBLEMA

Evaluar experimentalmente (1) en condiciones de invernadero durante el ciclo Enero-Marzo de 2006 la eficacia de pasta de neem (4, 10 y 20%), aceite de neem (cianim) y el hongo *Paecllomyces lilacynus* en el control de *Meloidogyne incognita*, sobre la formación de nódulos de las raíces, peso de follaje y raíz en el cultivo de pepino.

También evaluar experimentalmente (2) en invernadero durante el ciclo Marzo-Mayo de 2006 la eficacia de *Paecilomyces lilacinus*, aceite de neem con tres aplicaciones para el control de *Meloidogyne incognita*, sobre la formación de nódulos de las raíces, peso de follaje y raíz en el cultivo de pepino.

Así mismo, evaluar experimentalmente en campo durante el ciclo de Diciembre de 2006 a Marzo de 2007 la eficacia de *Paecilomyces lilacinus*, aceite de neem, Vidate L y la combinación de *Paecilomyces lilacinus* y aceite de neem en el control de *Meloidogyne incognita*, sobre la formación de nódulos en la raíz, población de larvas en el suelo y la producción del cultivo de pepino variedad Moctezuma.

JUSTIFICACIÓN

El nematodo *Meloidogyne incognita* reduce hasta un 60% la producción de los cultivos hortícolas, para reducir estos daños se utilizan productos químicos, sin embargo son asociados a daños en la salud pública y el medio ambiente. Por lo que se requiere el desarrollo de productos biológicos efectivos para el control de *M. incognita* sin ocasionar daños adversos.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de *Paecilomyces lilacinus*, aceite y pasta de neem, en el control de *Meloidogyne incognita*. Así mismo, conocer la efectividad de los tratamientos para el control de este patógeno.

Objetivos específicos fase de invernadero

Experimento 1

Evaluar la eficacia de *Paecilomyces lilacinus*, de aceite y pasta de neem sobre *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino en invernadero.

Evaluar el peso raíz y follaje en plantas de pepino en invernadero en relación a la eficacia de *Paecilomyces lilacinus*, aceite y pasta de neem, en el control de *Meloidogyne incognita*.

Experimento 2

Conocer la eficacia de aplicaciones en diferentes tiempos de aceite de neem y *Paecilomyces lilacinus* en la formación de nódulos de la raíz por *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino en invernadero.

Evaluar el peso de raíz y follaje en plantas de pepino en invernadero en relación a eficacia del aceite de neem y *Paecilomyces lilacinus*, en el control de *Meloidogyne incognita*.

HIPÓTESIS FASE INVERANDERO

Experimento 1

Las aplicaciones de aceite y pasta de neem presentan una mayor efectividad que con *Paecilomyces lilacinus*, en la disminución de la severidad de nodulación causado por *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino.

Los tratamientos biológicos incrementan el peso de follaje y raíz en plantas de pepino, en el control de *Meloidogyne incognita*.

Experimento 2

Las aplicaciones en relación al tiempo de exposición de aceite de neem y *Paecilomyces lilacinus* tienen mayor efecto en la disminución de nódulos de la raíz por *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino.

Los tratamientos biológicos incrementan el peso de raíz y follaje en plantas de pepino en el control de *Meloidogyne incognita*.

Objetivos específicos fase de campo

Evaluar la eficacia del aceite de neem y *Paecilomyces lilacinus*, en el control de *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino.

Evaluar la eficacia de la combinación entre aceite de neem y *Paecilomyces lilacinus*, en el control de *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino.

Determinar la producción del cultivo de pepino en campo en relación a eficacia de los tratamientos utilizados, en el control de *Meloidogyne incognita*.

HIPÓTESIS FASE CAMPO

Las aplicaciones del aceite de neem y *Paecilomyces lilacinus*, disminuyen la severidad de nodulación ocasionadas por *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino.

Las aplicaciones de la combinación entre aceite de neem y *Paecilomyces lilacinus* tiene una mayor efectividad para el control *Meloidogyne incognita* en el cultivo de pepino.

Existirá una mayor producción en la combinación de aceite neem y *Paecilomyces lilacinus*, que la utilización de los tratamientos por separados en el cultivo de pepino.

META

Desarrollar una alternativa para el control *Meloidogyne incognita*, con productos biológicos que muestre un efecto inhibitor de la enfermedad, la reducción de la formación de nódulos de la raíz y la población del nematodo en el suelo e incrementar la producción en el cultivo de pepino dañado por *M. incognita* en invernadero y campo.

REVISIÓN DE LITERATURA

El cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.)

El pepino es una hortaliza que pertenece a la familia de las cucurbitáceas. Es una planta cuyo origen se localiza en el norte de la India, fue conocido en épocas muy antiguas por civilizaciones griegas y egipcias. El pepino fue de las primeras hortalizas introducidas en nuestro país por Colón (Maroto, 2002), teniendo una gran aceptación en aquella época. En la actualidad, es una de las hortalizas más utilizadas. El pepino es una planta normalmente rastrera, monoica: que posee flores masculinas y femeninas. La raíz principal puede llegar a medir 1.10 m de profundidad. Las hojas tienen forma palmada, con cinco puntas, presenta también vellosidades blancas. Los frutos son de forma oblonga, muestran una coloración que va desde verde pálido a amarillo crema, pudiendo alcanzar una longitud de 5 a 40 cm; la superficie de esta hortaliza es lisa cubierta de pequeñas espinas de color blanco o negro, características que dependen de la variedad; las semillas tienen forma plana, de color blanco y miden de 8 a 10 mm (Maroto, 2002).

Importancia del cultivo

El pepino tiene gran importancia por su gran uso en la dieta alimenticia del humano, puede ser usado tanto en consumo fresco o industrializado. Siendo consumido principalmente en ensaladas. Por poseer un gran valor refrescante, algunas variedades pueden ser utilizadas en proceso de encurtidos y procesadas en jugos.

En nuestro país, el cultivo de pepino ocupa el tercer lugar de mayor importancia en la agricultura. En el ciclo agrícola 2005-2006 se exportaron aproximadamente 285,772 toneladas (USDA, 2006), con un ingreso de divisas de 156 millones de dólares para nuestro país. Además que esta hortaliza genera un gran número de empleos desde su siembra, producción y exportación.

Existen una variedad de factores que limitan la calidad y rendimiento del cultivo de pepino y dentro de estos, se encuentran las enfermedades. Entre las que destacan los causados por fitopatógenos que atacan el sistema radical. Al respecto, los nematodos constituyen un grupo de parásitos importantes que pueden reducir considerablemente la producción del cultivo y elevar los costos de producción durante su control.

Nematodos fitoparásitos

Los nematodos son organismos pluricelulares de cuerpo semitransparente y cilíndrico, con el diámetro de sus extremos generalmente reducidos. Poseen todos los sistemas fisiológicos de los animales superiores con excepción del sistema respiratorio y circulatorio. Algunas especies que viven en la tierra solo se alimentan de plantas superiores (nematodos fitoparásitos), otros afectan a insectos, a los animales domésticos y al hombre pudiendo causar serios problemas si no se controlan oportunamente (Yañez, 2001).

Morfología de nematodos

Son de una longitud de 0.02 a 1.0 mm y 0.05 mm de ancho. Su diámetro tan pequeño y coloración transparente hace que no puedan ser observados a simple vista, pero se pueden ver con facilidad en el microscopio. Su cuerpo cilíndrico y algunas ocasiones fusiforme, en forma de limón, redonda, reniforme u otra forma (Cepeda, 1996).

Pared del cuerpo. La pared corporal de los nematodos consiste en tres capas: la más externa o cutícula, la intermedia o hipodermis y la capa interna de músculos.

La cutícula. Es importante en su fisiología, es una estructura compleja que varía de un género a otro, y de los estados larvales a adultos. La cutícula realiza las siguientes funciones: a) Permeabilidad, b) Movimiento y c) Crecimiento.

Hipodermis. Inmediatamente abajo de la cutícula está la hipodermis, una capa de tejido celular que encierra el cuerpo. Estudios químicos han demostrado que la hipodermis se compone de grandes cantidades de glicógeno y lípidos.

Musculatura. Los nematodos tienen dos tipos de músculos: Somáticos, y especializados. (Nickle, 1991).

Sistema digestivo. El sistema digestivo es un tubo interno que inicia en la cavidad bucal y termina en el ano. Este se encuentra dividido en varias partes: este sistema inicia en la boca que es la parte anterior del nematodo, seguida por la cavidad bucal que se encuentra entre la boca y el esófago, el tamaño y forma depende de cada especie, constituyen características taxonómicas muy importantes. El estilete se encuentra dentro del sistema digestivo el cual constituye de un conducto denominado lumen, que sirve a los nematodos en la succión del alimento. Después del estilete y antes del intestino se presenta gran variación, no obstante, es frecuente observar que en los nematodos fitoparásitos se dividen en tres partes que son procorpus, bulbo medio y región glandular. La última parte del sistema digestivo corresponde al intestino, el cual posee forma de tubo y sus paredes están constituidas por una sola capa de células que se conectan con el lumen del intestino con la finalidad de absorber las sustancias nutritivas. La parte posterior del intestino se va reduciendo para formar el recto y desemboca en el ano (Bird, 1971).

Sistema nervioso. La principal parte del sistema nervioso consiste en una comisura, el anillo nervioso, el cual está compuesto principalmente de fibras y ganglios, cuya función principal es sensorial y motora (Cepeda, 1996).

Sistema reproductor. Por lo general, los nematodos presentan forma heterosexual, el macho es más pequeño que la hembra. Las gónadas de los dos sexos constan de uno o dos tubos cuya forma y longitud varían y son de gran utilidad taxonómica. En la mayoría de los nematodos fitoparásitos su reproducción es bisexual. Especies en las que hembras y machos aparecen aproximadamente en cantidades iguales, la reproducción se realiza por anfimixis o fertilización cruzada. Los nematodos también pueden desarrollarse por hermafroditismo, es decir, las especies hermafroditas tienen todas las características morfológicas de la hembra; la única diferencia es que la gónada produce tanto espermatogonios (espermias) como oogonios (huevos) (Pinto, 1985).

Sistema reproductor femenino. El sistema reproductor de la hembra consiste en: a) ovario o parte más distal, dividido en una zona germinal en donde se multiplican los

oogonios, y una zona de crecimiento de estos, b) oviducto, c) espermateca, d) útero, que se divide en una porción celular y una tubular, e) vagina, f) vulva o parte genital femenina.

Sistema reproductor masculino. El sistema reproductor del macho consta de:

a) testículo, b) vesícula seminal, c) vaso eferente, d) vaso deferente, e) conducto eyaculador, f) cloaca (Cepeda, 1996).

Huevo. Los huevecillos de los nematodos siempre despertaron el interés de los científicos; los zoólogos han puesto énfasis en su embriología, debido a que los huevecillos del nematodo tienen una hendidura. Los huevos contienen una cierta cantidad de sustancias nutritivas de reserva, como gotas de grasa o granulos de glucógeno; su cáscara tiene varias membranas. El cascarón del huevo está bien desarrollado en muchos nematodos parásitos, sirve como mecanismo protector para esta fase del ciclo evolutivo, es ovalado o redondo y está formado por tres cubiertas: capa de proteína, cascarón verdadero, membrana lipóide (vitelina) (Eisenback et al., 1983).

Ecología y distribución

El tipo, número y distribución de nematodos de los suelos agrícolas dependen del clima, suelo y otros factores locales. Para el caso de los nematodos fitoparásitos, su población estará determinada por el tipo de plantas susceptibles que han crecido en el suelo y por las medidas que se han ejercido para su control.

La mayoría de los nematodos que se alimentan de plantas viven al menos una parte de su vida en el suelo y se alimentan de las raíces y tallos subterráneos de las plantas, por lo que en cultivos anuales se encuentran en mayor abundancia en la capa comprendida entre los 0 y 30 cm de profundidad, pero también se han encontrado

desarrollándose a capas más profundas donde crecen las raíces de los cultivos. Las poblaciones de los nematodos no permanecen estacionadas; disminuyen cuando las condiciones existentes no favorecen la reproducción, y aumentan cuando existen raíces de plantas susceptibles que sirven para la alimentación y cuando la temperatura y humedad del suelo favorecen la actividad de los nematodos. En general, las especies fitoparásitas aumentan con gran rapidez pocas semanas después de haberse plantado el cultivo susceptible y las poblaciones alcanzan su máximo cuando el crecimiento de la raíz es más activo (Yañez, 2001).

Síntomas ocasionados por los nematodos

Los nematodos que infectan a las plantas producen síntomas tanto en las raíces como en los órganos aéreos de las plantas. Los síntomas de la raíz aparecen en forma de nudos, agallas o lesiones en ellas, ramificación excesiva de la raíz, puntas dañadas y pudriciones de la raíz cuando las infecciones por nematodos van acompañadas por bacterias y hongos saprofitos o fitopatógenos. Estos síntomas con frecuencia van acompañados por síntomas no característicos en los órganos aéreos de las plantas y que aparecen principalmente en forma de un menor crecimiento, síntomas de deficiencias de nutrientes como el amarillamiento del follaje, el marchitamiento excesivo en tiempo cálido o seco, una menor producción de las plantas y una baja calidad de sus productos.

Algunas especies de nematodos invaden los órganos aéreos de las plantas más que las raíces, y en ellos producen agallas, pudriciones y lesiones necróticas, retorcimiento o

deformación de las hojas y tallos y un desarrollo anormal de los verticilos florales (Yañez, 2001).

Clasificación de los nematodos

Todos los nematodos fitoparasitos pertenecen al Phylum Nematelminthes, la clase Nematoda. La mayoría de los géneros parásitos importantes pertenecen a la subclase Secernentea, orden *Tylenchida* (Cuadro 1) (Gaxiola, 2005).

Cuadro 1. Clasificación de los nematodos

Subclase	Orden	Superfamilia	Familia	Géneros
			Tylenchidae	<i>Anguina</i> , nematodo del trigo o de la agalla de la semilla. <i>Ditylenchus</i> , nematodo del tallo o bulbo de la alfalfa, cebolla, narciso, etc. <i>Tylenchorhynchus</i> , nematodo del achaparramiento del tabaco, maíz, algodón, etc.
			Hereroderidae	<i>Heterodera</i> , nematodo enquistado de la papa, tabaco, soya, remolacha, cereales, etc. <i>Meloidogyne</i>, nematodo del nudo de la raíz de casi todas las plantas de cultivo.
			Hoplolaimidae	<i>Helicotylenchus</i> y <i>Rotylenchus</i> , nematodos espirales de varias plantas. <i>Hoplolaimus</i> , nematodo lanza del maíz, caña de azúcar, algodón, alfalfa, etc. <i>Prototylenchus</i> , nematodo inductor de lesiones en los árboles y en casi todas las plantas de cultivo. <i>Radopholus</i> , nematodo perforador del plátano, cítricos, café, caña de azúcar, etc. <i>Rotylenchulus</i> , nematodo reniforme del algodón. <i>Belonolaimus</i> , nematodo picador de los cereales, leguminosas, cucurbitáceas, etc. <i>Dolichodoros</i> , nematodo lezna del apio, maíz, frijol, etc.
Secernentea	Tylenchida	Tylenchoidea	Tylenchulidae	<i>Tylenchulus</i> , nematodo de los cítricos, de la vid, olivo, lila, etc.
			Criconematidae	<i>Criconeema</i> y <i>Criconemoides</i> , nematodos anillo de plantas perennes leñosas, césped, encahuete, etc. <i>Paratylenchus</i> , nematodo alfiler de varias plantas. <i>Hemicycliophora</i> , nematodo de la vaina de varias plantas.
		Aphelenchoidea	Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides</i> , nematodo foliar del crisantemo, fresa, begonia, arroz, cocotero, etc.
			Thylencholaimidae	<i>Longidorus</i> , nematodo aguja de algunas plantas. <i>Xiphinema</i> , nematodo daga de árboles, enredaderas leñosas y de muchas plantas anuales
Adenophorea	Dorylaimida		Trichoderidae	<i>Trichoderus</i> , nematodo de la raíz en escobilla de las hortalizas y cultivos mayores.

El nematodo más importante en el mundo por el amplio rango de hospederos que ataca, así como por su gran adaptación a diferentes condiciones ambientales y por los grandes daños que causa a plantas cultivadas, es el nematodo agallador *Meloidogyne* spp.

Nematodos del nudo de la raíz: *Meloidogyne* spp.

Los machos adultos son vermiformes y miden aproximadamente de 1.2 a 1.5 mm de largo por 0.35 a 0.36 mm de diámetro. Las hembras tienen forma de pera y un tamaño aproximado de 0.40 a 1.30 mm, de largo por un ancho de 0.27 a 0.75 mm. Cada hembra deposita aproximadamente 500 huevecillos en una sustancia gelatinosa que ella misma produce (Cepeda, 1996).

Importancia del genero *Meloidogyne* spp.

El nematodo agallador *Meloidogyne* spp., es de distribución cosmopolita y el de mayor importancia económica por los daños que ocasiona en la horticultura. Se puede encontrar en regiones tropicales y subtropicales, Así mismo, en lugares con temperaturas muy bajas; su amplia distribución se debe a su gran capacidad evolutiva para adaptarse a condiciones desfavorables, a su gran poder de reproducción y a su diseminación (Agrios, 1999).

En México, el nematodo agallador de raíces se ha reportado en Guanajuato, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Sinaloa, México, Veracruz, Coahuila, Durango, Nuevo

León, Tamaulipas, Nayarit, Chiapas, Puebla, Sonora, Tlaxcala y Baja California (Sasser, 1977). El género *Meloidogyne* spp. afectan a plantas cultivadas y silvestres; actualmente se considera que casi todos los cultivos son susceptibles al ataque del nematodo. En Sinaloa se ha observado en los cultivos de tomate, chile, pepino, berenjena, frijol y calabaza, entre otros (Montes, 2000).

Biología del género *Meloidogyne* spp.

La biología y patogenicidad de *Meloidogyne* spp., es similar en todos los cultivos hortícolas antes mencionados. El ciclo de vida de los nematodos se divide en 6 etapas; huevecillo, cuatro estados juveniles y un adulto (Figura 1). El ciclo inicia con el desarrollo de la larva (J1), esta se desarrolla en el interior del huevecillo y después de sufrir la primera muda dentro de él se desarrolla la segunda etapa larvaria (J2), cuya presencia y estructura es comúnmente similar a los nematodos adultos, excepto por los órganos reproductivos y por la ausencia de aberturas genitales. El (J2) sale del huevecillo o cascaron a través de un orificio que se forma mediante repetidos pinchazos con el estilete en busca de las raíces para alimentarse, por lo que se le conoce como la única etapa infectiva del nematodo. En caso de que el hospedero susceptible se encuentre en sus alrededores, la larva penetra a la raíz, se vuelve sedentaria; inmediatamente después las sustancias que producen inducen la formación de células gigantes y multiplicación excesiva de las células, esto origina la formación de agallas. El nematodo sufre unas dos mudas mas dando origen a los estados (J3) y (J4). La tercera etapa larvaria sufre una tercera muda y se desarrolla la cuarta etapa larvaria, en la cual es posible distinguirlo ya como un individuo macho o hembra, el macho de la cuarta etapa larvaria tiene aspecto

de vermiforme y se enrolla dentro de la tercera cutícula en donde sufre la cuarta y última muda, emerge de la raíz ya como un macho adulto vermiforme el cual vive libremente en el suelo.

La hembra de la cuarta etapa larvaria continua aumentando de grosor y un poco mas de longitud, sufre la cuarta y última muda y se desarrolla en una hembra adulta, la cual tiene en forma de pera. La hembra adulta continua hinchándose y ya sea fecundada o no por un macho, forma huevecillos que deposita en una cubierta gelatinosa protectora.

Los huevecillos pueden ser dentro o fuera de los tejidos de la raíz, dependiendo de la posición que tenga la hembra, estos huevecillos pueden incubarse o inmediatamente invernar para incubarse en la primavera.

El ciclo de vida del nematodo concluye a los 25 días, pero tarda más tiempo dependiendo de las condiciones de temperaturas bajas o altas, cuando los huevecillos se incuban la segunda etapa larvaria infectiva puede emigrar del interior de las agallas hacia las partes adyacentes de la raíz e infectar a las demás raíces de la misma planta o de las otras plantas (Taylor y Passer, 1983).

