

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA  
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS



**TESIS**

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE NEMATODOS  
FITOPARÁSITOS EN EL CULTIVO DE PAPAYA Y SU  
INTERACCIÓN CON CARACTERÍSTICAS EDÁFICAS  
QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA  
JOSÉ ÁNGEL MARTÍNEZ GALLARDO

DIRECTOR DE TESIS  
DR. TOMÁS DÍAZ VALDÉS

DIRECTOR EXTERNO  
M. C. JOSÉ ARMANDO CARRILLO FASIO

CULIACÁN ROSALES, SINALOA, SEPTIEMBRE DE 2013

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR EL C. JOSÉ ÁNGEL MARTÍNEZ GALLARDO,  
BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, HA SIDO  
APROBADA POR EL MISMO, Y ACEPTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**COMITÉ PARTICULAR**

DIRECTOR DE TESIS

  
DR. TOMÁS DÍAZ VALDÉS


DIRECTOR EXTERNO

  
M. C. JOSÉ ARMANDO CARRILLO FASIO

ASESOR

  
DR. LEOPOLDO PARTIDA RUVALCABA


ASESOR

  
DR. RAÚL ALLENDE MOLAR

ASESOR

  
DR. JOSÉ BENIGNO VALDEZ TORRES

ASESOR

  
M. C. MARINO VALENZUELA LÓPEZ

CULIACÁN ROSALES, SINALOA, SEPTIEMBRE DE 2013



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE  
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 20 de enero del año 2020, el que suscribe José Ángel Martínez Gallardo, alumno del Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 03341364, de la Unidad Académica Facultad de Agronomía, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Tomás Díaz Vadés y del M. en C. José Armando Carrillo Fasio y cede los derechos del trabajo titulado “Identificación y cuantificación de nematodos fitoparásitos en el cultivo de papaya y su interacción con características edáficas”, a la Facultad de Agronomía, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

---

José Ángel Martínez Gallardo

CORREO ELECTRÓNICO: jose\_angel\_13@hotmail.com  
CURP: MAGA881113HSLRLN04

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS:**

Por dejarme existir y haberme guiado por este camino, en el cual estoy a punto de lograr mi segunda meta de convertirme en Maestro en Ciencias Agropecuarias y seguir demostrando que querer, es poder.

### **A MIS ABUELOS:**

Por darme sus ejemplos de vida, su cariño, cuidarme y darme sus bendiciones desde donde estén.

### **A MIS PADRES:**

Por sus sacrificios, desvelos, cariño, amor, pero sobre todo confianza que en mí han depositado, espero con esto seguir haciéndolos sentir orgullosos y retribuir en algo todo lo que me han dado.

### **A MI HERMANA:**

Por ser mi compañera inseparable, por darme su cariño y por aguantarme.

### **A MARIEL CURIEL:**

Por su apoyo y cariño en esta etapa en la que me ha acompañado.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado durante mi maestría.

Al proyecto 2011-163213 “El manejo integral del cultivo de papaya en México, un acercamiento innovador” de SAGARPA por el financiamiento brindado para la realización de esta tesis de maestría.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, por permitirme formar parte de ella y así poder sentirme orgulloso de ser universitario.

Al Colegio de Ciencias Agropecuarias por permitirme formar parte de él y todo el apoyo brindado por las personas que en él laboran, en especial: DR. Romo, DRA. Idalia, y Gaby.

A la Facultad de Agronomía, por abrirme sus puertas y transmitirme sus grandes conocimientos mediante sus profesores y personal que en ella laboran, los cuales me servirán y abrirán más puertas en el camino que he emprendido.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Coordinación Culiacán, por seguirme aceptando y abriendo las puertas de todos sus laboratorios y conocimientos que en él se encuentran.

A M. C. José Armando Carrillo Fasio, porque sigue brindándome su confianza, sabiduría y conocimientos, pero sobre todo por su amistad incondicional.

A M. C. Manuel Alonzo Báez Sañudo por transmitirme sus conocimientos, experiencias y por su amistad incondicional.

A DR. Tomás Díaz Valdés, por su rigor en el aula, su guía en distintos procesos y por su amistad.

A DR. Leopoldo Partida Ruvalcaba por la oportunidad de formar parte del posgrado que el coordina, la guía y ayuda durante todos los procesos y por su amistad.

A DR. Raúl Allende Molar por el apoyo brindado a través de sus conocimientos, asesorías y disponibilidad, sin mencionar su amistad.

A DR. José Benigno Valdéz Torres por darme un espacio en su apretada agenda para asesorías, consejos y amistad.

A DR. Raymundo Saúl García Estrada por sus asesorías y amistad.

A M. C. Marino Valenzuela López por la supervisión en el presente trabajo y su amistad.

A I.B.Q. Rosalba Contreras Martínez, por su amistad incondicional, conocimientos, apoyo, regañones, pleitos y supervisión del presente trabajo, gracias “JEFA”.

A Ing. Isidro Márquez Zequera, por todo el apoyo brindado a lo largo de mi estancia en el laboratorio de fitopatología, sus conocimientos y por su amistad.

A Ing. Yoshio Smith Félix Gutiérrez, por sus conocimientos, experiencias en malla sombra e invernaderos, convivencias, pero más por su amistad sincera.

A biólogo José Alfonso Ortiz Meza por todo el apoyo técnico para los estudios de biología molecular realizados.

A Luis Alfredo Osuna García por su amistad y colaboración en la realización del trabajo.

A María Trinidad Valdéz Morales por su ayuda durante la realización de este trabajo, pero sobre todo por su amistad incondicional.

A todos mis compañeros y amigos que para no herir sentimientos ni omitir alguno los menciono como “todos”, por el buen humor, algunos momentos difíciles, sugerencias, consejos, pero sobre todo por su amistad.

## CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
RESUMEN GENERAL	XII
GENERAL ABSTRACT	XIV
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1. Caracteres de la papaya	1
1.2. Importancia económica de la papaya	2
1.3. Cultivo de la papaya en Colima, México	4
II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	9
III. HIPÓTESIS	9
IV. OBJETIVO GENERAL	10
V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
VI. REVISIÓN DE LITERATURA	11
6.1. Nematodos fitoparásitos	11
6.2. Ecología y distribución	11
6.3. Síntomas ocasionados por los nematodos	12
6.4. Importancia del género <i>Meloidogyne</i> en los cultivos frutícolas	13
6.5. Ciclo de vida y parasitismo de <i>Meloidogyne</i> spp.	14
6.6. Identificación morfológica (tradicional) de nematodos fitoparásitos	17
6.7. Identificación mediante técnicas moleculares de nematodos fitoparásitos	18



6.8. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	18
6.9. Visualización de ADN: la electroforesis	20
VII. CAPÍTULO I	21
IDENTIFICACIÓN DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS EN EL CULTIVO DE PAPAYA ( <i>Carica papaya</i> L.) EN COLIMA, MÉXICO	21
RESUMEN	21
ABSTRACT	21
INTRODUCCIÓN	22
MATERIALES Y MÉTODOS	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	30
LITERATURA CITADA	32
VIII. CAPÍTULO II	35
NEMATODOS FITOPARÁSITOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE PAPAYA Y SU RELACIÓN CON FACTORES EDÁFICOS, EN EL ESTADO DE COLIMA, MÉXICO	35
RESUMEN	35
ABSTRACT	36
INTRODUCCIÓN	37
MATERIALES Y MÉTODOS	39
Muestreo	39
Determinación de características edafológicas	40
Umbral de daño para <i>Meloidogyne incognita</i>	40

Análisis estadístico	42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
Características edafológicas	43
Asociación entre géneros de nematodos fitoparásitos y características edáficas	46
Análisis de regresión	47
Umbral de daño para <i>Meloidogyne incognita</i>	49
CONCLUSIONES	50
LITERATURA CITADA	52
IX. CONCLUSIONES GENERALES	56
X. LITERATURA CITADA	58
XI. ABREVIATURAS	63
XII. APÉNDICE	65

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1 Ubicación de huertos de papaya donde se realizó el muestreo de suelo y raíces, con el fin de detectar nematodos fitoparásitos en los municipios de Colima y Tecomán, Colima, México.	24
2 Frecuencia poblacional, porcentaje de géneros y municipios donde se identificaron nematodos fitoparásitos asociados y presentes en cultivos de papaya en Colima, México.	29
3 Codificación de variable cualitativa materiales.	43
4 Codificación de la distribución poblacional de nematodos.	43
5 Ubicación y tipo de textura edáfica de huertos de papaya donde se realizó el muestreo de suelo y raíces, con el fin de detectar nematodos fitoparásitos en los municipios de Colima y Tecomán, Colima, México.	45
6 Tabla de contingencia de los géneros de nematodos fitoparásitos y textura de suelos.	46
7 Modelo de regresión lineal múltiple con variables significativas.	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
1 Planta de papaya ( <i>Carica papaya</i> L.).	1
2 Fruto de papaya.	2
3 Municipios del estado de Colima, México.	4
4 Microfotografía del patrón perineal de una hembra de <i>Meloidogyne incognita</i> aislada de plantas papaya del estado de Colima, México.	27
5 Gel de agarosa al 1% mostrando el fragmento de ADN amplificado a partir de hembras de <i>Meloidogyne incognita</i> en muestras de nematodos Rancho Primavera.	28
6 Daño de <i>Meloidogyne incognita</i> , en plantas de papaya, en Colima, México. A) y B), síntomas aéreos, C) y D), síntomas en raíz.	30
7 Gráfica de distribución entre géneros de nematodos fitoparásitos y texturas edáficas.	47
8 Raíces de papaya con presencia de agallas (flechas) inducidas por <i>Meloidogyne incognita</i> , después de 60 días de inoculadas. A) "Maradol", B) "Tainung" y C) "Sensation".	49
9 Porcentaje de severidad del agallamiento en papaya "Maradol", "Tainung" y "Sensation", con diversa población de inóculo.	50

## RESUMEN GENERAL

El presente trabajo de investigación, tuvo como objetivos identificar y cuantificar los nematodos fitoparásitos asociados y presentes en el cultivo de papaya, así como conocer su interacción con factores edáficos (textura, contenido de materia orgánica, conductividad eléctrica y pH) y materiales de papaya (“Maradol”, “Tainung” y “Sensation”), además de determinar el umbral de daño para los géneros de nematodos fitoparásitos presentes. Se colectaron muestras de raíz y suelo rizosférico en 10 predios con los tres materiales de papaya, en los municipios de Colima y Tecomán. Las muestras de suelo colectadas se utilizaron tanto para identificar y cuantificar los géneros de fitonematodos asociados al cultivo, como para determinar las características edáficas presentes en cada sitio de muestreo. En raíces agalladas, se procedió a la identificación de fitonematodos presentes, para lo cual se analizaron patones perineales de las hembras y se confirmó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), identificándose a la especie de *Meloidogyne* como *incognita*. Se realizó una prueba ji-cuadrada de Pearson para probar la asociación entre los géneros de fitonematodos y los distintos tipos de texturas edáficas; así mismo, un análisis de regresión lineal múltiple a la variable dependiente población de nematodos fitoparásitos y las características edáficas de los suelos donde están establecidos los huertos. Además, se determinó el umbral de daño de *Meloidogyne incognita* en los tres materiales de papaya. Los géneros de fitonematodos identificados fueron: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus*, y *Meloidogyne*, con la especie *M. incognita*. Los resultados permiten el