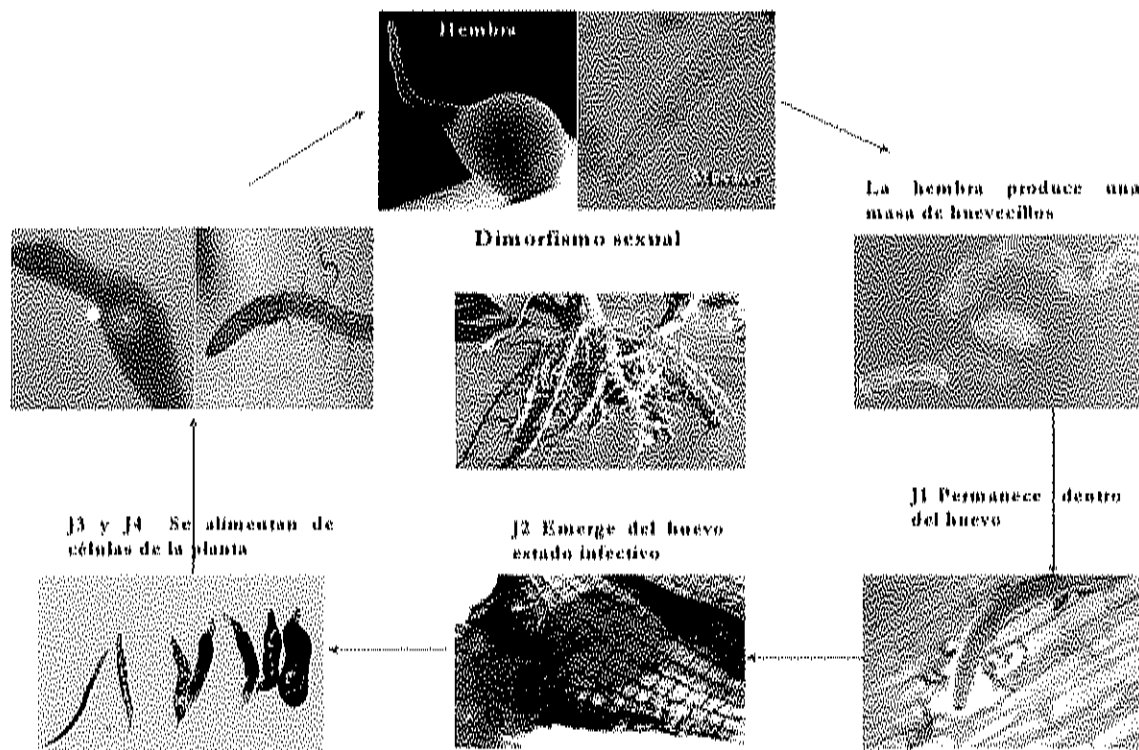


Figura 1. Ciclo biológico de *Meloidogyne incognita* (Taylor, 1983).

Síntomas ocasionados por *Meloidogyne* spp.

Los nematodos que infectan plantas producen síntomas tanto en las raíces como en los órganos aéreos de las plantas (Figura 2 a y b). El síntoma típico del sistema radical consiste en el engrosamiento y deformación de las raíces, al cual se le denomina "agallamiento", puntas dañadas y pudriciones de la raíz cuando las infecciones por nematodos van acompañadas por bacterias y hongos saprófitos o fitopatógenos. Estos síntomas con frecuencia van acompañados por síntomas no característicos en los órganos aéreos de las plantas y que aparecen principalmente en forma de un menor crecimiento, síntomas de deficiencias de nutrientes como el amarillamiento del follaje (clorosis), una menor producción de las plantas y una baja calidad de sus productos (Yañez, 2001).

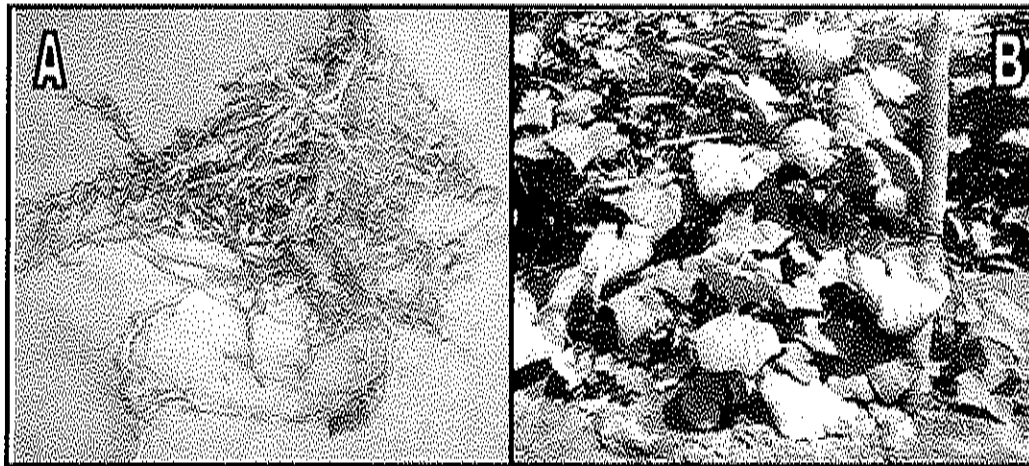


Figura 2. Principales síntomas causados por *Meloidogyne* spp. en pepino. A) Agallamiento de raíces de pepino. B) Síntomas en el follaje de pepino.

Factores que afectan a *Meloidogyne* spp.

Uno de los factores que influyen directamente en la ecología de los nematodos es la temperatura. Al respecto, se sabe que la temperatura óptima para el crecimiento y reproducción de *Meloidogyne incognita* es de 25-30°C, mientras que la mayor sobrevivencia de los huevecillos y juveniles está entre 10 y 15°C.

Por otro lado y para el caso del género *Meloidogyne* spp., hay evidencias de dos clases de masas de huevecillos (blancos y cafés), la presencia de una u otra depende del estrés ambiental, las masas de huevecillos blancos generalmente se forman cuando el hospedante está en desarrollo, para asegurar varias generaciones durante el ciclo del cultivo, dado que estos huevecillos eclosionan inmediatamente. En cambio, cuando el cultivo se acerca a su etapa final y/o factores ambientales afectan adversamente al hospedante, las hembras de *Meloidogyne* spp. producen masas de huevecillos de color café, que se caracterizan por entrar en una fase de reposo a pesar de que haya

excelentes condiciones para su desarrollo, situación que les permite asegurar su sobrevivencia para próximos ciclos (Yañez, 1996).

Debido a la gran importancia que tiene el género *Meloidogyne* spp. y a los severos daños que origina en los cultivos hortícolas de mayor importancia en nuestro país, existe un gran interés de buscar nuevos manejos para tratar de controlar a este patógeno. Entre las alternativas más estudiadas contra *Meloidogyne* spp. se encuentran los extractos vegetales y antagonistas como hongos.

Control de nematodos

Actualmente, la alternativa de control más comúnmente utilizada es el uso de productos químicos. Se han realizado varios estudios para observar la eficacia de estos productos. Román *et al.* (1976), evaluaron la eficacia de varios nematicidas en el control de nemátodos. Ellos encontraron que los nematicidas fenamiphos, carbofuran, oxamyl, alicarb y ethoprop, protegen a las plantas del ataque del nemátodo o evitan la reducción en el rendimiento siendo utilizados adecuadamente. Estos resultados fueron corroborados por Chavarría e Irizarry (1997), quienes reportaron resultados similares al evaluar dosis recomendadas en la etiqueta de los productos. El uso de nematicidas químicos ha ido mermando a consecuencia de la preocupación de los agricultores y la sociedad por los riesgos que éstos han ocasionado al ambiente y a la salud humana. Atendiendo estas preocupaciones han surgido estudios y nuevas estrategias para el manejo de organismos patógenos del suelo. Muchas de estas prácticas de manejo envuelven el uso de rotación de cultivo, cultivo intercalado, labranza mínima o cero labranza, uso de variedades

resistentes, selección de semillas, organismos antagonistas, enmiendas orgánicas y otras prácticas de conservación de suelos. Estas prácticas han sido utilizadas por los agricultores y actualmente se incluyen en todo programa de manejo integrado y agricultura sustentable. En la pasada década, el término agricultura sustentable se definió utilizando los conceptos de producción, manteniendo la preservación de la calidad del ambiente, conservando los recursos naturales y la diversidad biológica (McSorley y Porazinska, 2001). La controversia surgida por el uso indiscriminado de nematicidas y la creciente concienciación por el uso de las prácticas de agricultura sustentable, ha ocasionado un aumento en la reflexión de la sociedad lanzando un reto a los investigadores a buscar una solución a este problema. El control biológico es una alternativa de manejo de poblaciones de nemátodos a través de mecanismos tales como parasitismo, depredación, competencia y antibiosis. El control biológico es un método que ofrece ciertas ventajas al agricultor sobre otras prácticas que normalmente utilizan. El agente biocontrolador podría persistir por un largo período de tiempo y resurgir cuando la plaga aparezca nuevamente. El control biológico de los nemátodos fitoparasíticos, resulta un aporte importante al manejo de poblaciones ya que estos abundan en predios agrícolas y su erradicación es imposible. Otra alternativa al control químico es el uso de agentes biocontroladores como los hongos, bacterias, protozoarios, insectos y nemátodos depredadores (Jatala, 1986; Taylor y Sasser, 1983).

Los hongos antagonistas de nematodos son una gran variedad de organismos que incluyen los hongos depredadores o atrapadores de nematodos, hongos endoparásitos,

parásitos de huevos de nematodos, parásitos de quistes de nematodos y hongos que producen metabolitos tóxicos a nematodos (Mankau, 1980).

Stirling (1991), menciona que han sido numerosos los estudios realizados por más de 15 años que sugieren evidencia de que especies de hongos pertenecientes a los géneros de *Verticillium*, *Fusarium*, *Cylindrocarpon*, *Exophiala*, *Gliocladium*, *Paecilomyces* y *Phoma*, pero particularmente las especies de *V. chlamydosporium*, *F. solani*, *F. oxysporum* y *P. lilacinus*, regularmente colonizan quistes y huevos de nemátodos. Algunos de estos hongos nematófagos han dado muy buenos resultados en el control de nemátodos en diferentes cultivos en el ámbito mundial.

Estudios en varias partes del mundo, muestran que la mayoría de hongos atrapadores y endoparásitos son cosmopolitas. A continuación se da una revisión de hongos nematófagos; *Arthroborys irregularis*, *Globodera rostochiensis*, *Dactylaria candida* y el de mayor importancia *Paecilomyces lilacinus* (Cepeda, 1996).

Nematófago *Paecilomyces lilacinus*

El hongo *P. lilacinus* se ha desarrollado como una alternativa de control biológico o como un agente contra plantas parasitadas por nematodo. Los huevecillos de la cutícula nematodos son los sitios infectivos que el hongo penetra mediante la producción de enzimas. *Paecilomyces lilacinus* fue observado por primera vez en asociación con huevos de nemátodos por Lysek en 1976 (Stirling, 1991). Luego se encontró parasitando huevos de *M. incognita* en Perú en el 1979 (Jatala, 1986). Desde entonces este hongo ha sido asociado al nemátodo nodulador y al nemátodo del quiste (Stirling, 1991). Para determinar la eficiencia de *P. lilacinus* como agente de control biológico, comparándolo con medidas de control convencionalmente usadas, Jatala, 1980, realizó un experimento bajo condiciones de campo, en Perú: los tratamientos fueron: El hongo *P. lilacinus*, Temik 10 % G, Nema-cur 5 % G, materia orgánica y testigo. Las raíces y los tubérculos de la cosecha fueron examinados para ver la infección de *Meloidogyne incognita*. Los resultados indicaron que las plantas que crecieron en lotes inoculados con el hongo, tenían un menor índice de agallamiento que las de los lotes con materia orgánica o nematicidas. Se observó que el 68 % de la masa de huevos quedó infectada con el tratamiento a base de *P. lilacinus*.

Características de *Paecilomyces lilacinus*

El género *Paecilomyces* presenta hifas hialinas a amarillosas, septadas, de paredes delgadas. La mayoría presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides, las cuales pueden ser también

solitarias. Las fiálides constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio (Figura 3 A). Los conidióforos llevan cadenas de conidias; éstas son hialinas, unicelulares y de forma ovoide (Figura 3 B) (Bustillo 2001).

Las infecciones causadas por *P. fumosoroseus* se reconocen por el color rosado pálido mientras que en *P. lilacinus* son de color violeta claro. La especie más importante del género en control de nematodos es *Paecilomyces lilacinus* (Bustillo 2001).

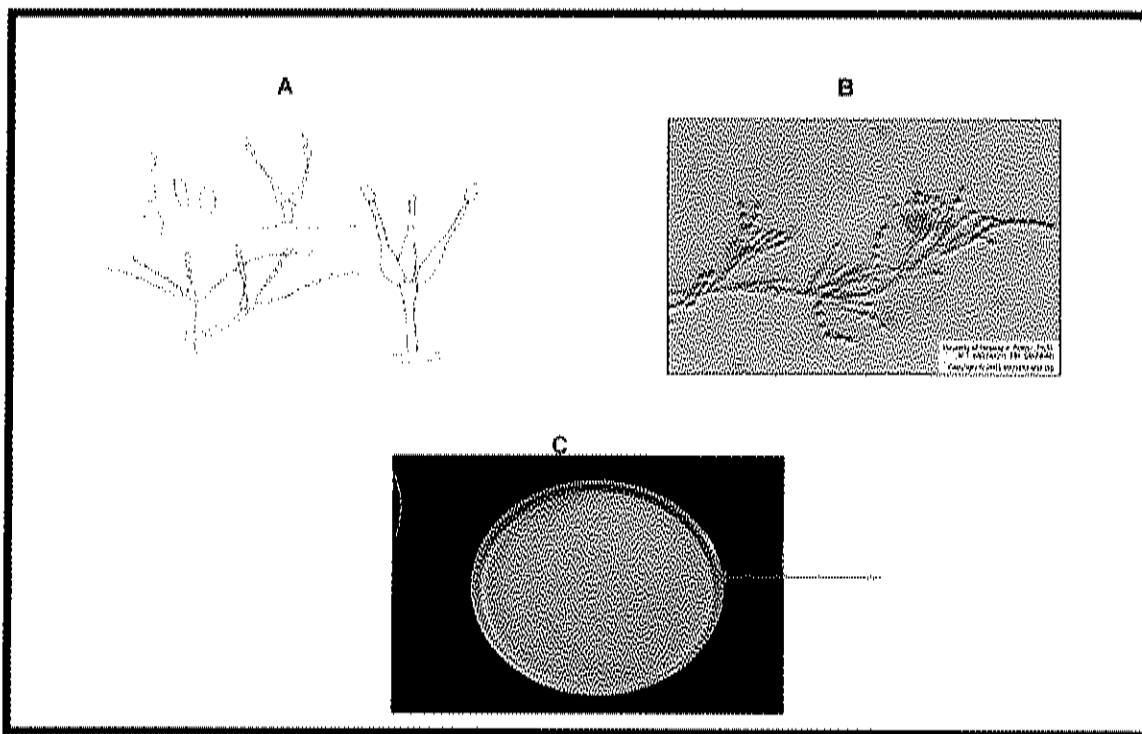


Figura 3. Características microscópicas y macroscópicas de *Paecilomyces* spp. A). Esquema de conidióforos y conidias de *Paecilomyces* spp B). Microfotografía de conidióforos y conidias de *Paecilomyces lilacinus* C). Morfología de las colonias de *Paecilomyces lilacinus*.

Mecanismo de acción de *Paecilomyces lilacinus*

El desarrollo del hongo puede estar dividido en tres fases: (1) adhesión y germinación de la espora en la cutícula del hospedero, (2) penetración y (3) desarrollo del hongo. Lo cual generalmente resulta en la muerte del hospedero.

El hongo coloniza la rizosfera y cuando entra en contacto con plantas parasitadas por nematodos. El primer contacto que hace la espora con la superficie del hospedero es por la cutícula (Tanada and Kaya 1993).

Los huevecillos de los nematodos y hembras están compuestas por tres paredes: vitalina, quitina y pared de lipoproteínas (la capa de vitalina está compuesta de proteínas). Después se produce un tubo germinativo y un apresorio, con éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del nematodo. En la penetración participa un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula (Morton *et al.*, 2004). El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales causan degradación del tejido en la zona de penetración, lo que facilita la penetración física (Monzón 2001).

Gillespie (1988), reportó que los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Paecilomyces* spp. y *V. lecanii*, producen grandes cantidades de proteasas y quitinasas en medios de cultivo líquido. Khan *et al* (2003), encontró que la evidencia de *P. lilacinus* en

la degradación de las estructuras de los nematodos. Demostró la producción de enzimas líticas como proteasas y quitinasas cuando este estuvo expuesto con nematodos. Las proteasas y quitinasas son de gran importancia en la degradación de este hongo.

La quitina beta-1,4- ligada al polímero de N-acetilglucosamina es el segundo polímero natural más abundante y el principal componente estructural de huevecillos de nematodos. *Paecilomyces lilacinus* produce la cantidad más grande de quitinasa para degradar la pared celular. Así mismo, se ha reportado que no existen evidencias que indiquen la producción de toxinas por *P. lilacinus*. El hongo crece en el interior de la masa de huevecillos del nematodo agallador y hembras, infectando hembras inmaduras que pueden reducir la fecundación. Después de muerto el hospedero, el hongos emergen al exterior a través de la cutícula y esporulan sobre el cadáver produciendo inóculo para infectar a otros patógenos (Tanada y Kaya 1993).

Antecedentes de *Paecilomyces lilacinus* en control de *Meloidogyne* spp.

Morgan-Jones *et al.* (1984), evaluaron *in vitro* la capacidad de parasitismo de una cepa de *P. lilacinus* sobre *Meloidogyne arenaria*; observaron que las hifas del hongo penetraron los huevecillos del nematodo a través de minúsculos poros formados por disolución de la capa vitelina. Una vez dentro del huevo, las hifas al dilatarse comprimen las capas de quitina y lípidos, invaden el huevo e inclusive a las larvas en desarrollo, cuyas cutículas disuelven. Después las hifas emergen produciendo conidióforos con conidios en cadena.

Posteriormente Jatala (1985), investigó las propiedades de *P. lilacinus* y descubrió que es un hongo que ofrece grandes ventajas como agente de control biológico contra *Meloidogyne* spp., debido a su gran adaptabilidad a diferentes tipos de suelo y que cuenta con un alto potencial parasítico. También reporta que durante varios años se ha investigado que *P. lilacinus* parasita huevecillos y hembras de nemátodos, causando deformaciones, destrucción de ovarios y limitando la eclosión de huevos; a la vez se ha comprobado que en condiciones de pH ligeramente ácido, produce toxinas que afectan el sistema nervioso.

En Puerto Rico, Dávila *et al.* (1999), identificaron microorganismos con capacidad quitinolítica y los clasificaron como posibles controladores biológicos del nemátodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Ellos aislaron dos especies de *Paecilomyces* (*P. lilacinus* y *P. marquandii*), además de otros hongos. Ambas especies han sido reportadas como enemigos naturales de nemátodos.

Khan y Saxena (1997), establecieron que *P. lilacinus* controla efectivamente a *M. javanica* en la India, parasitando hembras y huevos. Además, encontraron que la habilidad de *P. lilacinus* en el control del nemátodo aumenta cuando este se integra a un material orgánico.

Lara-Martes *et al.* en 1996 realizaron un estudio de campo para demostrar la eficacia de *P. lilacinus* en el control biológico del nemátodo nodulador y su rentabilidad en el tomate. El estudio reveló que *P. lilacinus* redujo las poblaciones de

Meloidogyne spp. en el suelo y en las raíces, parasitó los huevos del nemátodo, disminuyó la nodulación radical e incrementó los rendimientos y los beneficios económicos en el cultivo. En condiciones de invernadero, *P. lilacinus* redujo la población de *Rotylenchulus reniformis* en 63% usando 5 gramos de sustrato de arroz colonizado (Walters y Barker, 1994). La aplicación de *P. lilacinus*, semanas antes de la siembra del pimiento, redujo la población de *R. reniformis* y *M. incognita*, aumentó el rendimiento sin presentar diferencias significativas al compararlo con el tratamiento químico (Vicente y Acosta, 1992).

Paecilomyces lilacinus actúa como un buen colonizador de raíz y competidor de la rizósfera (Chen et al., 2000 b). Se ha comprobado que el pH del suelo está relacionado al efecto de las actividades tóxicas que tienen los hongos en las etapas juveniles de los nemátodos. Chen et al. (2000 b), observaron la viabilidad de *Heterodera* sp. cuando se expone a hongos. Estos investigadores informan que una alta producción de la toxina del hongo ocurre a niveles bajos de pH (ácido), afectando las etapas juveniles de los nemátodos. Sin embargo, se determinó que el pH no tuvo efecto en la actividad nematicida de *P. lilacinus*.

Otra alternativa para el control de nemátodos es el uso de diversos materiales a base de extractos vegetales. En la naturaleza existe una gama muy amplia de plantas que producen una diversidad de metabolitos secundarios tóxicos, tal característica les permite a estas plantas actuar como antagonistas de patógenos bióticos y plagas. Su potencial antagonista lo podemos explotar al asociarlas con los cultivos o al incorporar sus residuos

al suelo. Otra forma de aprovechar dicho antagonismo es mediante la preparación de extractos o infusiones a partir de sus tejidos (García y Montes, 1992).

En años recientes, se han estudiado los efectos benéficos de ciertos tipos de plantas incorporada al suelo, se ha obtenido un decremento en las densidades poblacionales cuando son utilizados para control de nematodos parásitos de plantas. Existe una gran diversidad de plantas que se están estudiado para determinar si sus componentes químicos presentes en ellas poseen actividad nematicida. Dentro de estas, se encuentran especies que pertenecen a la familia Meliaceae, por ejemplo el árbol del Neem (*Azadirachta indica* A.Juss) (Mohammad, 2000).

Árbol de neem (*Azadirachta indica* A. Juss)

El árbol de neem fue conocido en Asia varios años atrás, pero hace aproximadamente casi 30 años que esta siendo explotado. Las propiedades medicinales tanto en hojas, frutos, corteza y la semilla del árbol de neem (Fig. 4), se ubican en el aceite el cual se utiliza como antiséptico, antimicrobial, control de bronquitis, enfermedades de la piel, cáncer, y enfermedades virales, entre otras (Mohammad, 2000).

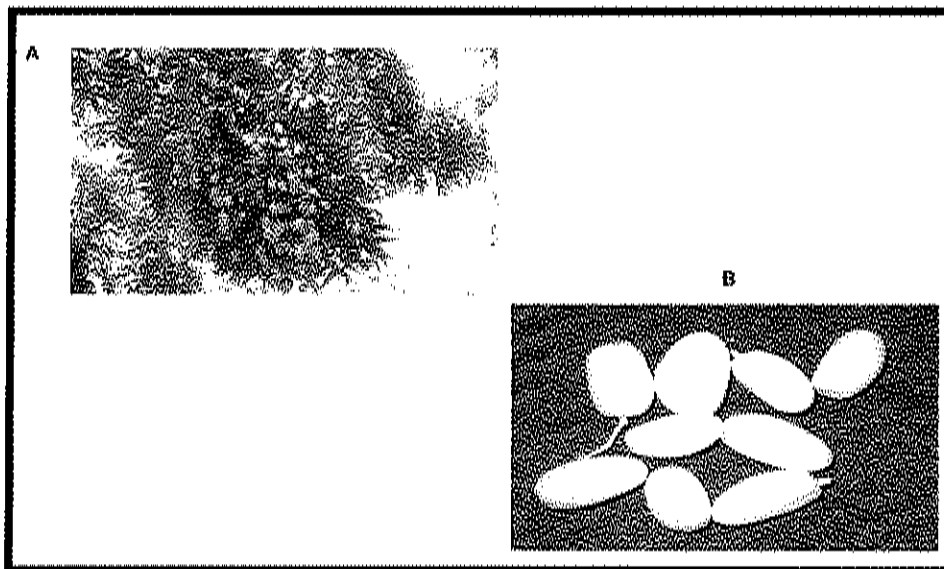


Figura 4. A) Árbol de neem y B) semillas de neem.

La mayoría de los estudios sobre la composición química del neem están enfocados al aceite extraído de la semilla. Se reportan que se han aislado y caracterizado más de 300 compuestos de la semilla, de los cuales la tercera parte corresponde a los limonoides también llamados tetranortriterpenoides, usualmente se definen como triterpenos derivados en los cuales se han perdido cuatro átomos de carbono de la cadena lateral y el resto se cicliza en un anillo de furano. Son componentes importantes en el germen de la semilla del árbol del neem y son responsables de las propiedades medicinales, pesticidas y antimicrobianas de la planta del neem (Mancebo *et al.*, 2002).

En épocas recientes surgió el interés en este árbol debido a su actividad biológica contra un amplio número de insectos, patógenos, bacterias, hongos y nematodos. Esta actividad se atribuye a la presencia de un gran número de componentes activos conocidos como limonoides (Saxena, 1989).

Hasta ahora, al menos nueve limonoides han demostrado una habilidad para estos patógenos. Ellos son la azadiractina, salannina, melantriol y nimbina, considerados como los más conocidos y más significativos (Kumar *et al.*, 2003).

El interés para conocer las propiedades nematocidas del neem se ha incrementado en recientes años, debido que representa una alternativa para agricultura moderna, ya que evita la contaminación por agroquímicos.

Existen numerosas investigaciones que han demostrado el poder nematocida de varias partes que tiene el árbol de neem cuando son incorporados al suelo o tratamiento de semilla. Varios productos preparados de semillas o hojas de neem, como aceites y pasta han sido reportados como fuertes protectores contra nematodos en cultivos y tratamiento a la semilla (Mohammad, 2000).

Los efectos que tienen los extractos a base de neem sobre el nematodo se deben a que dentro de ellos se encuentran compuestos limonoides y fracciones de aceites que causan mortalidad del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* y la inhibición de la eclosión de los huevecillos (Devakumar *et al.*, 1985).

Los componentes nematotoxicos del árbol de neem son las azadiractinas que son expuestas con la volatilización, exudación y descomposición cuando son incorporados al suelo (Mohammad, 2000).

El modo de acción de este compuesto es muy complejo y su mecanismo sobre el nematodo está siendo ampliamente investigado. En la actualidad numerosos estudios demuestran la actividad antialimentaria, inhibición de crecimiento, inhibición de oviposición (Koul *et al.*, 1990).

Prot y Kornprobst (1993), reportaron que los principales efectos tóxicos ocurren en la fracción de extractos de semilla de neem, los cuales inhiben la penetración del nematodo agallador en las raíces de tomate. Las toxinas causan la muerte del patógeno debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido (Ferrón 1981).

Zebitz (1986), reportó que el aceite de neem incorporado al suelo disminuye la población del nematodo agallador y reduce la producción de huvecillos en el cultivo de tomate en invernadero. Así mismo, Alam (1996), reportó el efecto nematocida de la extracción de las hojas a base del árbol de neem contra *Meloidogyne incognita*, en el cultivo de tomate.

La eficacia de la materia orgánica en el manejo de nemátodos fitoparásitos depende de diferentes factores, además de la especie del nemátodo, la composición química de la enmienda y otros organismos en el suelo responsables de degradar la enmienda (McSorley y Gallahear, 1996; Stirling, 1991). Sin embargo, el mecanismo de acción puede suceder por la liberación de compuestos nematocidas o nematostáticos y/o

fomentando el desarrollo de organismos antagonistas del nematodo (Rodríguez-Kábana, 1991).

Pandey (2000), realizó experimentos en condiciones de invernaderos con el fin de determinar la influencia de tres materiales orgánicos y dos nematicidas sobre la reproducción de *Meloidogyne incognita* y el rendimiento de *Mentha arvensis*. La máxima reducción de poblaciones de *M. incognita* se alcanzó cuando el suelo fue tratado con torta de neem, seguido por hojas en polvo de *A. vasica*, *M. koenigii*, aldicarb, carbofuran y bavistin. Resultados similares se registraron para el peso seco de raíces y brotes. Se observó síntomas de fitotoxicidad a la más altas dosis de torta de neem.

Gaxiola (2005), estudió la evaluación de los extractos de semillas de venadillo y neem al 1%. Los tratamientos de neem acetona y neem agua inmovilizaron más del 80% de larvas de *Meloidogyne sp.* Siendo más efectivo el neem acetona, provocando un 100% de mortalidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. 1999.** Fitopatología. 2ª Edición. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México. pp. 278-320.
- Alam, M.M., Ahmad, M. and Khan, A.M. 1980.** Effect of organic amendments on the growth and chemical composition of tomato, eggplant and chilli and their susceptibility to attack by *Meloidogyne incognita*. *Plant Soil* 57: 231-6.
- Araya, M. y A. Cheves. 1997.** Efecto de cuatro nematocidas sobre el control de nematodos en banano Corbana 22(47):35-48
- Baker, K. R. 1994.** Plant and soil nematodos: Societal impactand focus future. *Journal of Nematology*. 26 (2): 127-137.
- Bird, A. 1971.** The estructure of nematodes, Academia press, Nueva Cork, Pp 45-67.
- Byrd, D. W., Nusbaum, C. J. and Barrer 1972.** A method the estimating numbers of eggs of *Meloidogyne* spp. in soil. *J. Nematol.* 4: 266-299.
- Bustillo, A. 2001.** Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. En: seminario Uso de entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de entomología. Bogotá, pg. 30-53
- Chavarría, J and Irizarry, H. 1997.** Rates, application intervals and rotation of four granular pesticide to control nematode and the corm-weevil (*Cosmopolittas sordidus* Germar) in plantain. *J. Agric. Univ. P.R.* 81(1-2):43-52.
- Cepeda, S. M. 1996.** Nematología Agrícola. Primera Edicion. Editorial Trillas, Mexico. pp. 10-65.

Coolen, W.A and D'herde, C.J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *Misc. Agric. Ghent* .Belgium.

Chen, S.Y., Abawi, G.S. and B. M. Zuckerman, B.M. 2000 a. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii* y *Streptomyces costaricanus* with and without organic amendments against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. *Journal of Nematology*. 32(1):70-77.

Chen, S.Y., Dickson D.W. and Mitchell, D.J. 2000 b. Viability of *Heterodera glycines* exposed to fungal filtrates. *Journal of Nematology* 32(2):190-197

Dávila, M., N. Acosta, C. Betancourt y J. Negrón. 1999. Capacidad quitinolítica de hongos aislados de suelos agrícolas infestados con el nemátodo nodulador (*Meloidogyne* spp.) en Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 83(3-4): 189-199.

Devakumar, C., Goswami, B.K., and Mukerjee, S.K. 1985. Nematicidal principles from neem (*Azadirachta indica* A. Juss). Part 1 – Screening of neem kernel fractions against *Meloidogyne incognita*. *Indian J. Nematol.* 15, 121–4.

Dunn, M. T., y Cols. 1989. "Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* as observed with scanning electron microscope", *Scanning Electron Microsc.*, 3, págs. 1351-1358.

Eisenback, J. D; Sasser, J. N., and Triantaphyllou, A.C. 1981. A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) with a pictorial key A Coop. pub. depts.. Plant Pathol. and Genetics and U.S.

Fuente USDA. 2006. Mexico fruit and vegetable crossing report/CNPH.

- Ferron, P. 1981.** Pest Control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: Burges, H. ed. Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic Press, New York, p.465-482.
- García L., R. y Montes B. A. 1992.** Efecto de extractos vegetales en la germinación de esporas y en los niveles de daño de *Alternaria solani* en jitomate. In: Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. pp. 159.
- Gaxiola, A. J. 2005.** Actividad biológica de extractos de NET (*Azadirachta indica* A. J) y venadillo (*Swietenia humillis* Zucc) contra el nematodo nodulador de la raíz (*Meloidogyne* spp.) en pepino. Tesis de licenciatura Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agronomía. pp. 25-28.
- Gillispie, A. 1988.** Use of fungi to control pest of agricultural importance. In: Burge, M. (Ed) Fungi in biological control systems. Manchester University Press, Manchester, England. 269 p.
- Godoy, A.T. y Yañez, J. M. 1999, 2000.** Comportamiento de *Meloidyge* sp. en el cultivo de pepino tratada la semilla con oxamil. Resumen del XXVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. pp 51.
- Gomez, E., Alvarez, R., Zayas, M. Y Cruz, X. 2004.** Efectividad biológica del nemacid contra *Meloidogyne incognita*. Instituto Nacional de Investigaciones en la Agricultura. Ciudad de la Habana. Ascolfi informa vol 30:6.
- Gowen, S. 1995.** Pests. Bananas and Plantain. Chapman y Hall, London Press. Pp 382-40
- Guevara, M. 2006.** Nematodos: Alternatives of controls. National Sustainable Agriculture Specialist.

- Jatala, P. 1980.** "Biological control of *Meloidogyne incognita*, *acrita* and *Globodera pallida* on potatoes", *J. Nematol.*, **11**, pág. 303.
- Jatala, P. 1986.** "Biological control of nematodes", en *An advanced treatise on Meloidogyne*, Vol. 1, J. N. Sasser y C. C. Carter (eds.), North Carolina St. Univ. Graphics, Raleigh, Carolina del Norte, Estados Unidos, págs. 303-308.
- Jatala, P. 1985.** Biological control of plant-parasitic nematodes. *Ann. Rev. Phytopathol* 24(4):453-89.
- Khan, T.A. and Saxena, S.K. 1997.** Integrated management of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* infected tomato using organic materials and *Paecilomyces lilacinus*. *Bioresource Technology*.61:247-250.
- Khan, H. U., Ahmand, H., Ahmed, R.W. Khan, S.M. and Khan, M.A. 2001.** Evaluation of the combined effect of *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against root-knot disease of tomato. *Journal of Biological Sciences*. 1(3):139-142.
- Koul, O., Isman, M.B. and Ketkar, C.M.1990.** Properties and uses of neem *Azadirachta indica*. *Phytochemistry*. 43 (2): 451-455.
- Kumar, A.R.V., Jayadevi, H.C., Ashoka, H.J., and Chandrashekara, K. 2003.** Azadirachtin use efficiency in commercial neem formulations. *Current Scienc.* 84:1459-1464.
- Lara-Martes, J., N. Acosta y N. Vicente. 1993.** Exoesqueleto de camarón para controlar el nemátodo nodulador, *Meloidogyne incognita*, en tomate en el invernadero. *J. Agric. Univ. P.R.* 77(3-4): 229-236.

- Lamberti, F., Ekanayaken, H., Zacheo, F and Abeykroon, M. 1980.** Yield response of tomatoes to nematicidal treatments in soil infested by *M. javanica* in Sri Lanka. *Nematology Medit.*, Vol : 8 pp. 131-135.
- Kimpinski, J. and Welch, F. 1971.** Comparasion of Baerman funnel and sugar flotation extraction from compacted and non-compacted soils. *Nematologica*.17:319-320.
- Mancebo, F., Hille, L., Mora, A and Salazar, R. 2002.** Biological activity of two Neem (*Azadirachta indica* A. Juss, Meliaceae) products en *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: pyralidae) larvae. *Crop Protection* 21:107-112.
- Mankau, R. 1980.** "Biological control of nematode pest by natural enemiges", *Ann. Rev. Phytopatol*, 18: pp. 415-440.
- Maroto, J.V. 2000.** Horticultura herbácea especial. Quinta edición. Ediciones Mundi-prensa Madrid Barcelona, Mexico. pp. 510-555.
- McSorley, R and Gallahear, R. M. 1996.** Effect of yard waste compost on nematode densities and maize yield. *Supplement to Journal of Nematology* 28:655-660.
- McSorley, R and Gallahear R. M. 1993.** Correlation of nematode density and nutrient uptake on five crops. *Soil Crop Sci. Soc. Florida*. 52:44-49.
- Mohammad, A. 2000.** Nematicidal potencial of neem tree *Azadrachta indica* (A. Juss). *Integrated pest Management Reviews* 5: 57-56.
- Monzon, A. 2001.** Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. Sociedad mexicana de fitopatología. (63): 95-103 .

- Montiel, A., D. Romero, F. Valhucna y C. Castro. 1995.** Efecto antagónico de diferentes especies vegetales sobre poblaciones de *Meloidogyne* spp. en cultivo de guayaba (*Psidium guajava*) en Venezuela. *Nematropica* 25(2):25.
- Morgan-Jones, G and Rodríguez-Káb ana, R.1985.** Phytonematode pathology: Fungal mode action. A perspective. *Nematropica*. 15:107-113.
- Morton, C. A., Hirsch, R. P and Kerry, B. R. 2004.** Infection of plant-parasitic nematodos by nematophagous fungia a review of the application of molecular biology to undertand infection processes and to improve biological control. *Nematology* . 6(2) 161-170.
- Nickle, W. R. 1991.** Manual of agricultural nematology. United States department of agriculture Beltsville, Maryland.
- Prot. J.C. and Kornprobst, J. M. 1983.** Effect of *Azadirachta indica*, *Hannoa undulata* and *Honnoa klainana* seeds extract on the ability of *Meloidogyne javanica* juveniles to penetrate tomato roots. *Revue Nematol.* 6:330-2.
- Pinto, B. 1985.** Fitopatología tropical, Universidad de Puerto Rico, pp. 9-12.
- Saser, J. N. 1997.** Worwide dissemination and importante of the root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) *Journal of Nematology*.
- Saxena, R. C. 1989.** Insecticides from neem. In J.T. Arnason, B.J.R. Philogene and P. Morand (eds) *Insecticides of Plant Origin*, Washington: American Chemical Society. pp. 110-35.
- Stirling, G. R. 1991.** Biological Control of plant parasitic nematodes progress, problems and prospect. C.A.B. International, Wallingford UK. 1-282 pp.

Tanada, A and Kaya, H. 1993. Insect Pathology. Academic Press. San Diego, California. (USA). 666 p.

Taylor, A. and Sasser, J. 1983. Biología, identificación y control de los nemátodos de nódulos de la raíz. Artes gráficas de la Univ. del estado de Carolina del Norte. pp.111.

Thomason, I. J. 1987. Challenges facing nematology: enviromental risks with nematicides and the need for new approaches. En: J. A. Veech and D.W. Dickson (eds.) Vistas on nematology, Published by Society of Nematologist, Hyattsville, Maryland. pp. 469-476.

Vicente, N. E and Acosta, N 1992. Biological control of nematodes in *Capiscum annum* L. J. Agri. Univ. P.R. 76(3-4):171-176.

Yañez, J. M. 2001. Nematodos fitoparásitos Diplomado en actualización agronómica Culiacan Sinaloa México 1-25.

Walters, A. S and Barker, K.R. 1994. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* in suppressing *Rotylenchus reniformis* on tomato. Journal of Nematology. 26 (45):600-605.

**CONTROL BIOLÓGICO DE *Meloidogyne incognita* Chitwood, CON
EXTRACTOS DE NEEM Y *Paecilomyces lilacinus* EN EL CULTIVO
DE PEPINO.**

Félix-Zazueta Domingo*, García Estrada Raymundo Saúl, Carrillo Fasio José Armando,
Angulo Escalante Miguel Ángel y Valdez Torres José Benigno., Centro de Investigación
en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa.

*¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa, México
80129 AP32-A.*

Palabras clave: nematodos, control biológico, pepino

* Autor para correspondencia. domingofelix@ciad.edu.mx

RESUMEN

Se realizaron 2 experimentos en invernadero en las instalaciones del CIAD, con el objetivo de evaluar a *Paecilomyces lilacinus* (1×10^7 conidios / mL), aceite y torta de neem (al 4 , 10 y 20%) en el manejo de *Meloidogyne incognita* en cultivo de pepino. En el experimento 1 se observó un mayor incremento de peso de follaje y raíz en plantas donde se obtuvo una mayor efectividad, los porcentajes de severidad de agallamiento causado por *M. incognita*, en los tratamientos con *P. lilacinus*, aceite de neem y torta de neem fueron de 28, 46 y 58 % respectivamente. Lo que equivale a una efectividad en *P. lilacinus* del 62%, el aceite de neem 41% y torta de neem con 29%. Resultados similares se observaron en el experimento 2 donde se evaluaron los 2 tratamientos más efectivos del experimento 1. Existió un mayor incremento en follaje y peso de plantas de pepino, en el caso del porcentaje de severidad de agallamiento en *P. lilacinus* fue de 26% y en aceite de neem un 33%. Se determinó una efectividad biológica en *P. lilacinus* mostró un 67% y en aceite de neem un 58%. En las dosis altas de torta de neem (al 10% y 20%), se observó síntomas de fitotoxicidad causando la muerte de plantas. Los resultados obtenidos demostraron que *P. lilacinus* fue el tratamiento que ejerció un mejor control.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades causadas por nematodos reducen la producción y calidad de las hortalizas a nivel mundial y son consideradas de gran importancia en diferentes cultivos. La especie del género *Meloidogyne* spp. se considera una de las más importante y se

caracteriza por provocar la formación de nódulos en raíces (Ramos *et al.*, 2000). Las especies más comunes a nivel mundial y en México son: *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* y *M. hapla* (Cepeda, 1996). Actualmente este tipo de nematodos se han encontrado atacando a diversos cultivos como son: tomate, chile, melón y pepino entre otros, disminuyendo hasta el 19.7% al rendimiento en los cultivos mencionados (Baker, 1994).