reporte por primera vez de *M. incognita*, afectando el cultivo de papaya en Colima, México. Las texturas de suelo identificadas fueron arenoso franco, franco arenoso, franco arcillo arenoso y arenoso. Los géneros de fitonematodos y materiales de papaya no resultaron correlacionados. Sin embargo los géneros de fitonematodos y tipos de textura, resultan correlacionados, por lo cual conocer el tipo de textura nos ayuda a conocer los posibles géneros de fitonematodos presentes, siendo la textura arenosa franca la más apta para el ciclo de vida de los fitonematodos. Los umbrales de daño para *M. incognita* son dos larvas por cada 100 g de suelo para los materiales “Maradol” y “Sensation” y cinco larvas por cada 100 g de suelo para el material “Tainung”.

## GENERAL ABSTRACT

This research work aimed to identify and quantify the associated parasitic nematodes present in the culture of papaya, as well as determining their interaction with soil factors (texture, organic matter content, electrical conductivity and pH) and papaya materials ("Maradol", "Tainung" and "Sensation"), also to determine the damage threshold for parasitic nematodes present. Root samples and rhizosphere soil were collected in 10 plots with the three materials of papaya, in the municipalities of Colima and Tecomán. The soil samples were used to identify and quantify phytonematodes genres associated with the culture and also to determine soil characteristics present in each sampling site. In galled roots, we proceeded to the identification of plant parasitic nematodes present, which were analyzed the perineal patones females and confirmed by polymerase chain reaction (PCR), identifying the specie *Meloidogyne as incognita*. A Pearson chi-square was made to test the association between phytonematodes genres and different types of soil textures, likewise, a multiple linear regression analysis with the variable dependent population of plant parasitic nematodes and soil characteristics where the orchards are established. Furthermore, the damage threshold of *Meloidogyne incognita* was determined in the three materials of papaya. The genera of plant parasitic nematodes that were identified are: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus*, and *Meloidogyne*, with the species *M. incognita*. The results allow the first report of *M. incognita*, affecting papaya culture in Colima, Mexico. The identified soil textures were loamy sand, sandy loam, sandy clay loam and sandy. Phytonematodes genres and

papaya materials were not correlated. However phytonematodes genres and types of texture, are correlated, so knowing the type of texture helps us to know the possible phytonematodes genres presents, being loamy sand texture the most suitable for the life cycle of the plant parasitic nematodes. Damage thresholds for *M. incognita* are two larvae per 100 g of soil for materials "Maradol" and "Sensation" and five larvae per 100 g of soil for the material "Tainung".



## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1.1. Caracteres de la papaya

La papaya (*Carica papaya* L.) es una planta de la familia *Caricaceae*, dicotiledónea y polígama, además de ser una planta gigante, herbácea y perennifolia, de crecimiento rápido, alcanzando hasta 10 m de alto y generalmente de vida corta (Figura 1). Cuando llega a la etapa de producción, su fruto es una baya hueca de exocarpo (cáscara) delgado y suave, y mesocarpo carnoso que rodea la cavidad interna, donde contiene muchas semillas pequeñas de color negro o gris oscuro, rodeadas por un arilo jugoso y unidas a la placenta en posición parietal, con forma elipsoide a esférica (Figura 2) (Crane, 2008).



**Figura 1.** Planta de papaya (*Carica papaya* L.).



**Figura 2.** Fruto de papaya.

## **1.2. Importancia económica de papaya**

En el año 2010 la producción mundial de papaya fue de 11'203,361 t, siendo los principales productores India, Brasil, República Dominicana, Nigeria, Indonesia y México. México ocupa el sexto lugar como productor y el primer lugar como exportador a nivel mundial, con una producción de 616,215 t (FAOSTAT, 2012). En 2009, México exportó 134,960 t, lo que representó el 19% de la producción nacional y el 49% de las exportaciones mundiales, con un valor económico de 74.966 millones de dólares (SIAP-SAGARPA, 2012). Actualmente las exportaciones de papaya superan los 78 millones de dólares (PROPAPAYA, 2012).

La papaya se ubica entre las frutas tropicales de importancia económica con las que el hombre ha expandido más rápidamente su producción, con una expectativa de 13 millones de t para el 2014, de lo cual América Latina aportará el 30% de la producción (FAOSTAT, 2012). Además, las importaciones proyectadas para 2014 indican un aumento de 5.6% en volumen, alcanzando 363,717 t (SIAP-SAGARPA, 2012). Los principales importadores serán Estados Unidos, Unión Europea y Japón,

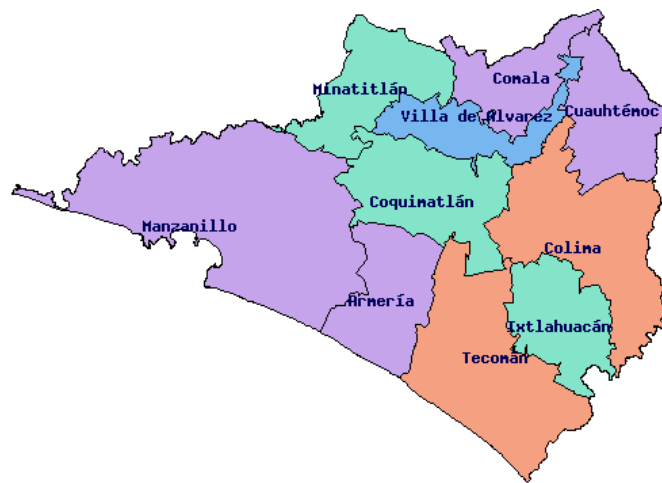
de los cuales se espera que Estados Unidos permanezca como el mayor importador mundial con 134,445 t, lo que representa el 30% del comercio global de papaya (FAOSTAT, 2012). Con estas consideraciones de crecimiento en las importaciones de papaya y con Estados Unidos como principal mercado, México tiene grandes expectativas de crecimiento en la producción de papaya en las principales zonas productoras del país (PROPAPAYA, 2012).

En México, la papaya es un cultivo que se distribuye por el Golfo de México desde Tamaulipas hasta la Península de Yucatán; por el Océano Pacífico desde Baja California hasta Chiapas. Los principales estados productores de papaya son Chiapas, Veracruz, Oaxaca y Colima con rendimientos alrededor de 60 t ha<sup>-1</sup> (SIAP-SAGARPA, 2012). Estos estados representan más del 50% de la superficie cosechada y del 60% de la producción a nivel nacional (PROPAPAYA, 2012).

De 2009 a 2011, el estado de Colima, incrementó la superficie sembrada con papaya en más de un 40%, colocándose en la segunda posición como productor nacional, teniendo establecidas cerca de 2,100 ha y obteniendo una producción alrededor de las 123,900 t, con aproximadamente 100 productores (PROPAPAYA, 2012). Este estado tiene productores y empaques certificados de papaya (SIAP-SAGARPA, 2012). Además, es el primer estado en incursionar con nuevas variedades híbridas de papaya para exportación: "Tainung" y "Sensation", que son comercializadas en Estados Unidos y Canadá. La variedad "Maradol" sólo es consumida por el 5% de la población estadounidense y con estos otros dos híbridos se podrá aumentar la participación del mercado para 2013 (PROPAPAYA, 2012). En los últimos tres años,

las exportaciones de Colima han sido en más de 100 mil t, con un precio promedio de 20.5 dólares por caja de 30 a 35 lb en el mercado internacional (FAOSTAT, 2012).

En el estado de Colima, sus 10 municipios (Figura 3) son productores de papaya, excepto Comala, siendo los municipios de Ixtlahuacán, Colima, Tecomán y Armería, los que más superficie y producción tienen de papaya; además, que en éstos, se producen las nuevas variedades híbridas (PROPAPAYA, 2012).



**Figura 3.** Municipios del estado de Colima, México.

### **1.3. Cultivo de papaya en Colima, México**

En la región papayera de Colima, la producción de frutas para exportación es considerada como una de las más modernas. Esto es debido a la utilización de tecnología moderna que incluye, entre otras cosas, el uso de la fertirrigación con acolchados plásticos para retener por un mayor tiempo la humedad, control de malezas y patógenos mediante la fumigación del suelo, aplicación del control

biológico y la práctica de agricultura orgánica de los campos agrícolas (SAGARPA, 2011).

Las prácticas antes señaladas han ocasionado un efecto en el comportamiento de la microflora, microfauna, plantas superiores, y las interrelaciones entre ellas. Ello ha originado alteraciones en las condiciones del suelo, en las que se incluyen textura, temperatura, humedad, aireación, pH, fertilidad y contenido de materia orgánica. Estos factores han propiciado que las poblaciones de microorganismos antagonistas a patógenos como: *Glomus intraradices*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* fluorescentes y otros, así como el tipo de microorganismos saprófitos, disminuyan a niveles que no pueden contrarrestar las poblaciones de microorganismos parásitos de plantas (Sánchez y Talavera, 2013).

Los acolchados plásticos y riego por goteo presurizado han permitido optimizar el uso de agua y fertilizantes, así como maximizar el potencial productivo. El cambio del sistema tradicional de riego por gravedad al moderno, ha implicado cambios drásticos en el manejo de la humedad del suelo y su medio ambiente, el cual es adecuado para los microorganismos que lo habitan, entre ellos los patógenos de plantas como *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium* spp., nematodos (*Meloidogyne incognita*) y otros (Ferrato y Alarcón, 2001).

En los cultivos sin acolchados, la humedad del suelo queda distribuida formando un microclima en la parte aérea de las plantas; esta humedad juega un papel muy importante en la presencia de enfermedades del follaje de las plantas, como “los

tizones” causados por *Alternaria* spp., “tizón tardío” por *Phytophthora infestans*, bacteriosis y mildius (García, 2011).

El riego por goteo presurizado también ha influido en la labranza mínima de suelos, aunado a ello, frecuentemente los residuos de cosecha son quemados dentro o fuera de lotes, y además en éstos difícilmente se puede implementar programas adecuados de rotación de cultivos. Esta falta de movimiento de tierra y de materia orgánica hace que el suelo se compacte y dificulte su aireación, lo que afecta el desarrollo de microorganismos benéficos y favorece el incremento de los fitopatógenos (Sánchez y Talavera, 2013).