Las prácticas recomendadas para eliminar o disminuir las poblaciones de nematodos en los cultivos están basadas en la utilización de métodos químicos, físicos, genéticos, culturales y biológicos (Noling, 2005). El uso de nematocidas químicos es considerado una excelente alternativa para el control de nematodos por ejemplo, oxamyl (Vydate L.), ethoprop (Mocap 10G) y fenamiphos (Nemacur 15G). Sin embargo, éstos representan una amenaza para el agroecosistema (Thomason, 1987).

Debido a los inconvenientes que tiene el uso de productos químicos como estrategia de control, es importante desarrollar un programa de control enfocado a una agricultura sustentable y de esta manera contribuir a la conservación del ambiente. El control biológico se presenta como una alternativa potencial y libre de riesgo frente a los numerosos y crecientes problemas derivados del uso de plaguicidas. Las pérdidas económicas que generan los nemátodos fitoparasíticos a las hortalizas, justifican la continua búsqueda de nuevas alternativas de control para mejorar su productividad.

El hongo *Paeclomyces lilacinus* se ha desarrollado como un agente de control biológico contra nematodos que parasitan plantas cultivadas. Morgan-Jones *et al.* (1984), evaluaron *in vitro*, la capacidad de parasitismo de una cepa de *P. lilacinus* sobre *M. arenaria*. Observaron que las hifas del hongo penetraron a los huevecillos del nematodo a través de poros minúsculos formados por disolución de la capa vitelina. Una vez dentro del huevo, las hifas comprimieron las capas de quitina y lípidos e invadieron los huevecillos y larvas en desarrollo.

Otra alternativa para el control de nemátodos es el uso materiales de extractos vegetales. En la naturaleza existe una gama muy amplia de plantas que producen una diversidad de metabolitos secundarios tóxicos, dentro de éstas se encuentran especies que pertenecen a la familia *Meliaceae*, por ejemplo: el árbol del neem (*Azadirachta indica* A. Juss) (Mohammad, 2000). Numerosas investigaciones han demostrado el poder nematocida de varias partes del árbol de neem cuando son incorporados al suelo o tratamiento a la semilla (Salawu, 1992; Kethar, 1984; Mukhtar *et al.*, 1994). Varios productos preparados de semillas u hojas de neem son formulados como aceites y pastas. Han sido reportados como fuertes protectores contra nematodos en cultivos y en tratamientos a la semilla (Mohammad, 2000). Los componentes nematotoxicos del árbol de neem son las azadiractinas; que son liberados por la volatilización, exudación y descomposición cuando son incorporados al suelo (Mohammad, 2000). El modo de acción de estos compuestos es muy complejo y su mecanismo sobre el nematodo está siendo ampliamente investigado. En la actualidad se ha demostrado la actividad antialimentaria, inhibición de crecimiento e inhibición de oviposición (Koul *et al.*, 1990).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la efectividad sobre la inhibición de la nodulación en condiciones de invernadero del hongo *Paecilomyces lilacinus*, aceite y pasta de neem, para el control de *Meloidogyne incognita*, en el cultivo de pepino.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de Fitopatología e invernadero tipo casa sombra del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Unidad Culiacán. La evaluación de los tratamientos se realizó en dos experimentos.

Colecta de material infectado

Se muestrearon raíces de plantas de tomate con severos daños de nodulación provocadas por el ataque de *Meloidogyne* spp. Se tomaron raíces con daños de agallamiento. Se colocaron en bolsas de plástico y fueron trasladadas laboratorio de Fitopatología del CIAD. Para la identificación de la especie se utilizaron cortes perineales en hembras adultas (Sasser *et al.*, 1987).

Preparación de modelos perineales

De las raíces colectadas se extrajeron hembras adultas de nematodos. Posteriormente se realizaron cortes en la región posterior, de tal manera que solo se

trabajó con trozos cuadrados de cutícula sin restos de órganos internos adheridos al patrón perineal. Los cortes se colocaron en un porta objetos añadiéndole una gota de lactofenol y se selló con un cubre objeto. Estas muestras fueron analizadas en un microscopio biológico compuesto con el apoyo de las claves pictóricas para la identificación de diferentes especies de *Meloidogyne* spp.(Sasser *et al.*, 1987).

Extracción y cuantificación de huevecillos de *Meloidogyne incognita*

Las raíces de tomate previamente lavadas, se fragmentaron con unas tijeras y el material se licuó durante 10 segundos. Se pasaron por diferentes tamices de 100, 200 y 500 mallas/pulgada² respectivamente. Los huevecillos de J1 se quedaron en la solución, las cuales fueron utilizados como inóculo. Para la cuantificación del inóculo, se agregó un 1 mL de la extracción de huevecillos en un tubo de ensayo con 9 mL de agua destilada. Se homogenizó en un vortex y se determinó la población de huevecillos por medio de una cámara de conteo de Neubauer. Para ello, se tomó una alícuota de la suspensión que fue agregada en la cámara de Neubauer, se colocó el cubre objetos y se cuantificó la población de huevecillos. Finalmente se realizó la sumatoria de los campos como a continuación se indica: Sumatoria de los cuatro cuadrantes de las esquinas y el central (A, B, C, D, y E) x 2000. Donde A, B, C, D y E son los cuadrantes de la cámara de Neubauer. El resultado final fue considerado como la cantidad de huevecillos que se tienen en 1mL. Antes de realizar la inoculación en las macetas, se cuantificó la población deseada de huevecillos por 1 mL (5×10^3).

Cuantificación de esporas de *P. lilacinus*.

Se determinó la población de esporas por medio de la cámara de conteo de Neubauer, siguiendo la metodología señalada anteriormente en la cuantificación de huevecillos.

Establecimiento del experimento I y II

El neem líquido y la pasta de neem fueron formulados por el laboratorio de Toxicología del CIAD. El hongo *P. lilacinus* se obtuvo de una cepa aislada de un producto comercial en el laboratorio de Fitopatología, la cual se inoculó en un medio líquido de PDA y se agitó por una semana para el incremento de la biomasa. Se determinó la población de esporas por medio de la cámara de conteo de Neubauer. En el experimento I de invernadero se evaluaron 6 tratamientos, el arreglo experimental utilizado fue un diseño completamente aleatorizado con un factor totalmente al azar con 15 réplicas para cada tratamiento. Las plántulas de 15 días de edad se transplantaron en macetas e inmediatamente después se aplicaron 2.0 mL del inóculo (5000 huevecillos/mL). A los 3 días del trasplante se realizó la aplicación de los tratamientos: 2.0 mL de *P. lilacinus* (1×10^7 conidios/mL), 1.0 mL de aceite de neem (cianim) y pasta de neem (4%, 10% y 20%). El manejo agronómico de las plantas de pepino consistió en la aplicación de fertilización cada tercer día (Cuadro 1), se realizó de acuerdo al crecimiento y desarrollo de las plantas. En el experimento 2 de invernadero fue similar al experimento 1, con la particularidad que en este ensayo se evaluaron los dos mejores tratamientos que tuvieron un mayor control de agallamiento: 2.0 ml de *P. lilacinus* (1×10^7 conidios/mL), y 1.0 mL de aceite de neem (cianim), efectuando tres aplicaciones a

intervalos de 15 días entre aplicación. En esta fase, el experimento contó con un factor totalmente al azar y 15 réplicas para cada tratamiento.

Fertilizante	Dosis g/L
Nitrato de potasio	0.4
Nitrato de calcio	0.7
Sulfato de potasio	0.1
Sulfato de magnesio	0.2
Fosfato de manopotasio	0.1

Cuadro 1. Dosis de fertilización para las plantas de pepino.

Variables a evaluar en el experimento I y II

A los 70 días después del transplante, las plantas de pepino se cortaron a nivel del suelo, se procedió a evaluar el peso de planta y peso de la raíz. La estimación del daño de nemátodos fitoparásitos se determinó por medio del índice severidad de raíces agalladas por *M. incognita*. Se seleccionaron seis plantas al azar de cada tratamiento, se lavaron con agua y se sometieron a la técnica de tinción de raíces (Zukerman *et al.*, 1987). Las raíces se blanquearon en una solución al 30% de cloro por 5 min y se sumergieron en una solución madre de fucsina ácida (la solución madre del colorante se preparó disolviendo 3.5 g de fucsina ácida en 250 mL de ácido acético y 750 mL de agua destilada). El material fue hervido previamente por 1min y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se procedió a contar los nódulos o agallas en las raíces de pepino. La evaluación se realizó utilizando una escala subjetiva donde: 0) 0 % de agallamiento de la raíz; 1) 1 -10 %; 2) 11-25%; 3) 26-75 %; 4) 76-90 % y 5) 92-100% de agallamiento de las raíces (Carrillo *et*

al., 2000). Para conocer la efectividad de los tratamientos, los resultados del índice de agallamiento se sometieron a las siguientes fórmulas:

Porcentaje de severidad de agallamiento (Barker *et al.*, 1978).

$$\% \text{ Severidad} = \frac{[\text{No. Plant de escala X 1}] + [\text{No. Plant X 2}] + [\text{No. Plant X 5}]}{\text{Número de plantas en trat. X 5}} \times 100$$

Porcentaje de efectividad biológica (Abbot, 1979).

$$\% \text{ Efectividad} = \frac{\text{Nodulación testigo} - \text{Nodulación tratamiento.}}{\text{Nodulación testigo}} \times 100$$

Análisis estadísticos

En el experimento I de invernadero se evaluaron 6 tratamientos, en un diseño completamente aleatorizado con un factor totalmente al azar con 15 réplicas para cada tratamiento. En el experimento II de invernadero se evaluaron 3 tratamientos, el arreglo un diseño completamente aleatorizado con un factor totalmente al azar con 15 réplicas para cada tratamiento. Los datos que se obtuvieron se sometieron al análisis de varianza y comparación de medias de Tukey ($P=0.05$), usando el programa de análisis estadísticos Minitab 14.

RESULTADOS

En el análisis del diseño perineal en hembras de nematodos extraídas de raíces infectadas en tomate por *Meloidogyne* spp, se identificó como la especie *Meloidogyne incognita* como se ilustra en Figura 1a y 1b descrito por Sasser *et al.*, 1987.

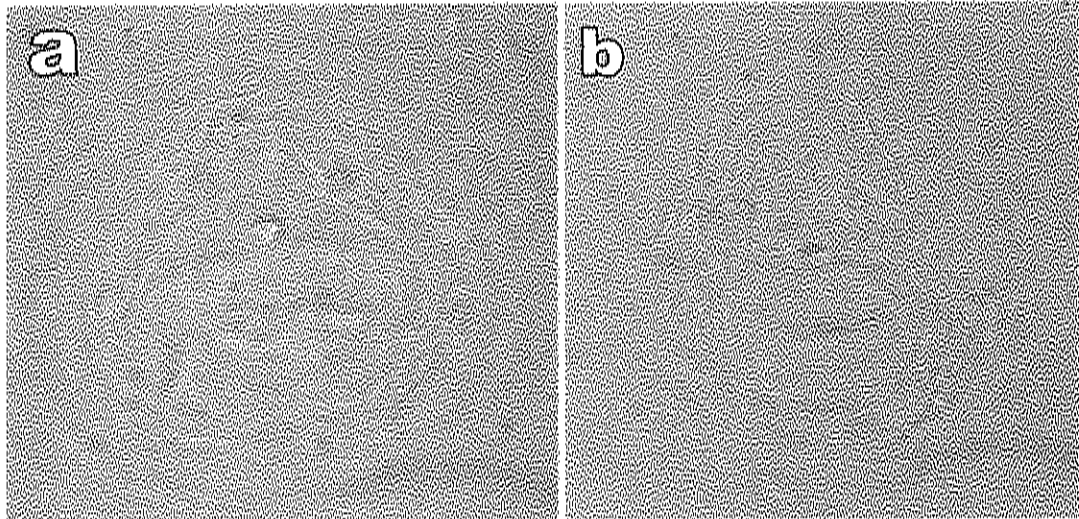


Figura. 1. Diseño perineal de hembras correspondiente a *Meloidogyne incognita*.

En relación a la aplicación de los tratamientos en el experimento 1, los resultados de la evaluación se mostraron diferencias significativas ($P=0.0001$) entre los tratamientos en cuanto a peso de planta y raíz en fresco. Sin embargo comparados con el testigo, los tratamientos presentaron un mayor porcentaje de peso de follaje con *P. lilacinus* y aceite de neem al 22 y 25% respectivamente con respecto al peso de raíz este se incrementó en un 13% con aceite de neem, seguida por *P. lilacinus* con 16% y pasta de neem 10% (Cuadro 2).

Tratamiento	Peso de follaje fresco en %	Peso de raíz en %
Testigo	0 a	0 a
Aceite de neem	22% bc	13% bc
<i>P. lilacinus</i>	25% b	16% b
Pasta de neem (4%)	18% c	10% c

Cuadro 2. Peso de follaje fresco y raíz en planta de pepino de 70 días de edad, tratadas con tres productos biológicos en el control de *M. incognita*.

1/ Cada valor es el promedio de 12 réplicas por tratamiento.

2/ Datos con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey $P=0.05$).

Los análisis reflejaron diferencias significativas ($P=0.0001$) entre los tratamientos en cuanto a severidad de agallamiento y/o número de nódulos de raíces (Cuadro 3), observándose un 28% de severidad de agallas en las plantas tratadas con *P. lilacinus*, un 46% con el tratamiento con aceite de neem (cianim) y un 58% pasta de neem (Figura 2).

Source	DF	SS	MS	F	P
TRAT.	3	8050	2683	19.63	0.000
Error	20	2733	137		
Total	23	10783			

S = 11.69 R-Sq = 74.65% R-Sq(adj) = 70.85%

Cuadro 3. ANOVA de los tratamientos en relación de severidad de agallamiento en raíces.

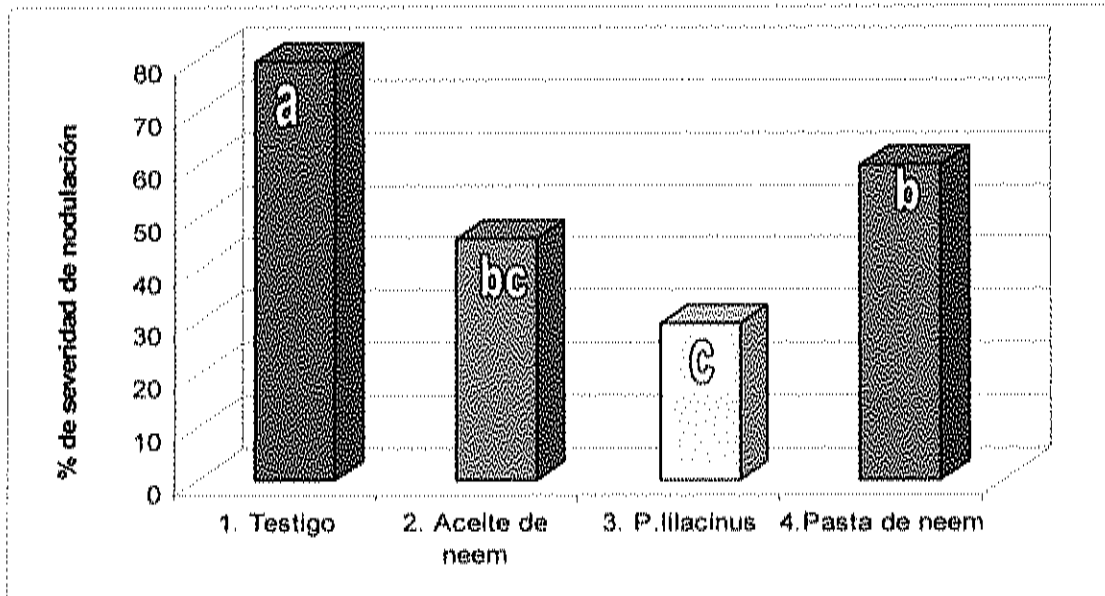


Figura 2. Porcentaje de severidad de nodulación en pepino, causado por *Meloidogyne incognita*, experimento en invernadero fase I. Cada valor es el promedio de 6 réplicas por tratamiento. Datos con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey $P=0.05$).

Así mismo, en relación al porcentaje de efectividad se encontró que existieron diferencias significativas ($P=0.0001$) entre los tratamientos (Cuadro 4). En relación a la variable antes descrita se observó 62% de efectividad con *P. lilacinus*, seguida por el aceite de neem con un 41% y pasta de neem con un 29% (Figura 3).

Source	DF	SS	MS	F	P
TRAT.	3	12292	4097	23.14	0.000
Error	20	3542	177		
Total	23	15833			

S = 13.31 R-Sq = 77.63% R-Sq(adj) = 74.28%

Cuadro 4. ANOVA de efectividad de los tratamientos

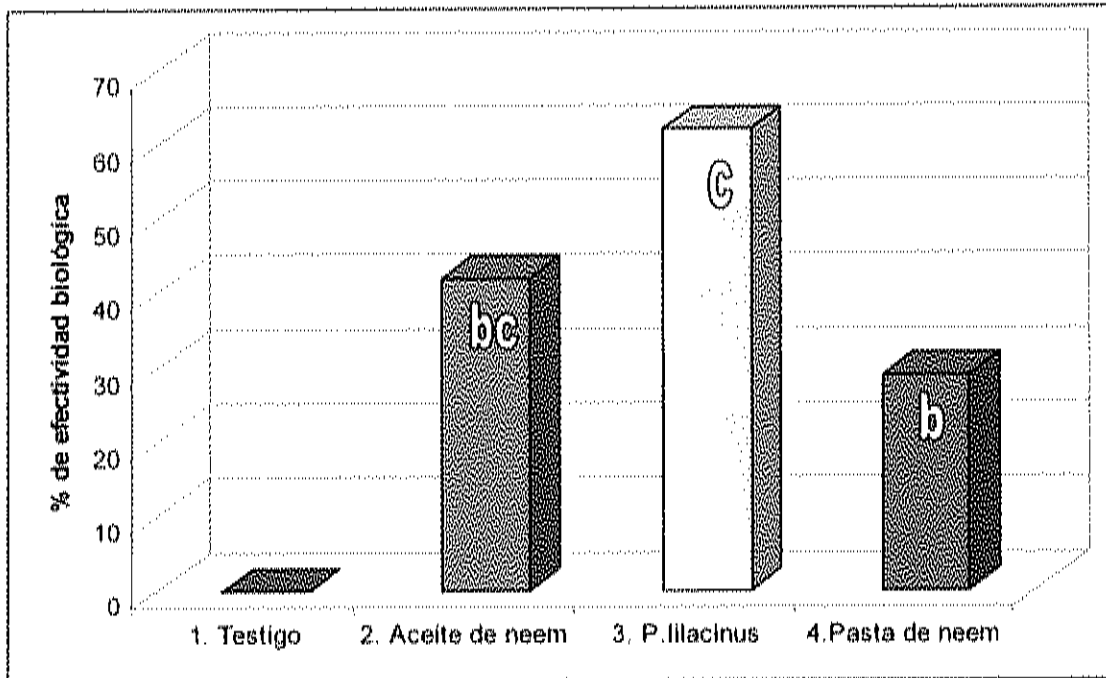


Figura 3. Porcentaje de efectividad biológica en pepino, causado por *Meloidogyne incognita*, experimento en invernadero fase I. Cada valor es el promedio de 6 réplicas por tratamiento. Datos con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey $P=0.05$).

Los productos a base de *P. lilacinus* y aceite de neem disminuyeron significativamente el daño causado por el nematodo nodulador en relación a la variable efectividad biológica (Figura 4 a, b, c, d). Se observaron síntomas de fitotoxicidad en pasta de neem al 10% y 20%, causando la muerte de las plantas.

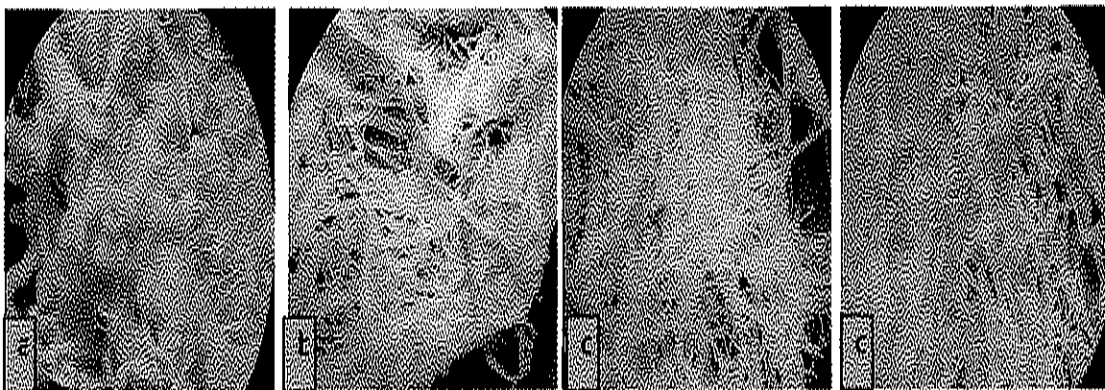


Figura 4. Severidad de agallamiento por *Meloidogyne incognita* en raíces de pepino fase I: a) testigo, b) aceite de neem, c) *Paecilomyces lilacinus* y d) pasta de neem (4%) .

Resultados similares se registraron en el experimento 2 donde se evaluaron los dos tratamientos más efectivos del experimento 1. se encontraron diferencias significativas ($P=0.0001$) en cuanto a peso de planta y de raíz en fresco entre tratamientos (Cuadro 5), sin embargo en relación al testigo, los datos indicaron que existió un mayor porcentaje en peso de follaje (31%) en el tratamiento con *P. lilacinus* y en aceite de neem un 25%. En peso de raíz, se observó un aumento de un 18% en *P. lilacinus* y con 15% en aceite de neem.

Tratamiento	Peso de follaje fresco en %	Peso de raíz en %
Testigo	0 a	0 a
<i>P. lilacinus</i>	31% b	18% b
Aceite de neem	25% b	15% b

Cuadro 5. Peso de follaje fresco y raíz en planta de pepino de 70 días de edad, tratadas con tres productos biológicos en el control de *M. incognita*.

1/ Cada valor es el promedio de 12 réplicas por tratamiento.

2/ Datos con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey $P=0.05$).

En la variable porcentaje de severidad de agallamiento, se puede ilustrar que existieron diferencias significativas ($P=0.0001$) (Cuadro 6), entre los tratamientos en relación al testigo, con un índice de agallamiento en plantas tratadas con *P. lilacinus* de un 26% y el tratamiento con aceite de neem hasta un 33% (Figura 5).

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
trat	2	10133.3	10133.3	5066.7	71.25	0,000
Error	15	1066.7	1066.7	71.1		
Total	17	11200.0				

S = 8.43274 R-Sq = 90.48% R-Sq(adj) = 89.21%

Cuadro 6. ANOVA de los tratamientos en relación de severidad de agallamiento en raíces.

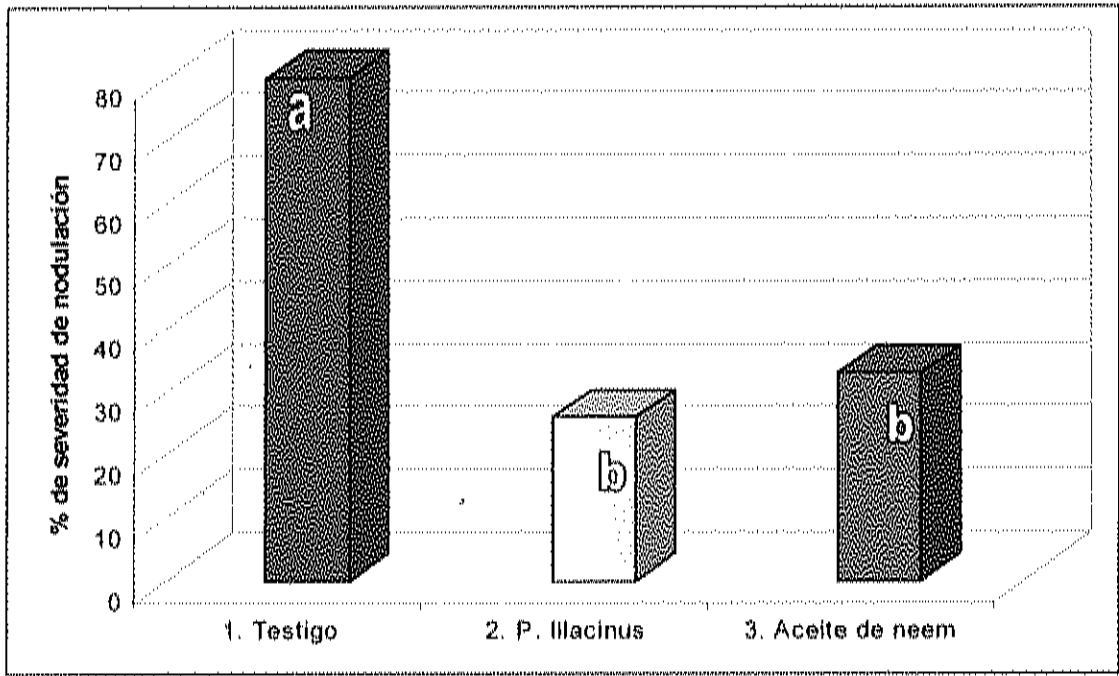


Figura 5. Porcentaje de severidad de nodulación en pepino, causado por *Meloidogyne incognita*, experimento en invernadero fase 2. Cada valor es el promedio de 6 réplicas por tratamiento. Datos con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey P=0.05).

En relación a la variable de efectividad, se encontró que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos antes mencionados, pero en relación al testigo se observaron diferencias significativas (P=0.0001) entre los tratamiento *P. lilacinus* y aceite de neem.

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
trat.	2	15833.3	15833.3	7916.7	71.25	0.000
Error	15	1666.7	1666.7	111.1		
Total	17	17500.0				

S = 10.5409 R-Sq = 90.48% R-Sq(adj) = 89.21%

Cuadro 7. ANOVA de efectividad de los tratamientos

Sin embargo, a pesar de no existir diferencias entre los tratamientos de *P. lilacinus* y aceite de neem podemos señalar que existió un mayor porcentaje de efectividad biológica con *P. lilacins* (67%) con respecto al aceite de neem (58%) (Figura 6). Los productos a base de *P. lilacinus* y aceite de neem disminuyeron significativamente el daño causado por el nematodo nodulador en relación a la variable efectividad biológica (Figura 7 a,b y c).

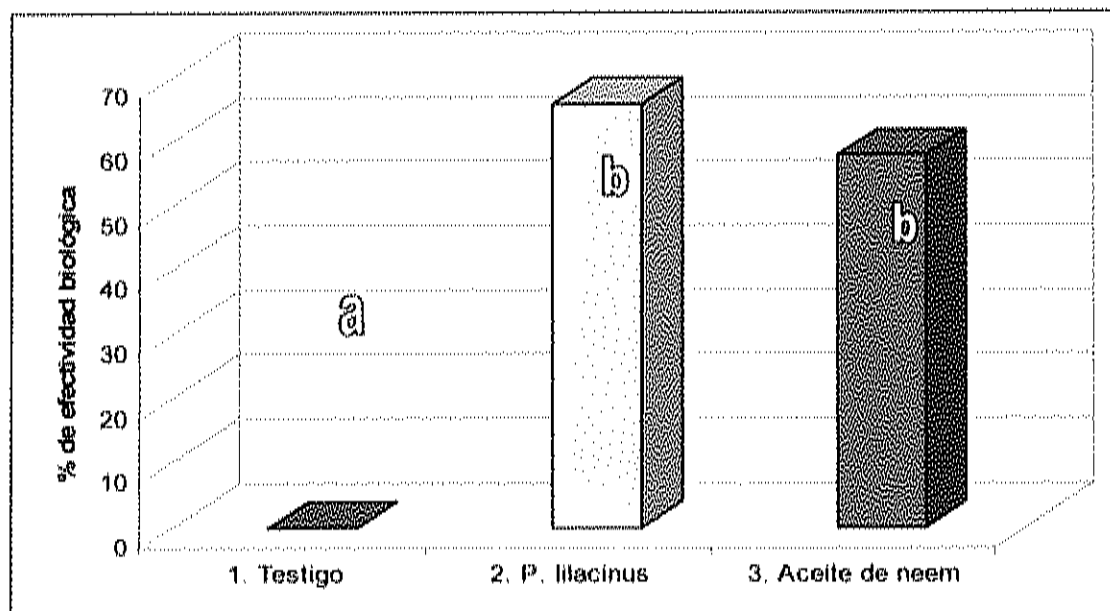


Figura 6. Porcentaje de efectividad biológica en pepino, causado por *Meloidogyne incognita*, experimento en invernadero fase 2. Cada valor es el promedio de 6 réplicas por tratamiento. Datos con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey $P=0.05$).

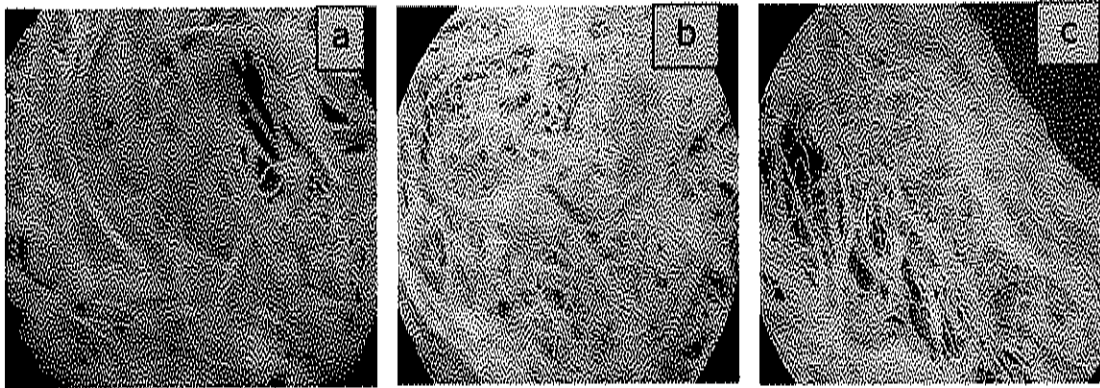


Figura 7. Severidad de agallamiento por *Meloidogyne incognita* en raíces de pepino fase 2: a) testigo, b) *Paecilomyces lilacinus* y c) aceite de neem.

DISCUSIÓN

En las evaluaciones realizadas en las dos experiencias de invernadero se observó que los tratamientos biológicos mostraron un fuerte efecto contra *Meloidogyne incognita* en el cultivo de pepino, reduciendo la severidad de agallamiento. Con los tratamientos biológicos se obtuvieron plantas de mayor peso fresco y raíz en relación al testigo, esto puede ser debido a que la presencia de nematodos agallados en la raíz causan una reducción en la translocación de agua y nutrientes, así como una reducción volumen de raíz. Por consiguiente, la producción de menos tallos y hojas pequeñas pocos suculentas (Nuñez, 1992). Estos resultados son similares con los obtenidos por Siddiqui *et al.*(2000), quienes evaluaron la eficacia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Paecilomyces lilacinus* contra *M. incognita* en cultivo de tomate, estos investigadores determinaron un mayor peso de plantas y raíces en relación al testigo. Jonathan *et al.* (2000), evaluaron a *P. lilacinus* en el control de *M. incognita* en el cultivo de betelvine (*Piper betle* L). En diferentes tiempos de aplicación, encontraron plantas significativamente de mayor

tamaño y raíces mas sanas en los tratamientos donde existió un mayor control de la enfermedad. Así mismo, Zebitz (1986), adicionó aceite de neem al suelo para el control *Meloidogyne* spp., observando una reducción en las poblaciones del nematodo, menor masa de huevecillos y menor severidad de agallamiento en las plantas tratadas, encontrando plantas con mayor tamaño en relación al testigo.

En este estudio la máxima efectividad biológica en relación a la variable de severidad de agallamiento resultó al aplicar *P. lilacinus* con un 67% y las plantas mostraron un índice de agallamiento de un 28%, seguida por aceite de neem con un 41% de efectividad e índice de agallamiento con un 46%. Los productos a base de *P. lilacinus* mostraron mayor efectividad al reducir el número de nódulos ocasionados por el nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* en el cultivo de pepino. Así mismo, el aceite de neem (cianim) tener un buen control sobre el nematodo *M. incognita*.

Estos resultados concuerdan con lo señalado por Freitas (1995), quien reportó una reducción en el número de nódulos en raíz de tomate cuando se aplicaron aislados de *P. lilacinus*. Resultados similares fueron observados por Lara-Martes *et al.* (1996), quienes realizaron un estudio de campo para demostrar la eficacia de *P. lilacinus* con un 68% de efectividad biológica sobre el control del nematodo nodulador. El estudio reveló que *P. lilacinus* redujo las poblaciones de *Meloidogyne* spp. en el suelo y en las raíces, debido a que parasitó los huevecillos del nematodo, disminuyendo la nodulación radical e incrementó los rendimientos y los beneficios económicos en el cultivo. Así mismo, Syed y Tabreiz (2004), reportaron que *Paecilomyces lilacinus* mostró un efecto patogénico

contra *M. incognita* en concentraciones a partir de 10^7 conidios/mL en el cultivo del chile. Este hongo comúnmente se encuentra parasitando huevecillos de *M. incognita* (Rao *et al.*, 1997). Por su parte Morgan-jones *et al.* (1985), encontraron que etapas juveniles de *M. incognita* pueden ser inmovilizados por la hifas de *P. lilacinus*. El hongo crece en el interior de la masa de huevecillos del nematodo agallador y también pueden atacar a hembras inmaduras provocando una reducción en la fecundación. Después de que el hospedero muere, las esporas del hongo emergen al exterior a través de la cutícula y esporulan sobre el cadáver produciendo inóculo para infectar a otros patógenos (Tanada y Kaya 1993). Khan *et al.* (2003), encontraron la evidencia de *P. lilacinus* degrada las estructuras de los nematodos, debido a la producción de enzimas líticas como proteasas y quitinasas, las cuales son de gran importancia en la degradación de las capas del nematodo.

Así mismo, existen estudios relacionados con las aplicaciones de aceite de neem, los cuales han demostrado un potencial nematicida cuando es incorporado al suelo o se realizan tratamientos de semilla (Akhtar y Mahmood, 1994).

Los efectos que tienen los extractos a base de neem sobre el nematodo se deben a que dentro de ellos se encuentran compuestos limonoides y fracciones de aceites que causan mortalidad del nematodo agallador *M. incognita* y la inhibición de la eclosión de los huevecillos (Devakumar *et al.*, 1985).

Los componentes nematotoxicos del árbol de neem son las azadiractinas que entran en contacto con nematodos al incorporarlas al suelo (Mohammad, 2000).

El modo de acción de este compuesto es muy complejo y su mecanismo sobre el nematodo esta siendo ampliamente investigado. En la actualidad numerosos estudios demuestran la actividad: antialimentaria, inhibición de crecimiento, inhibición de oviposición (Koul *et al.*, 1990). Akhtar (1999), reportó que los componentes de neem inhiben la penetración de estado juvenil J2 en raíces de sus hospederos impidiendo la penetración.

Prot y Kornprobst (1993), reportaron que los principales efectos tóxicos con los productos derivados al neem se encuentran en la fracción de extractos de semilla, los cuales inhiben la penetración del nematodo agallador en las raíces de tomate. Las toxinas causan la muerte del patógeno debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido (Ferrón, 1981). Los trabajos realizados por Zebitz (1986), reportaron que el aceite de neem incorporado al suelo disminuye la población del nematodo agallador y reduce la producción de huevecillos en el cultivo de tomate en invernadero.

CONCLUSIONES

1.- *P. lilacinus* mostró una efectividad biológica de un 57%, mientras que el aceite de neem presento 48% respectivamente.

2.- Las aplicaciones de *P. lilacinus* y aceite de neem incrementaron un mayor peso de follaje y raíz comparados con el testigo.

3.- El manejo del cultivo de pepino con la aplicación de *P. lilacinus* obtuvo una efectividad biológica de un 68%, mientras la aplicación de aceite de neem previno un 58% sobre la nodulación inducida por *M. incognita*.

4.- Las aplicaciones de *P. lilacinus* y aceite de neem incrementaron un mayor peso de follaje y raíz comparados con el testigo.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W.S. 1979.** Method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Akhtar, M. 1999.** Plant growth and nematode dynamics in response to soil amendments with neem products, urea and compost. *Department of Plant Protection.* 69: 181-183.
- Baker, K.F., Townshend, J.L., Michell, R.E., Norton. D.C and Ruehle, J.L. 1978.** Determining nematode population responses to control agents. Methods for evaluating plant fungicides, nematocides and bactericides. *The American Phytopathological society.* pp. 114-116.
- Akhtar, M. and Mahmood, I. 1994.** Prophylactic and therapeutic of oilcakes and leaves of neem and castor extracts for the control of root-noot nematode on chilli. *Nematology Medit.* 22: 127-129.
- Baker, K.R. 1994.** Plant and soil nematodos: Societal impactand focus future. *Journal of Nematology.* 26 (2): 127-137.
- Carrillo, F.A., García, E.R., Allende, M.R., Márquez, Z.I., y Cruz, O.J. 2000.** Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 18(2): 115-119.
- Cepeda, S.M. 1996.** *Nematología Agrícola.* Primera Edicion. Editorial Trillas, Mexico pp. 10-65.

- Devakumar, C.S., Goswami, B.K. and Mukerjee, S.K. 1985.** Nematicidal principles from neem (*Azadirachta indica* A. Juss). Part 1 – Screening of neem kernel fractions against *Meloidogyne incognita*. Indian J. Nematol. 15: 121–4.
- Freitas, L.G., Ferraz, S.A. and Muchovej, J.J. 1995.** Effectiveness of different isolates of *Paeclomyces lilacinus* and an isolate of *Cylindrocarpon destructans* on the control of *Meloidogyne javanica*. Nematropica 25(2): 109-115.
- Ferron, P., Hurpin, B and Roberts, P. 1972.** "Sur la spécificité de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin." Entomophaga. 17: 165- 178 .
- Jonathan, E.L., Arulmozhiyan, R and Muthusamy, S. 2000.** Field application of paeclomyces for the control of *Meloidogyne incognita* on betelvine, *piper betle*. Nematol. medit, 28: 131-133.
- Khan, A; Williams, K; Mark, P; Molloy, D, and Nevalainen, H. 2003.** Purification and characterization of a serine protease and chitinases from *Paeclomyces lilacinus* and detection of chitinase activity on 2d gels. a Proteome. Department of Biological Sciences, Macquarie University, Sydney NSW 2109, Australia.
- Ketkar, C.M. 1984.** Crop experiments to increase the efficacy of urea fertilizer nitrogen by the use of neem by-products under Indian soil condition. In *Proc. 2nd Intl. Neem Conf.* (Rauischhalzhausen, 1983), 507–18.
- Koul, O. Isman, M.B. and Ketkar C.M. 1990.** Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. Journal Bot. 68: 1-11.
- Lara-Martes, J., Acosta, N y Vicente, N. 1993.** Exoesqueleto de camarón para controlar el nemátodo nodulador, *Meloidogyne incognita*, en tomate en el invernadero. J. Agric. Univ. P.R. 77(3-4): 229-236.

- Mohammad, A. 2000.** Nematicidal potencial of neem tree *Azadirachta indica* (A. Juss). Integrated Pest Management Reviews, 5: 57.
- Morgan-Jones, G. and R. Rodríguez-Kábana. 1985.** Phytonematode pathology: Fungal mode action. A perspective. Nematropica 15: 107-113.
- Mukhtar, T., Ahmed, R., Inamul-Haq, M. and Javed, N. 1994.** Effect of leaf extract of some plants on *Meloidogyne incognita*. Pak. J. Phytopath. 6: 35-7.
- Noling, J.W. 2005.** Nematode management in tomatoes, peppers and eggplant. Departament entomology and nematology. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. pp. 2-16.
- Nuñez, S.E. 2002.** Aislamiento y evaluación de hongos nematófagos asociados a quistes de *globodera rostochiensis* (Woll.) en la region del cofre. Universidad de Colima, Maestria en ciencias. Area Biotecnologica. pp. 20-42.
- Prot. J.C. and Kornprobst, J.M. 1983.** Effect *Azadirachta indica*, *Hannoa undulada* and *Honnoa klainana* seeds extract on the ability of *Meloidogyne javanica* juveniles to penetrate tomato roots. Revue Nematol. 6: 330-336.
- Ramos, Q., Alves, S and Tranzinni, R. 2000.** Informes de Investigación RMIP. Ascolifi uniforma. 30: 24-33.
- Rao, M.S. and Reddy, R.P. 1997.** Integrated management of root knot nematode *Meloidogyne javanica* infecting tomato using organic materials and *Paecilomyces lilacinus*. Bioresource Technology 61: 247-250.
- Zebitz, C.P. 1986.** Effect of neem products on nematodes and growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants. Proc. 3rd Int. Neem Conf. Nairobi, pp. 611-21.