En el cultivo de papaya se presentan diversos microorganismos fitopatógenos que inducen daños en las plantas y por ende disminución en la producción, entre estos factores bióticos sobresalen los hongos, bacterias, fitoplasmas, virus, y nematodos; éstos últimos se han reportado en el cultivo de papaya en Argentina, Brasil, México, Nicaragua, El Salvador, Costa Rica, Panamá, Jamaica, Puerto Rico, Bermudas, Surinam y Trinidad y Tobago (Sosa-Moss *et al.*, 1985). En estudios realizados en Argentina, se reporta la presencia en bajas poblaciones de los géneros, *Xiphinema*, *Tylenchus*, *Aphelenchus* y la especie *Meloidogyne javanica* (Jaraba y Lozano, 2002). En Costa Rica, se han reportado *Criconemella* spp., *Helicotylenchus* spp., *Meloidogyne arenaria*, *M. javanica*, *M. incognita*, *Paratylenchus* spp., *Pratylenchus* spp. y *Rotylenchulus reniformis* (Fernández y Quesada, 2009). Así mismo, en Brasil se han reportado las especies *Meloidogyne hapla*, *M. incognita* y *M. javanica*, atacando el sistema radical de papaya, causando agallas o daños mecánicos inducidos por la entrada del estilete (Chaful y De' Arc, 1994). En Colombia, Espinosa

*et al.* en el 2007, reportaron los géneros asociados *Aphelenchus*, *Criconemella*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Hoplolaimus*, *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Psilenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus* y *Xiphinema*.

Cuando el problema en un determinado cultivo es causado específicamente por nematodos fitoparásitos, es difícil realizar el diagnóstico en campo, salvo cuando éstos inducen síntomas característicos (agallas en raíces, hojas o semillas, presencia de quiste en raíces, anillo color rojo en cocotero, etc.); debido a estas razones, para determinar con certeza si la enfermedad es causada por nematodos, debe realizarse un análisis fitopatológico en laboratorios especializados, iniciándose con el muestreo que es un paso importante, seguido por el proceso de extracción e identificación de nematodos (Carrillo *et al.*, 2000).

Los nematodos se encuentran en casi todos los hábitats, y pueden pasar desapercibidos, ya que la mayoría de ellos son de tamaño microscópico, pero se ha reportado que afectan el sistema radical de las plantas, causando agallas o daños mecánicos o heridas que pueden facilitar la invasión secundaria de otros fitopatógenos como hongos o bacterias (Yáñez, 2001).

Uno de los principales problemas fitopatológicos en el cultivo de papaya y otros cultivos en México, es el nematodo agallador” *Meloidogyne* spp., que afecta a un amplio rango de hospederos (hierbas, arbustos y árboles); sin embargo, existen otros géneros y especies de nematodos que no han sido reportados, así como su relación

con las propiedades edafológicas y los umbrales de daño causados por cada especie de nematodo presente en el cultivo de papaya (SAGARPA, 2011).

En zonas papayeras del país, se considera que los nematodos fitoparásitos ocasionan pérdidas que oscilan desde un 5 a 60% (SIAP, 2012). Sin embargo, no existen datos precisos publicados sobre el porcentaje real de pérdidas (SAGARPA, 2011). Por lo que su detección e identificación para cada predio o región será de mucha importancia para determinar el umbral de daño, y con ello poder determinar las pérdidas reales ocasionadas por estos fitoparásitos, además de seleccionar el tipo de manejo o control para cada género de nematodo detectado.

Por lo anterior se plantearon las siguientes preguntas de investigación:

1. ¿Cuáles géneros de nematodos fitoparásitos y en qué cantidad están asociados y presentes en el cultivo de papaya en Colima, México?
2. ¿Cuál es la caracterización morfológica de los géneros de nematodos fitoparásitos asociados y presentes en el cultivo de la papaya en Colima, México?
3. ¿Cuál es la caracterización genética de los géneros de nematodos fitoparásitos presentes en el cultivo de papaya en Colima, México?
4. ¿Cuáles son las características edáficas que favorecen las poblaciones de géneros de nematodos fitoparásitos asociados y presentes en el cultivo de papaya en Colima, México?
5. ¿Cuál es el umbral de daño para los géneros de nematodos fitoparásitos presentes en el cultivo de papaya en Colima, México?



## **II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

En las zonas papayeras del país, y en especial la región “Centro-Occidente” de México, como es el caso de Colima (principal estado exportador), la producción de papaya variedad “Maradol” e híbridos “Tainung” y “Sensation” ha tomado gran importancia; sin embargo, en cada ciclo productivo se ha presentado un incremento de los problemas causados por nematodos, lo cual causa pérdidas en la producción que oscilan de un 5 a 60% (dependiendo del grado de severidad del nematodo) y de hasta 25,825,583.7 dólares, además de problemas como son: disminución de áreas de siembra e incremento en los costos de producción, debido a que no se tiene una clara información del daño ocasionado por los géneros de nematodos fitoparásitos que están atacando la raíz de la papaya. Por esta razón es importante identificar a los géneros de nematodos presentes en papaya, para generar información que sea útil en su manejo, así como saber si las propiedades edafológicas ejercen influencia sobre las poblaciones de nematodos fitoparásitos y cuántos nematodos fitoparásitos se necesitan para causar daño al cultivo.

## **III. HIPÓTESIS**

Al menos un género de nematodo fitoparásito presente, se encontrará en los huertos de papaya en Colima, México, en donde una o más de las propiedades edáficas le es favorable para incrementar su población.