- Salawu, E.O. 1992.** Effect of neem leaf extract and ethoprop singly and in combination on *Meloidogyne incognita* and growth of sugarcane. *Pak. J. Nematol.* 10: 51–6.
- Sasser, J.N. and Freckman, D.W. 1987.** A world perspective on nematology: the role of the society. En: J.A. Veech and D.W. Dickson (eds.). *Vistas Nematology* pp. 7- 14. Published by Society of Nematologist, Hyattsville, Maryland.
- Siddqui, I.A., Qureshi, S.A., Sultana, V., and Ghaffar, A.H. 2000.** Biological control of root rot-root knot disease complex of tomato. Department of Biochemistry. *Plant and Soil.* 227:163-169.
- Syed, F. A. and Tabreiz, A. K. 2004.** Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, by integration of *Paecilomyces lilacinus* with organic materials in chilli. Section of plant pathology and nematology, Department of Botany, Aligarh Muslim University Aligarh, India. *Phytopathology and Plant Protection.* Vol. 37, pp. 35-40.
- Tanada, Y. and Kaya, H. 1993.** *Insect Pathology.* Academic Press. San Diego, California. (USA). 666 p.
- Thomason, I.J. 1987.** Challenges facing nematology: enviromental risks with nematicides and the need for new approaches. En: J. A. Veech and D.W. Dickson (eds.) *Vistas on Nematology*, pp. 469-476.
- Zukerman, B.M., Mai, W.F., Harrizon, M.B.- 1987.** *Fitonematologia.* Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. San José pp. 22-56

CONTROL ORGÁNICO DE *Meloidogyne incognita* Chitwood,
CON EXTRACTOS DE NEEM Y *Paecilomyces lilacinus* EN EL
CULTIVO DE PEPINO.

Félix-Zazueta Domingo¹, García Estrada Raymundo Saúl, Carrillo Fasio José Armando,
Angulo Escalante Miguel Ángel y Valdez Torres José Benigno. Centro de Investigación
en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa.

¹*Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa, México*
80129 AP32-A.

Palabras clave: nematodos, control biológico, pepino

-
- Autor para correspondencia. domingofelix@ciad.edu.mx

RESUMEN

El nematodo agallador (*Meloidogyne incognita*) es de gran interés debido a que origina severos daños y pérdidas en diversos cultivos agrícolas. Por ello, resulto de interés conocer el efecto de diferentes productos nematicidas en el cultivo de pepino en campo. Los resultados mostraron que existieron diferencias significativas en poblaciones de larvas de *M. incognita* en suelo a los 45 y 65 después del trasplante (DDT) *P. lilacinus*, aceite de neem y en combinación aceite de neem con *P. lilacinus*, en relación a los tratamientos de Vydate L y el testigo. Las plantas tratadas con el producto químico presentaron un índice poblacional menor en relación al testigo. Así mismo, en la severidad de nodulación causado por *M. incognita* a los 45 y 65 (DDT) *P. lilacinus* mostró respectivamente un 28 y 30%, aceite de neem 34 y 36%, Aceite de neem y *P. lilacinus* 35 y 39% y Vydate L 47 y 48%. Esto equivale a una efectividad del 52% en *P. lilacinus* contra *M. incognita*, seguida por aceite de neem con un 42%, interacción aceite de neem y *P. lilacinus* con 36%, Vydate L con un 26%. Al analizar las medidas de los tamaños como parametro de evaluación para exportación, se observó que existieron diferencias significativas en los tratamientos en relación al testigo. Así mismo, al realizar el análisis económico por hectárea de los tratamientos en comparación al testigo, se obtuvo un margen de ganancia entre un rango mayor del 50% y en la recuperación de la inversión de ganancia en relación al testigo mayor al 40% situando a *P. lilacinus* como el mejor tratamiento con un capital neto obtenido de \$111,220 de pesos mexicanos, seguido por aceite de neem con \$ 99,971.

INTRODUCCIÓN

De las cucurbitáceas que se siembran en Sinaloa, entre las principales son pepino, sandía, melón y calabaza entre otras (Delgadillo y Urías, 1991). En nuestro país, el cultivo de pepino ocupa el tercer lugar de mayor importancia en la agricultura. En el ciclo agrícola 2006-2007 se exportaron aproximadamente 790.6 mil toneladas (USDA, 2007), con un ingreso de divisas de 761 millones de dólares para nuestro país. Además, esta hortaliza genera un gran número de empleos desde su siembra, producción y su exportación. Sin embargo, en la actualidad el uso de nuevas tecnologías desarrolladas para obtener una máxima producción en los cultivos ha ocasionado que incrementen problemas de enfermedades ocasionadas por nematodos (Thomason, 1987). Los nematodos reducen significativamente la producción de las hortalizas, la especie más común y dañina a nivel mundial en los cultivos hortícolas es *Meloidogyne incognita* (Carrillo *et al.*, 2000), por lo que es un reto la producción de este y otros cultivos en zonas donde se tiene la presencia del nematodo agallador.

En la actualidad, el control de los nematodos fitoparásitos se realiza principalmente mediante fumigantes del suelo y nematicidas, esto es debido a la disponibilidad de fumigantes de amplio espectro, los cuales compuestos altamente perjudiciales para la salud pública y los ecosistemas. Además, por su persistencia en el medio ambiente, favorecen la selección de insectos plaga resistentes a ellos, lo que ha motivado el uso de dosis cada vez mayores o de productos más tóxicos (Gómez *et al.*, 2004).

Esto a generado un renovado interés en el control biológico de nematodos motivado por la necesidad de encontrar alternativas y por otro lado, debido al desarrollo de sistemas productivos como la producción integrada o agricultura ecológica que promueven la utilización de mecanismos naturales para regular las poblaciones de los patógenos y que prohíben el uso de productos químicos como método de control (Noling, 2005).

Los hongos parásitos de huevos de nematodos son parásitos facultativos que pueden cultivarse *in vitro* y su supervivencia en el suelo parece no depender de la presencia de los nematodos. Estudios en varias partes del mundo muestran que la mayoría de hongos atrapadores y endoparásitos son cosmopolitas (Nuñez, 2002). Entre ellos: *Arthroborys irregularis*, *Globodera rostochiensis*, *Dactylaria candida* y destaca con una mayor importancia *Paecilomyces lilacinus* (Cepeda, 1996).

Algunas plantas poseen metabolitos secundarios que son utilizados para el control de nemátodos, se encuentran especies que pertenecen a la familia *Meliaceae*, por ejemplo el árbol del neem (*Azadirachta indica* A. Juss) (Mohammad, 2000).

Los efectos que tienen los extractos a base de neem sobre el nematodo se deben a que dentro de ellos se encuentran compuestos limonoides y fracciones de aceites que causan mortalidad del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* y la inhibición de la eclosión de los huevecillos (Devakumar *et al.*, 1985).

El objetivo del experimento fue evaluar la efectividad de *Paecilomyces lilacinus*, aceite de neem y el químico Vidate L, bajo condiciones de campo en el cultivo de pepino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento del experimento

El presente trabajo se realizó en un lote comercial ubicado en la agrícola Ceuta Produce Tayoltita # 2, de Agrícola Tarriba, ubicado en el kilómetro 83 de la carretera Culiacán - Mazatlán, donde se tenían reportes de problemas en los cultivos causados por *Meloidogyne* spp. En dicho predio se realizó un muestreo de presiembra, se tomaron 20 submuestras de suelo en diferentes puntos en forma de zig zag a una profundidad de 0-30 cm, tomando 200 g de suelo para cada submuestra. Las submuestras fueron trasladadas al laboratorio de Fitopatología del CIAD. Posteriormente fueron homogenizadas para la identificación y cuantificación de larvas.

Extracción de larvas de *Meloidogyne* spp.

Para la extracción de larvas de *Meloidogyne* spp., se utilizó el método descrito por Cobb en 1918, una vez homogenizado el suelo, se tomaron 200gr depositándose en una probeta con 800 mL de agua destilada y se colocó en una cubeta de plástico con 5 L de agua, esta se agitó fuertemente y se dejó reposar por aproximadamente 20 segundos, posteriormente se pasó a través de un tamiz de 100, 200 y 325 mallas/pulgada² el sobrenadante de material se colocó en la parte superior de embudo de plástico sobre tela de organza y papel absorbente. En la parte inferior del embudo se colocó una manguera

con una pinza de presión en la punta para cerrar el paso del agua. El material se dejó reposar durante 24 horas

Identificación y cuantificación de larvas de *Meloidogyne* spp.

Una vez realizada la extracción de larvas, después de 24 horas se tomaron 40 mL del embudo. La clasificación de las larvas de nematodo se realizó por medio de sus características morfológicas que distinguen a cada especie del género *Meloidogyne* spp. de acuerdo con la claves (Eisenback, 1985). Una vez realizada la identificación de las larvas de *Meloidogyne* spp, se procedió a la cuantificación tomando de la extracción de cada embudo una alícuota de 1mL y se colocó en un vidrio de Syracuse para facilitar la evaluación en los diferentes cuadrantes. Estas evaluaciones se repitieron tres veces por muestra. La población final se multiplicó por 40 y se dividió entre 200, obteniendo la población final en 100 g de suelo.

Establecimiento del experimento

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con dos factores tiempo y producto, el área experimental constó de 5 tratamientos y 4 repeticiones, cada repetición consistió en un surco de 80 m de longitud y la distancia entre surco de 1.80 m y entre plantas de 0.30 cm. Se transplantaron las plantas de pepino variedad Moctezumá a los 15 días de emergidas, el transplante se realizó el 12 de enero de 2007. Se colocaron al final de cada surco válvulas para controlar las aplicaciones de los fertilizantes y los riegos que se realizaron en el cultivo, las cuales se abrían o se cerraban según fuera su uso (Figura 1 a,b y c).

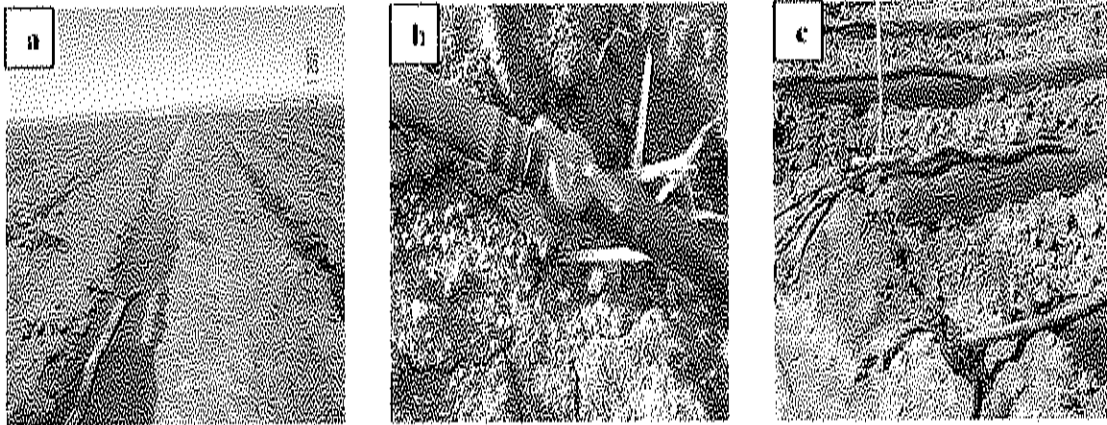


Figura 1. Establecimiento del experimento de los tratamientos a) Transplante de plantas de pepino, b) Valvulas para controlar aplicaciones y c) Establecimiento de los tratamientos.

Aplicación de los tratamientos

El neem líquido y la pasta de neem fueron formulados por el laboratorio de Toxicología del CIAD. El hongo *P. lilacinus* se obtuvo de una cepa aislada de un producto comercial en el laboratorio de Fitopatología, la cual se puso en un medio líquido de PDA y se colocó en agitador por una semana para el incremento de la biomasa. Se determinó la población de esporas por medio de la cámara de conteo de Neubauer. Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron cada semana, para ello se utilizó una mochila de motor con capacidad de 25 L. Los productos se disolvieron en un tambo de 200 L de agua para tratar 2 surcos de 80 m de largo (Figura 2 a, b y c)

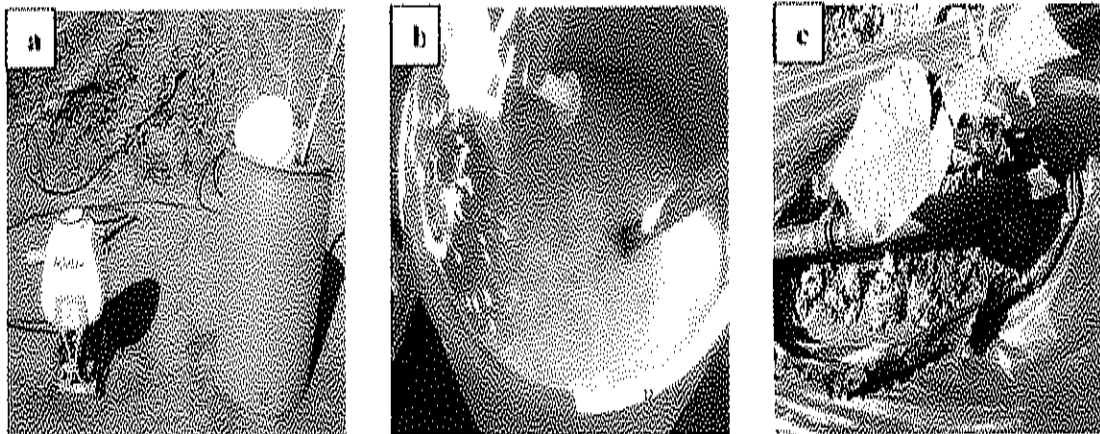


Figura 2. Aplicación de los tratamientos a) Bomba mecánica, b) Tambo de 200 litros y c) Aplicación a la planta directa por el riego.

Cuadro 1.- Tratamientos, dosis e intervalos de aplicación

No.	PRODUCTO	TIEMPO DE APLICACIÓN			TOTAL PRODUCTO	TOTAL APLICACIÓN
		Al transplante	6-7 días postransplante	8 días de intervalos		
1	<i>P. lilacinus</i> 1×10^7 conidios / mL.	3 L/Ha --	3 L/Ha --	3 L/Ha --	30-L.	10
2	Aceite de neem	2 L/Ha --	2 L/Ha --	2 L/Ha --	20 L	10
3	Testigo comercial Vydate L.	5L	5L	A los 24 y 45 días	20 L.	4
4	<i>P. lilacinus</i> * Aceite de neem	2L/Ha	3L.Ha	2L/Ha	15 L y 10 L	10
5	5. Testigo	---	---	---	---	---

Nota: En el tratamiento 3 los productos se aplicaron en forma alternada a intervalos de una semana entre cada uno de ellos. El producto químico se aplico en forma como lo realiza el agricultor.

Variables a evaluar

Cuantificación de poblaciones de larvas de *Meloidogyne incognita*

Se realizaron tres muestreos correspondientes a los 0, 45 y 65 días después del tratamiento (DDT), en base a la metodología del muestreo de presiembra previamente escrito. Para la toma de muestras se marcó un punto en cada uno de los surco para evitar tomar muestras de áreas diferentes.

Severidad de grado de agallamiento (GA)

Para la evaluación del daño de raíces causado por *Meloidogyne incognita* en cada tratamiento se seleccionaron 6 plantas al azar (45 y 60 DDT), por cada tratamiento las raíces se lavaron con agua, posteriormente se blanquearon en una solución de cloro al 30%. Estas se sumergieron y se agitaron con el blanqueador durante 5 minutos, posteriormente se lavaron nuevamente con agua de la llave por un minuto hasta retirar los residuos del blanqueador. Una vez blanqueadas las raíces, se sumergieron en una solución de madre de fucsina ácida (la solución madre del colorante se prepara disolviendo 3.5 gr de fucsina ácida en 250 mL de ácido acético y 750 mL de agua destilada). El material fue hervido por 1min y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se eliminó el sobrante del colorante en las raíces con agua. Se procedió a contar los nódulos o agallas en las raíces de pepino. La evaluación se realizó utilizando una escala subjetiva donde: 0) 0 % de agallamiento de la raíz; 1) 1 -10 %; 2) 11-25%; 3) 26-75 %; 4) 76-90 % y 5) 92-100% de agallamiento de las raíces (Carrillo *et al.*, 2000). Para conocer la

efectividad de los tratamientos, los resultados del índice de agallamiento se sometieron a las siguientes fórmulas:

Porcentaje de severidad de agallamiento (Barker *et al.*, 1978).

Porcentaje de severidad de agallamiento (Barker *et al.*, 1978).

$$\% \text{ Severidad} = \frac{[\text{No. Plant de escala X 1}] + [\text{No. Plant X 2}] + \dots [\text{No. Plant X 5}]}{\text{Número de plantas en trat. X 5}} \times 100$$

Porcentaje de efectividad biológica (Abbot, 1979).

$$\% \text{ Efectividad} = \frac{\text{Nodulación testigo} - \text{Nodulación tratamiento.}}{\text{Nodulación testigo}} \times 100$$

Producción del cultivo

Se realizaron los cortes cada tercer día, se procedió a cosechar 30 plantas ubicadas en los surcos centrales de cada una de las repeticiones para cada uno de los tratamientos, los frutos obtenidos de cada unidad fueron pesados y clasificados por categorías para exportación de acuerdo a lo propuesto por CIDH, 2006 (Cuadro 2) la producción fue pesada en una báscula digital marca Toorrey.

Cuadro 2.- Medidas de los tamaños de frutos de pepino para realizar la evaluación de rendimiento.

Tamaño de frutos	Medidas (cm)	
	Largo	Diámetro
Grande	24.1 – 25.4	5.71 – 6.92
Super Selecto Grande	21.6 – 22.8	5.08 – 6.03
Super Selecto Chico	20.3 – 21.6	5.08 – 6.03
Pequeño	19.0 – 20.3	3.18 – 5.08
Rezaga	(Frutos chicos, deformes y manchados)	

CIDH, 2006

Análisis de utilidad generada y de recuperación de inversión (R.I.)

En algunos casos el análisis estadístico no reporta una diferencia significativa entre los tratamientos para la variable producción, por lo que una recomendación basada en los resultados podría ser errónea, sobre todo si se considera lo que nos reditúa en ganancia o en costo el uso de uno u otro producto, por ello se adicional análisis estadístico de producción en el cultivo. Los resultados de utilidad generada por el uso de algún tratamiento y de la recuperación de inversión. (R.I). Para obtener dichos valores se utilizó la siguiente metodología:

1. La utilidad generada fue obtenida del total de cajas cosechadas multiplicadas por el valor promedio (en dólares) por caja en el mercado de exportación a Estados Unidos. El valor se transformó a pesos (\$ 10.00 por dólar) cada caja de pepino obtuvo un precio promedio en el mercado de \$ 13 dls.

2. El análisis de R.I. (retorno o recuperación de la inversión) fue obtenida con la siguiente ecuación:

$$R.I = \frac{\text{Utilidad generada- costo del tratamiento}}{\text{costo del tratamiento}}$$

(Cardenas, 2000).

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza y a la media de comparación de medias de (Tukey P=0.05), para esto se utilizó el programa de análisis estadísticos Minitab 14.

RESULTADOS

La evaluación de la población de *Meloidogyne incognita* al día 0, indicó la presencia de 247 larvas del nematodo en estudio por cada 100 g de suelo. En la segunda evaluación a los 45 y tercera a los 65 días después del establecimiento del experimento, en la tabla de ANOVA se observó diferencias significativa entre los tratamientos y el tiempo ($P=0.0001$) en las poblaciones de *M. incognita*. Sin embargo, la interacción tratamiento y tiempo no fue significativa ($P= 0.05$) (Cuadro 3).