#### **IV. OBJETIVO GENERAL**

El objetivo del presente trabajo fue identificar y cuantificar los géneros de nematodos fitoparásitos presentes y estimar su daño en el cultivo de papaya en huertos de Colima, México, así como determinar cuáles son las propiedades edáficas que más les favorecen.

#### **V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Caracterizar morfológicamente los géneros de nematodos fitoparásitos asociados y presentes en el cultivo de papaya en Colima, México.

Caracterizar genéticamente los géneros de nematodos fitoparásitos presentes en el cultivo de la papaya en Colima, México.

Identificar y cuantificar los géneros de nematodos fitoparásitos asociados y presentes en el cultivo de papaya, en Colima, México.

Determinar las características edáficas que favorecen el desarrollo de los géneros de nematodos fitoparásitos en suelos cultivados con papaya en Colima, México.

Determinar el umbral de daño para los géneros de nematodos fitoparásitos presentes en el cultivo de papaya en Colima, México.

## **VI. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **6.1. 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. A los nematodos se les considera como cosmopolitas debido a que se les puede encontrar en cualquier parte donde exista vida, incluyendo los desiertos, el fondo del mar, los hielos del antártico y manantiales termales. 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 (Sánchez y Talavera 2013).

### **6.2. 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 (Carrillo *et al.*, 2000).

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 perennes (Weiland, 2001).

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 (Weiland, 2001).

Aunque aún se conoce muy poco sobre la ecología de los nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp.), es sabido que la naturaleza del suelo, estructura, aireación y grado de humedad ejercen una gran influencia en la vida de los nematodos, así como el alimento (materia orgánica) y la competencia biológica (nematodos de vida libre). Además de los anteriores, se considera de gran importancia la textura y las características químicas de la solución del suelo (pH y conductividad eléctrica) (Yeates, 1996; Guzmán *et al.*, 2008).

### **6.3. 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, ramificación excesiva, puntas dañadas y pudriciones, 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, el marchitamiento excesivo en tiempo cálido o seco, una menor producción de las plantas y una baja calidad de sus productos (Sánchez y Talavera, 2013).

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 (Carrillo *et al.*, 2000).

El nematodo más importante en el ámbito mundial por el amplio rango de hospederos que ataca, así como su gran adaptación a diferentes condiciones ambientales y por los grandes daños que causa a plantas cultivadas, es el nematodo agallador *Meloidogyne* spp. (Muñoz, 2011).

#### **6.4. Importancia del género *Meloidogyne* en los cultivos frutícolas**

En varias partes del mundo se ha considerado al nematodo *Meloidogyne* como una de las principales plagas en los cultivos frutícolas; además, se ha reportado como una plaga de distribución cosmopolita y es considerado como el más importante dentro del grupo de los nematodos fitoparásitos que reducen significativamente la producción agrícola. Su importancia radica en su amplia distribución debido a su gran capacidad evolutiva para sobreponerse a las condiciones ambientales desfavorables, al grado de parasitismo y el tipo de reproducción partenogenética y anfigénica. Por lo que presentan gran adaptación y es frecuente observar su presencia en regiones

tropicales y subtropicales, así como en lugares con climas fríos, templados y cálidos (Cid del Prado *et al.*, 2001).

En México el nematodo agallador de raíces se ha reportado en al menos 23 de los 32 estados. El género *Meloidogyne* spp. afecta a plantas cultivadas y silvestres; actualmente se considera que en casi todos los cultivos son susceptibles al ataque del nematodo (Guzmán *et al.*, 2008).

### **6.5. Ciclo de vida y parasitismo de *Meloidogyne* spp.**

Una vez que los juveniles de segundo estado eclosionan del huevo, si se encuentran en el interior de las raíces infectan los tejidos cercanos y si por el contrario se encuentran en el exterior, migran en el suelo en busca del hospedante. Se ha demostrado que éstos son atraídos por emanaciones de CO<sub>2</sub> y aminoácidos provenientes de la zona de elongación y áreas de emergencia de raíces laterales, las que son captadas por sus órganos cefálicos sensoriales, fundamentalmente las anfidias (Karssen y Moens, 2006). Los juveniles de segundo estado, en su penetración y movimiento utilizan medios mecánicos y químicos. Como su estilete no es tan robusto que les permita perforar las paredes celulares, segregan enzimas digestivas que debilitan la lámina media entre las células (Fenoll y del Campo, 1998). Cuando los juveniles de segundo estado alcanzan el cilindro vascular en desarrollo, reconocen una célula particular y se establecen; dicha célula será la precursora del sitio de alimentación permanente. Los componentes de las secreciones de los nematodos son los responsables de disparar los mecanismos implicados en la inducción de dichos sitios de alimentación (Keen y Roberts, 1998; Abad *et al.*, 2003;

Williamson y Gleason, 2003). La formación de la célula gigante, como sitio de alimentación permanente en la planta, es el resultado de repetidas divisiones nucleares sin citocinesis. El resultado final es una célula grande multinucleada (Gheysen y Fenoll, 2002; Abad *et al.*, 2003). Al formarse estas células gigantes, se bloquean los vasos del xilema e inducen la multiplicación de células corticales, que aumentan tanto en tamaño como en número, produciéndose entonces una agalla o nudo en la raíz (Fenoll y del Campo, 1998; Almeida, 1999). El tamaño de la agalla está relacionado con la planta hospedante, el número de juveniles de segundo estado y la especie de nematodo (Karssen y Moens, 2006).