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
trat	4	121910	121910	30478	327.28	0.000
tiempo	1	2031	2031	2031	21.81	0.000
trat*tiempo	4	460	460	115	1.23	0.317
Error	30	2794	2794	93		
Total	39	127194				

Cuadro 3. ANOVA de poblaciones de larvas de *Meloidogyne incognita*.

Las comparaciones de medias se realizaron mediante la prueba de Tukey ($P = 0.05$), encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ($P= 0.0001$) en las poblaciones de *M. incognita* con *P. lilacinus*, aceite de neem y aceite de neem en asociación con *P.lilacinus*, en relación a los tratamientos de Vydate L y el testigo (Figura 3). Las plantas tratadas con el producto químico presentaron un índice poblacional significativo ($P=0.001$) de *Meloidogyne incognita* en relación al testigo. Sin embargo, a pesar de no existir diferencias significativas con aceite de neem y *P. lilacinus*, se obtuvo un menor número de larvas de *M. incognita* en el tratamiento con *P. lilacinus* (Figura 3).

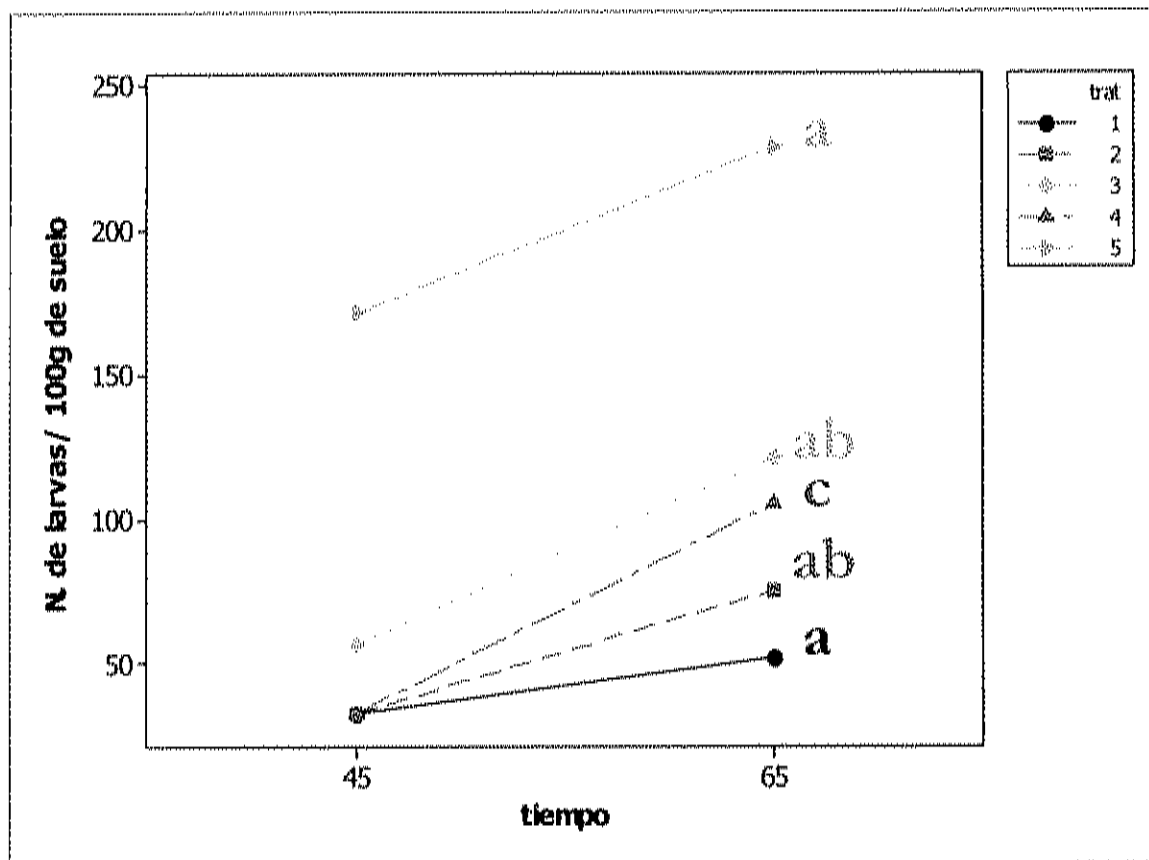


Figura 3. Comparación de medias de poblaciones de larvas de *Meloidogyne incognita*/100 gr de suelo a los 45 y 65 días. Cada valor es el promedio de 4 réplicas por tratamiento.

En la evaluación de las poblaciones al tiempo de nemátodos en el suelo a los 45 y 65 días. Se observaron diferencias significativas ($P=0.0001$) entre los tiempos con *P. lilacinus*, aceite de neem y la interacción aceite de neem y *P. lilacinus* en comparación a Vydate L y el testigo, no se observó diferencias significativas aceite de neem y en la relación aceite de neem en asociación con *P. lilacinus*, Así mismo, se obtuvo diferencias significativas entre vydate L y el testigo.

El índice de severidad de nodulación agallamiento correspondiente a los 45 y 65 días en el ANOVA se encontraron diferencias significativas ($P=0.0001$) entre los

tratamientos en cuanto al severidad de nódulos en las plantas tratadas. Sin embargo, el tiempo, la interacción tratamiento y tiempo no fueron significativas ($P= 0.05$) (Cuadro 4).

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
trat	4	4646.47	4646.47	1161.62	40.76	0.000
tiempo	1	90.00	90.00	90.00	3.16	0.086
trat*tiempo	4	46.47	46.47	11.62	0.41	0.802
Error	30	855.01	855.01	28.50		
Total	39	5637.96				

Cuadro 4. ANOVA de severidad de nodulación causada por *Meloidogyne incognita*.

Las comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey ($P=0.05$), se encontró diferencias significativas entre los tratamientos ($P= 0.0001$) en severidad de nodulación causada por *M. incognita*. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de *P. lilacinus* y aceite de neem. El tratamiento a base de *P. lilacinus* mostró una menor incidencia de nodulación causada por *M. incognita* de 27 y 29%, superando al resto de los tratamientos, seguido por aceite de neem 35 y 37% en la variable antes mencionada (Figura 4). Se encontró la misma tendencia en relación a severidad de nodulación de raíces de pepino (Figura 5).

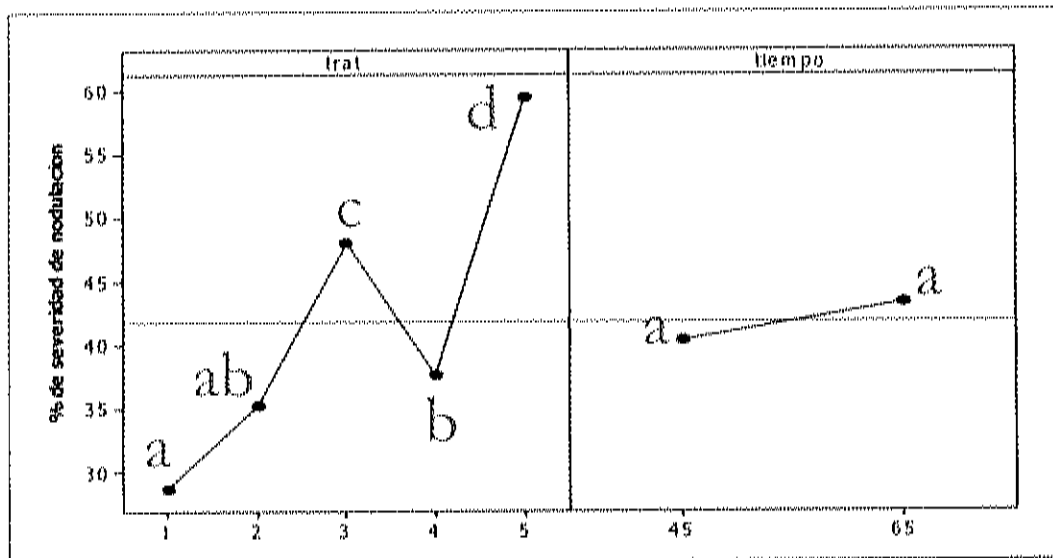


Figura 4. Porcentaje de severidad (nodulación) de *Meloidogyne incognita* a los 45 y 65 días. Cada valor es el promedio de 6 réplicas por tratamiento.

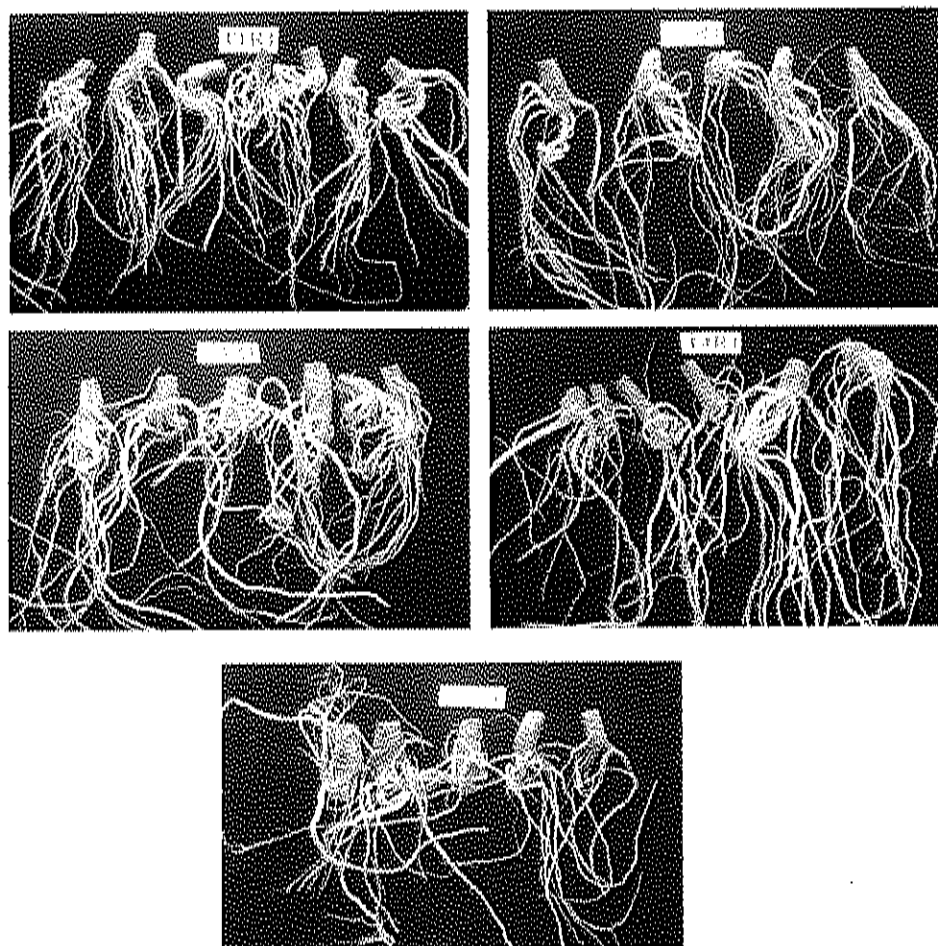


Figura 5. Severidad de agallamiento en raíces de pepino: a) *Paecilomyces lilacinus*, b) aceite de neem, c) Vidate L, d) *P. lilacinus* y aceite de neem y e) testigo.

En relación a la variable efectividad de los productos contra *M. incognita* a los 45 y 65 días después de la primera aplicación, en el ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, pero no existieron diferencias significativas ($P=0.05$) para el tiempo, la interacción tiempo y tratamiento (Cuadro 5).

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
trat	4	12931.2	12931.2	3232.8	31.85	0.000
tiempo	1	60.0	60.0	60.0	0.59	0.448
trat*tiempo	4	84.2	84.2	21.0	0.21	0.932
Error	30	3044.8	3044.8	101.5		
Total	39	16120.3				

Cuadro 5. ANOVA de efectividad de tratamientos sobre *Meloidogyne incognita*.

Las comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey ($P < 0.05$), se encontró diferencias significativas entre los tratamientos ($P= 0.0001$). Se observó con un mayor efectividad con *P. lilacinus* la cual correspondió a 52% de control contra este patógeno, seguida con aceite de neem con un 43%, aceite de neem y *P. lilacinus* con 36% y Vidate L con un 26%. En la interacción del aceite neem y *P. lilacinus* se obtuvo un control contra *M. incognita*, pero existió una mayor efectividad de los productos por separados (Figura. 6).

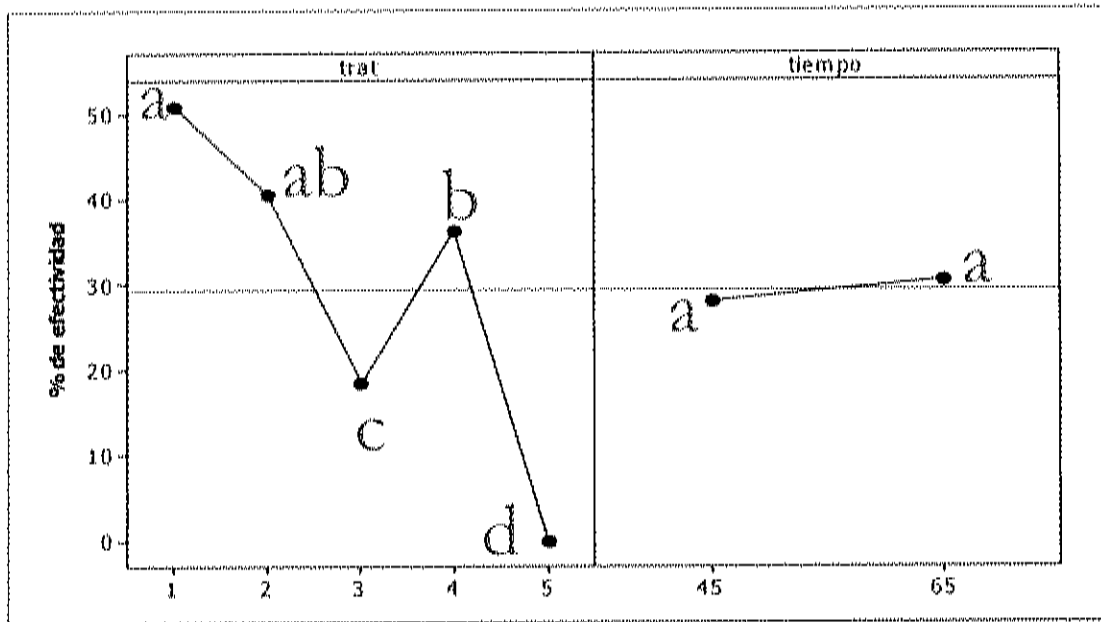


Figura 6. Porcentaje de efectividad biológica contra *Meloidogyne incognita* a los 45 y 65 días. Cada valor es el promedio de 4 réplicas por tratamiento.

Al analizar las medidas de los tamaños de los como parametro de evaluación para exportación, se observó que existieron diferencias significativas ($P=0.0001$) en los tratamientos en relación al testigo (Figura 7).

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
trat	4	5857.4	5857.4	1464.3	3.84	0.007
rep	2	52408.5	52408.5	26204.2	68.79	0.000
trat*rep	8	2929.4	2929.4	366.2	0.96	0.473
Error	75	28570.3	28570.3	380.9		
Total	89	89765.6				

Cuadro 7. ANOVA Producción acumulada de frutos.

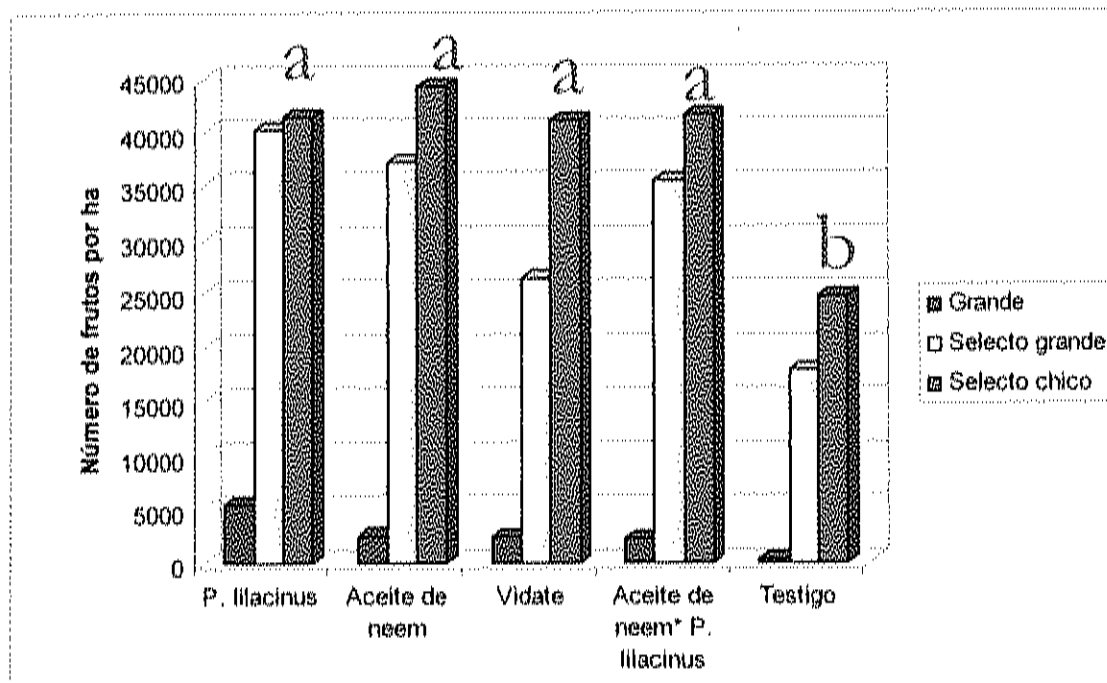


Figura 7. Producción acumulada de frutos de exportación en los seis cortes de pepino:

Por lo que una recomendación basada en los resultados podría ser errónea. Sin embargo, al realizar el análisis económico por hectárea de los tratamientos biológicos en relación con Vidate L en los margen de ganancia, *P. lilacinus* mostró una utilidad generada de \$117, 220 con un margen de ganancia de \$13,848. Seguido con aceite de neem con una utilidad de \$110, 210 y una ganancia de \$7,839, la interacción de *P. lilacinus* y aceite de neem se reportó una utilidad generada \$99,126. Así mismo, en la comparación de los productos biológicos en relación con el testigo, se obtuvo un margen de ganancia mayor de \$55,000 y en relación al químico un margen de ganancia de \$48,345 (Figura 8). Este tratamiento fue el de menor producción, esto podría ser debido a que presentó la mayor severidad de nodulación en las raíces de las plantas y una mayor población de larvas del nematodo.

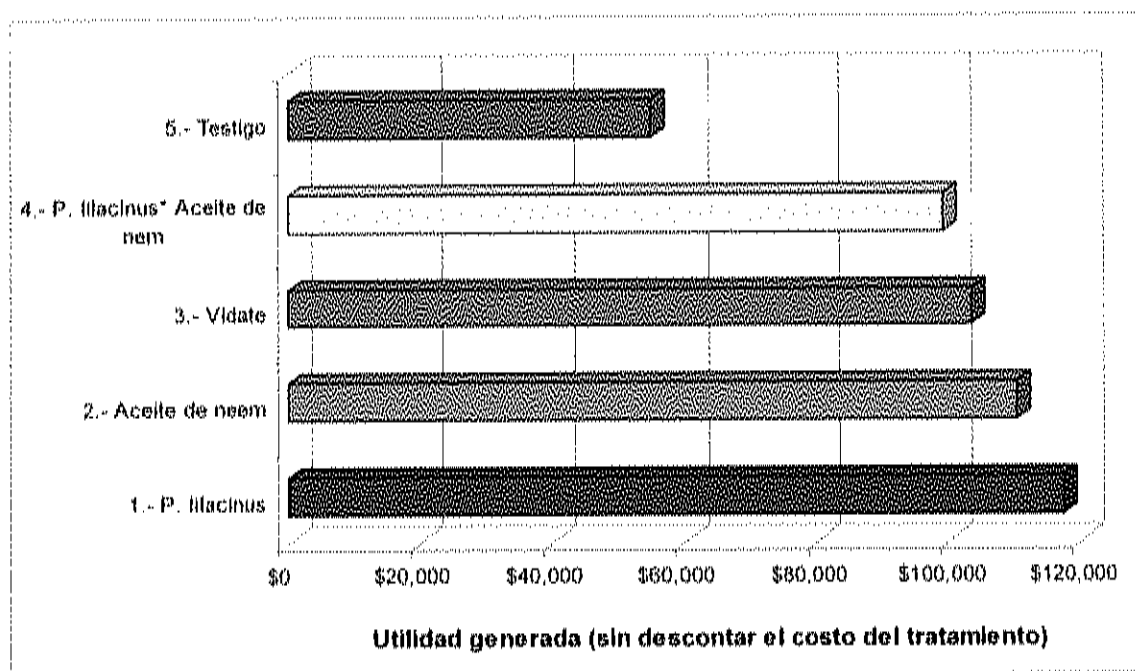


Figura 8. Utilidad generada obtenida del total de cajas cosechadas multiplicadas por el valor promedio por caja en el mercado de exportación.