Después de establecidos los nematodos en el sitio de alimentación, los músculos de la pared de su cuerpo degeneran y quedan atrapados en el interior de las agallas o nódulos (Fenoll y del Campo, 1998; Keen y Roberts, 1998). A partir de este momento dependen absolutamente de dicha zona para abastecerse de agua y de nutrientes (Abad *et al.*, 2003). Una vez inmobilizados, pasan por una segunda, tercera y cuarta muda hasta alcanzar la fase adulta y la madurez sexual. Durante la última muda los machos cambian dramáticamente su forma y abandonan la raíz. Las hembras comienzan a engrosar su cuerpo y como consecuencia provocan ruptura de los tejidos de la planta quedando conectadas con su estilete al sitio de alimentación. Las hembras se reproducen asexualmente y segregan una matriz gelatinosa dentro de la cual depositan cientos de huevos (Karssen y Moens, 2006).

Los huevecillos inmersos en esta matriz gelatinosa, pueden quedar en el exterior de los tejidos o encerrados en el interior de la raíz hasta su eclosión. Dentro de los huevos se forma el primer estado larval y se produce la primera muda antes de

eclosionar (Karssen y Moens, 2006). La producción de huevecillos es un proceso muy perjudicial para la planta infestada, la formación de los mismos supone una gran demanda de agua, nutrientes y productos de la fotosíntesis (Fenoll y del Campo, 1998).

Los síntomas del ataque de *Meloidogyne* spp. son enanismo de la planta y amarillamiento de las hojas. Las plantas manifiestan síntomas de deficiencia de agua en las horas de mayor calor, aún en presencia de riego adecuado, lo cual se debe a la poca capacidad de la planta atacada para aprovechar el agua disponible (Weiland, 2001).

Los síntomas típicos se presentan en el sistema radical donde las plantas atacadas son en general más cortas y sin ramificaciones laterales, y el síntoma más característico es la formación de agallas o tumores. El sistema radical así deteriorado no es capaz de absorber el agua y los nutrientes disponibles en el suelo y, en consecuencia, las plantas sufren retardo en el crecimiento (Muñoz, 2011).

Las agallas son la manifestación externa del ataque de *Meloidogyne* spp. en el sistema radical; sin embargo, internamente sufre daños que se inician desde el momento de penetrar los juveniles del segundo instar (J2), cerca de las puntas de las raíces o en las zonas de elongación; al hacerse sedentario el patógeno, éste induce mediante secreciones a través del estilete, una serie de cambios en los tejidos radicales, como un aumento en el tamaño de las células (hipertrofia) que se encuentran cerca de la cabeza del nematodo y la multiplicación celular (hiperplasia) que da origen a las agallas. Las células hipertrofiadas son conocidas como “células



gigantes”, son las que proporcionan al nematodo la fuente de alimentación necesaria para su completo desarrollo y reproducción (Muñoz, 2011).

Al hacer un corte transversal de una agalla radical en una planta susceptible, se observa que ha perdido el arreglo normal de los tejidos, debido al desplazamiento de algunos de ellos, producido por la multiplicación anormal de las células, la formación de células gigantes y engrosamiento del nematodo dentro del tejido (Carrillo *et al.*, 2000). Esta disrupción de los tejidos, especialmente de los haces vasculares (floema y xilema), hace que en la planta se reduzca el flujo normal de agua y nutrientes desde las raíces a la parte aérea; como consecuencia se disminuye su crecimiento y manifiesta los síntomas de deficiencias nutricionales (Muñoz, 2011).

#### **6.6. Identificación morfológica (tradicional) de nematodos fitoparásitos**

La identificación de nematodos se ha basado tradicionalmente en la cuidadosa medición y comparación de las estructuras morfológicas de los mismos, dado que se han observado diferencias significativas en dichas estructuras. Sin embargo, algunas veces la discriminación entre especies se basa en medidas promedio de una población de individuos, lo cual puede llegar a complicarse cuando las poblaciones están compuestas por mezclas de especies muy estrechamente relacionadas entre sí (Powers, 2004).

El primer paso en el desarrollo de un protocolo de diagnóstico involucra la selección de un ejemplar o individuo representativo, lo cual es un punto crítico en el diagnóstico tradicional, por lo cual resulta extraño o irónico que en la mayoría de los estudios este paso es el menos examinado. Además, este es un paso muy delicado, que en la

mayoría de los casos requiere de un alto grado no solo de conocimiento sino también de habilidades por parte del investigador (Powers, 2004).

Por medio del diagnóstico tradicional se han logrado identificar aproximadamente 25,000 especies de nematodos y se estima que faltan por describir entre 10 y 40 veces más especies. Así, se piensa que los métodos moleculares pueden ayudar a agilizar este proceso (Powers, 2004).

Algunas de las desventajas de los métodos tradicionales de identificación incluyen los bajos niveles de sensibilidad y la necesidad de suficientes cantidades de material para los análisis. Además, se requiere de personal altamente calificado, con un alto grado de habilidad y especialización, ya que las diferencias morfológicas suelen ser muy pequeñas. Asimismo, esta técnica requiere de mucho tiempo, por lo que se han empezado a realizar estudios utilizando las técnicas moleculares, ya que brindan varias ventajas en el diagnóstico de nematodos (Bates *et al.*, 2002).

### **6.7. Identificación mediante técnicas moleculares de nematodos fitoparásitos**

Como se mencionó, el uso de técnicas de diagnóstico tradicionales o morfológicas puede presentar una serie de desventajas, por lo que se han desarrollado una gran cantidad de métodos alternos a éstos, para facilitar el diagnóstico de nematodos.