Finalmente la R.I. (recuperación de la inversión) sitúa a *P. lilacinus* como el mejor tratamiento con un capital neto obtenido de \$111,220 superando con un margen de ganancia de \$ 11,510 comparado con el tratamiento mas cercano, correspondiente al aceite de neem y comparado con el químico con una ganancia de \$17,848, en relación al testigo con una ganancia de \$56,193 por hectárea tratada (Figura 9). Lo antes señalado indica que los productos mostraron una ganancia en relación al testigo mayor de \$38,345 (Figura 9). Lo cual es un indicador que donde se obtuvo un mayor efecto de control de los tratamientos, se obtuvo un mayor rendimiento en la calidad de los frutos de pepino y por consiguiente un mayor margen de ganancia.

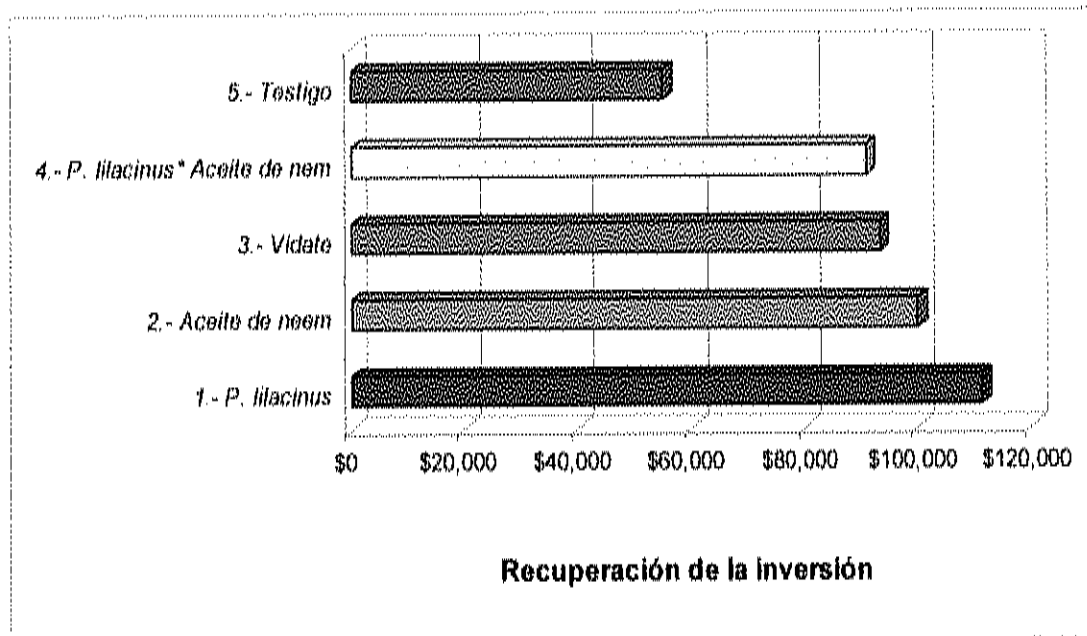


Figura 9. Capital de inversión recuperado (ganancia total).

DISCUSIÓN

Durante la evaluación de los productos biológicos sobre en las variables de población de larvas, porcentaje de nodulación, porcentaje de efectividad en las plantas de pepino y producción. Los resultados indicaron que *P. lilacinus* y aceite de neem fueron significativamente más efectivos en la supresión de las poblaciones *M. incognita* en el suelo, así como en la incidencia de nodulación causadas por este nematodo en las raíces de pepino, y en efectividad biológica. Cabe mencionar que el tratamiento en donde se estudió el efecto de la interacción de *P. lilacinus* y aceite de neem también resultó ser efectivo sobre las variables antes mencionadas en relación al testigo, pero fue más efectivo el uso de ellos por separado. Castro (1989), menciona que la incorporación al suelo de productos orgánicos involucra varios mecanismos que pueden actuar en el suelo

durante su descomposición, señala que se pueden producir cambios físicos y químicos en las propiedades en el suelo.

Syed y Tabreiz (2003), reportan la eficacia de *P. lilacinus* en el control de *M. incognita* solo o combinados con varios productos orgánicos de diferentes especies de plantas *Azadirachta indica*, *Calotropis procer*, *Argemone mexicana* L., *Kail sawdust*, encontrando una mayor efectividad del hongo con la adición de aditivos orgánicos, como resultado obtuvo plantas de mayor tamaño, una reducción en el crecimiento poblacional de larvas y agallamiento de raíz en relación al control, excepto en la incorporación de *Kail sawdust*. Este caso se observó inhibición de parasitismo de *P. lilacinus* lo cual podría ser debido a las principales propiedades que contiene este materiales, los cuales debieron estar inhibiendo la actividad del hongo o por cambios en las propiedades del suelo.

Sin embargo, a pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas entre *P. lilacinus* y aceite de neem, se observó que el tratamiento con *P. lilacinus* fue superior con una mayor efectividad contra *M. incognita* y con un margen de ganancia más alto en relación al aceite de neem.

La mayor efectividad de *P. lilacinus* probablemente fué debido a su forma de ataque sobre el nematodo el cual pudo estar parasitando hembras, masas de huevecillos y huevecillos antes de emerger, afectando la reproducción del nematodo. Esto es corroborado por Holland *et al.* (1998), quienes estudiaron *in vitro* el modo de infección

de *P. lilacinus* sobre *M. javanica* en diferentes etapas de crecimiento. Diferentes investigadores han determinado que el hongo parasita huevecillos en todas las etapas larvarias del nematodo. Rao y Reddy (1997), establecieron que la habilidad de *P. lilacinus* para controlar los nemátodos, es efectivo en el manejo de *M. javanica*.

Dávila *et al.* (1999), indica que las especies de *Paecilomyces* poseen gran actividad quitinolíticas. La capacidad de degradación de quitina es probablemente uno de los varios mecanismos involucrados en el proceso de patogenicidad de algunos hongos parásitos de nemátodos.

Schenck (2004), estudio la eficacia de un producto comercial de *P. lilacinus* (melocon) y un fumigante de suelo Vapam (metam sodio) contra *M. incognita* en el cultivo de tomate, encontraron que el agente biológico fué significativamente más efectivo, con un menor índice de poblacional y de agallamiento. Obtuvieron un mayor número de frutos por planta y de mejor peso. Así mismo, Zaki (1994), estudio la dosis óptima efectiva de *Paecilomyces lilacinus* contra *Meloidogyne javanica* en tomate en macetas, las dosis utilizadas fueron 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 kg de suelo, la óptima efectividad se encontró 4g del hongo por kg de suelo, lo cual redujo la severidad de agallamiento (69%) y la población de larvas del nematodo (86%). Por consiguiente se obtuvieron plantas de mayor peso y altura.

Lara-Martes *et al.* (1996), quienes realizaron un estudio de campo para demostrar la eficacia de *P. lilacinus* con un 68% de efectividad biológica del nematodo nodulador.

El estudio reveló que *P. lilacinus* redujo las poblaciones de *Meloidogyne* spp. en el suelo y en las raíces, parasitó los huevecillos del nemátodo, disminuyendo la nodulación radical e incrementó los rendimientos y los beneficios económicos en el cultivo.

Esto puede ser debido a que la presencia de nematodos agallados en la raíz causa una reducción por la ruptura de translocación de nutrientes, relación planta y agua. Incrementado la materia seca y la reducción de raíces, por consiguiente la producción de menos tallos y hojas pequeñas pocas suculentas (Nuñez, 1992). Así mismo, existiendo una mala nutrición en las plantas se obtienen frutos de menor tamaño y con características de calidad por debajo a los parámetros que se utilizan para la exportación.

El aceite de neem redujo significativamente el número de poblaciones de nematodos en el suelo y la severidad de agallamiento en la raíz. Un posible factor en la disminución de las poblaciones de nemátodos fitoparásitos y la reducción de agallamiento con la utilización de aceite de neem, es debido a que al incorporar este tipo de compuestos al suelo, estimula la producción de compuestos tóxicos, esto pudiera estar relacionada con la reducción de las poblaciones de nemátodos y la disminución de índice de agallas. La supresión del nemátodo mediante la aplicación de este producto al suelo ocurre por su efecto nematicida. Mohammad (2000), estudio productos preparados de semillas u hojas de neem, como aceites, pasta. y encontró que en estos productos existen compuestos nematotoxicos que se reportan como fuertes protectores contra nematodos en cultivos y tratamiento a la semilla. Estos componentes nematotoxicos del árbol de neem

son las azadiractinas que son liberados con la volatilización, exudación y descomposición. cuando son incorporados al suelo el triterpenoide azadiractina, es el antialimentario más potente del neem. Su estructura química es compleja para ser sintetizado con propósitos prácticos (Saxena *et al.*, 1980). Por otra parte, la Azadiractina, ejerce acción como regulador de crecimiento, inhibidor de la oviposición, y esterilizante (Saxena *et al.*, 1980; Schulz, 1981). La azadiractina parece que actúa bloqueando la producción de ecdisona, de esta forma altera el delicado equilibrio hormonal en los insectos, afectando su metamorfosis.

Schoonover, citado por Cox (1981), señala que los antialimentarios actúan sobre receptores sensitivos a inhibidores, o que afectan de manera negativa la sensibilidad de otros receptores que normalmente reaccionan a estimulantes alimentarios. Los antialimentarios causan desorientación en los insectos e inquietud continua, reduciéndose los períodos de alimentación y las cantidades ingeridas, e incrementándose el parasitismo y la depredación por permanecer expuestos y débiles. Estas sustancias son biodegradables, no venenosas, y no afectan directamente a los enemigos naturales.

Prot y Kornprobst (1993), reportaron que los principales efectos tóxicos se encuentran en la fracción de extractos de semilla, los cuales inhiben la penetración del nematodo agallador en las raíces de tomate. Las toxinas causan la muerte del patógeno debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido (Ferrón, 1981). La azadiractina parece que actúa bloqueando la producción de ecdisona,

de esta forma altera el delicado equilibrio hormonal de los insectos, afectando a su metamorfosis. Las malformaciones producidas en cualquiera de los estadios o los daños morfológicos en adultos (Sharma *et al.*, 1983).

Así mismo Mahmood, (1996), estudió extractos de semillas de neem en aceite, encontró que redujo significativamente la incidencia de nematodos en el suelo y redujo la incidencia de agallamiento de *M. incognita* en el cultivo de chile cuando estos fueron aplicados por el riego por goteo.

El utilizar productos biológicos como *P. lilacinus* y aceite de neem en un programa de manejo integrado es una practica viable; ya sea utilizando *P. lilacinus* o aceite de neem, ya que al compararlos con el tratamiento químico los resultados fueron de mayor efectividad. Estos datos demuestran que la incorporación de estos productos puede reducir dramáticamente la aplicación de productos químicos al suelo. Cabe señalar que puede existir variación de los resultados en los diferentes parámetros evaluados en diferentes campos, esto puede consistir a que el patógeno no se encuentre de manera homogénea en el suelo.

CONCLUSIONES

1.- La aplicaciones de *P. lilacinus* y *aceite de neem* incrementaron la producción de frutos de pepino con relación al testigo y control químico. Ambos productos pueden ser una alternativa para utilizarse dentro de un manejo integrado en el control de *M. incognita* y así disminuir las aplicaciones de productos químicos.

2.- *Paecilomyces lilacinus* redujo las poblaciones de larvas, así como una disminución de agallas (29%) y una efectividad biológica del 62%, mientras que en aceite de neem el índice de agallamiento fué de un 35% y la efectividad biológica del 43%.

3.- La combinación de *P. lilacinus* y aceite de neem mostró una buena efectividad biológica, pero existió un mejor control en los tratamientos por separados.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W.S. 1979.** Method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:265-267.
- Baker, K. F., Townshend, J. L., Michell, R. E., Norton. D. C. and Ruehle, J. L. 1978.** Determining nematode population responses to control agents. E.I Zehrr and Bird, G. Editores in *Methods for evaluating plant fungicides, nematicides and bactericides.* APS. St Paul Minnesota. Pp 114 – 126.
- Cardenas, V.O. 2000.** Eficacia en el control químico de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora capsici* en los cultivos de tomate, chile y sandía. Maestría en ciencias opción protección vegetal Univesidad Autonoma de Sinaloa. pp. 60-63.
- Carrillo, F.A., García, E.R., Allende, M.R., Márquez, Z.I., y Cruz, O.J. 2000.** Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 18: 2: 115-119.
- Cepeda, S.M. 1996.** *Nematología Agrícola.* Primera Edición. Editorial Trillas, Mexico. pp. 10-65.
- Cox, A. 1981.** Neem-Pesticide Potential. *Int. Pest Control.* pp. 68-70, 78.
- Dávila, M., N. Acosta, C. Betancourt y J. Negrón. 1999.** Capacidad quitinolítica de hongos aislados de suelos agrícolas infestados con el nemátodo nodulador (*Meloidogyne* spp.) en Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 83(3-4): 189-199.
- Delgadillo, S. F. y Urías, M. C. 1991,** *Enfermedades de las hortalizas* (José Ramírez Villapudua) ESA-UAS, Culiacán, Sinaloa.

Devakumar, C., Goswami, B.K. and Mukerjee, S.K. 1985. Nematicidal principles from neem (*Azadirachta indica* A. Juss). Part 1 – Screening of neem kernel fractions against *Meloidogyne incognita*. Indian J. Nematol. 15, 121–4.

Eisenback, J. D; Sasser, J. N and Triantaphyllou. 1981. Guía para la identificación de cuatro especies más comunes del nematodo agallador *Meloidogyne* spp. Departament of plantsand genetics.

Fuente USDA. 2004. Mexico fruit and vegetable crossing report/CNPH.

Ferron, P., Hurpín, B and Roberts, P. 1972. "Sur la spécificité de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. " Entomophaga. 17 : 165- 178 .

Gómez, R. O; Zavaleta, E. M y Carrillo F. 1991. Efecto del cultivo e incorporación del cempasúchil sobre el nematodo falso agallador. Depto de parasitología, Universidad Aunomoma de Chapingo. Centro de fitopatología, colegio de postgraduados, Montecillo, México.

Holland, R.J; Williams, K. y Khan. A. 1998. Infection of *Meloidogyne javanica* by *Paecilomyces lilacinus*. School of biological sciences. Nematology, Vol. 1 (2) 131-139.

Lara-Martes, J., Acosta, N y Vicente, N. 1993. Exoesqueleto de camarón para controlar el nemátodo nodulador, *Meloidogyne incognita*, en tomate en el invernadero. J. Agric. Univ. P.R. 77(3-4): 229-236.

Mahmood, I. and Akhtar, M. 1996. Efecto de plantas basadas en nimin y algunos aceites vegetales sobre nematodos. Instituto de agricultura y departamento de botánica. Nematology mediterr. 24:3-5.

- Mohammad, A. 2000.** Nematicidal potencial of neem tree *Azadirachta indica* (A. Juss). Integrated pest Management reviews 5: 57-56.
- Noling, J.W. 2005.** Nematode management in tomatoes, peppers and eggplant. Department entomology and nematology. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. pp. 2-16.
- Núñez, S.E.2002.** Aislamiento y evaluación de hongos nematófagos asociados a quistes de *globodera rostochiensis* (Woll.) en la region del cofre. Universidad de Colima, Maestria en ciencias. Area Biotecnologica.
- Prot. J.C. and Kornprobst, J.M. 1983.** Effect *Azadirachta indica*, *Hannoa undulada* and *Honnoa klainana* seeds extract on the ability of *Meloidogyne javanica* juveniles to penetrate tomato roots. *Revue Nematol.* 6:330.
- Rao, M.S. and R.P. Reddy. 1997.** Integrated magnament of root knot nematode *Meloidogyne javanica* infecting tomatoe using organic materials and *Paecilomyces lilacinus*. Bioresource technology 61: 247-250.
- Schenck, S. 2004.** Control of nematodes in tomato with *Paecilomyces lilacinus* strain 251. Hawai Agricultura research center. Vegetables report vol:5
- Syed, F. A. and Tabreiz, A. K. 2004.** Management of root-knot nematode, *meloidogyne incognita*, by integration of *paecilomyces lilacinus* with organic materials in chilli. Section of plant pathology and nematology, department of botany, aligarh muslim university aligarh, India. Phytopathology and plant protection. Vol. 37, pp. 35-40.
- Saxena, R.C., Liquido, N.J. y Justo, H.D. 1980.** Neem seed oil, a potential antifeedant for the control of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. In: Natural Pesticides from the Neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) Proc. Ist. Int. Neem Conf. (W. Germany, 1980) pp. 171-188.

Schulz, W.P. 1981. Pathological alterations in the ovarioles of *Epilachna varivestis* induced by an extract from neem kermels. Proc. 1st. Int. Neem Conf. (W. Germany, 1980), pp. 81-96.

Sharma, H.C., Leuschner, K., Sankaram, A.V., Gunasekhar, D., And Sultana. N. 1983. Insect antifeedants and growth inhibitors from *azadirachta indica* and *Plumbago zeylanica*. Proc.2nd int. Neem Conf. Rauuischhlolzhausen pp. 291-230.

Thomason, I.J. 1987. Challenges facing nematology: Environmental risks with nematicides and the need for new approaches. In J.A. Veech and D.W. Dickson (eds) Hyattsville, MD: Society of Nematologists, USA. Vistas on Nematology, pp. 469-79.

Zaki, F.A.1994. Dose optimization of *Paecilomyces Illacinus* for the control of *Meloidogyne javanica* on tomato. Division of entomology, S.K. University of Agricultural Sciences and Technology Sbalimar. Nematol, medit vol:22:45-47.

Schulz, W.P. 1981. Pathological alterations in the ovarioles of *Epilachna varivestis* induced by an extract from neem kernels. Proc. 1st. Int. Neem Conf. (W. Germany, 1980), pp. 81-96.

Sharma, H.C., Leuschner, K., Sankaram, A.V., Gunasekhar, D., And Sultana. N. 1983. Insect antifeedants and growth inhibitors from *azadirachta indica* and *Plumbago zeylanica*. Proc.2nd int. Neem Conf. Rauischhlohhausen pp. 291-230.

Thomason, I.J. 1987. Challenges facing nematology: Environmental risks with nematicides and the need for new approaches. In J.A. Veech and D.W. Dickson (eds) Hyattsville, MD: Society of Nematologists, USA, Vistas on Nematology, pp. 469-79.

Zaki, F.A.1994. Dose optimization of *Paecilomyces lilacinus* for the control of *Meloidogyne javanica* on tomato. Division of entomology, S.K. University of Agricultural Sciences and Technology Sbalimar. Nematol, medit vol:22:45-47.

Schulz, W.P. 1981. Pathological alterations in the ovarioles of *Epilachna varivestis* induced by an extract from neem kernels. Proc. 1st. Int. Neem Conf. (W. Germany, 1980), pp. 81-96.

Sharma, H.C., Leuschner, K., Sankaram, A.V., Gunasekhar, D., And Sultana. N. 1983. Insect antifeedants and growth inhibitors from *azadirachta indica* and *Plumbago zeylanica*. Proc.2nd int. Neem Conf. Rauischhlolzhausen pp. 291-230.

Thomason, I.J. 1987. Challenges facing nematology: Environmental risks with nematicides and the need for new approaches. In J.A. Veech and D.W. Dickson (eds) Hyattsville, MD: Society of Nematologists, USA. Vistas on Nematology, pp. 469-79.

Zaki, F.A.1994. Dose optimization of *Paecilomyces lilacinus* for the control of *Meloidogyne javanica* on tomato. Division of entomology, S.K. University of Agricultural Sciences and Technology Sbalimar. Nematol, medit vol:22:45-47.