### **6.8. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica que permite multiplicar exponencialmente pequeños fragmentos de ADN, es un procedimiento experimental que reproduce en un tubo de ensayo un proceso esencial en la vida de la célula: la

replicación del material genético. Es indispensable la presencia de una ADN polimerasa termoestable (*Taq* polimerasa o Pful), imprimadores que flanquean la región de ADN patrón que se desea amplificar, dNTPs (A, C, G, T) para la síntesis de las cadenas complementarias, cofactores como el  $Mg^{2+}$  y un amortiguador de reacción que optimizan la actividad de la ADN polimerasa (Madriz, 2005).

La PCR ha ampliado enormemente el poder de la investigación del ADN recombinante y ha encontrado aplicaciones en un amplio rango de disciplinas, incluyendo la biología molecular, la genética y la evolución. Una de las grandes ventajas de esta técnica radica en que, a diferencia de otras técnicas de ADN recombinante, en las que se requiere la disponibilidad de grandes cantidades de un segmento específico de ADN, la PCR permite la amplificación directa de segmentos de ADN específicos sin clonación, y pueden utilizarse fragmentos de ADN que están presentes en cantidades ínfimamente pequeñas. Además, la PCR tiene la ventaja de ser más rápida y menos laboriosa que las técnicas de clonación convencionales, y ha reemplazado la utilización de sondas clonadas en campos como el diagnóstico prenatal (Klug y Cummings, 1999).

Existen una gran variedad de técnicas moleculares que han sido utilizadas satisfactoriamente en la identificación de nematodos, entre las cuales se pueden citar:

- PCR Simple: PCR en la que se utiliza un único par de iniciadores, específicos o universales, para amplificar una secuencia de ADN.

- PCR-Multiplex: es una variante de la PCR que permite la amplificación simultánea de más de una secuencia de interés (blanco) en una reacción, por medio de la utilización de más de un par de iniciadores. La ventaja es que reduce el tiempo de diagnóstico, ya que se pueden identificar más de una especie en el mismo ensayo (Bulman y Marshall, 1997).

### **6.9. Visualización de ADN: la electroforesis**

La electroforesis en gel es una técnica crucial tanto para el análisis como para la purificación de los ácidos nucleicos. Cuando una molécula cargada se coloca en un campo eléctrico, migrará hacia el electrodo con la carga opuesta; los ácidos nucleicos son moléculas cargadas negativamente, debido a la presencia de grupos fosfato en su estructura, por lo que migrarán hacia el polo positivo (ánodo). Este campo eléctrico se aplica a geles o matrices, que consisten en una red compleja de poros, sobre los cuales las moléculas de ácidos nucleicos migrarán (Dale y Von Schantz, 2002).

Transcurrida la electroforesis, la localización relativa de los fragmentos se determina mediante distintos métodos de detección. La tinción con bromuro de etidio, una sonda fluorescente tras iluminación con luz ultravioleta, es un método generalizado de detección de fragmentos de ADN, ya que la sonda se intercala entre la doble hélice de ADN y emite luz (Dale y Von Schantz, 2002).

## VII. CAPÍTULO I

### IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS EN EL CULTIVO DE PAPAYA (*Carica papaya* L.) EN COLIMA, MÉXICO

#### RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivos identificar y cuantificar los géneros de nematodos fitoparásitos asociados y presentes en el cultivo de papaya (*Carica papaya* L.) en los municipios de Tecomán y Colima, Colima. Se seleccionaron diez huertos, de siete ranchos en los que se colectaron muestras de raíces y suelo rizosférico; en cada muestra se identificaron y cuantificaron las poblaciones de los fitonematodos. Para la identificación específica de *Meloidogyne*, se analizaron cortes perineales de las hembras y se confirmó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los géneros de fitonematodos detectados e identificados fueron: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus*, y *Meloidogyne*, con la especie *M. incognita*. Los resultados permiten el reporte por primera vez de *M. incognita*, afectando al cultivo de papaya en Colima, México.

#### ABSTRACT

This study aimed to identify and quantify the associated parasitic nematodes present in the culture of papaya (*Carica papaya* L.) in the municipalities of Tecomán and Colima, Colima. Ten orchards were selected, from seven ranches in which samples of roots and rhizosphere soil were collected, in each sample were identified and

quantified the populations of plant parasitic nematodes. For specific identification of *Meloidogyne*, perineal cuts were analyzed and confirmed females by polymerase chain reaction (PCR). The genera of plant parasitic nematodes that were detected and identified are: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus*, and *Meloidogyne*, with the specie *M. incognita*. The results allow the first report of *M. incognita*, affecting papaya culture in Colima, Mexico.

**Palabras clave:** suelo rizosférico, *Meloidogyne*, *Rotylenchulus*, reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

## INTRODUCCIÓN

En el cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.) se reportan enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos (Jaraba *et al.*, 2007). Los nematodos fitoparásitos colonizan y se alimentan causando daños en el sistema radical, favoreciendo la penetración de otros patógenos habitantes del suelo (Guzmán y Castaño, 2010). Este tipo de fitoparásitos se han reportado en cultivos de papaya en Costa Rica (Fernández y Quesada, 2009), Brasil (Chaful y De' Arc, 1994) y Colombia (Espinosa *et al.*, 2007); en México, solamente se ha reportado al nematodo agallador *Meloidogyne incognita* raza 1 en los estados de Michoacán y Morelos, así como a *M. arenaria* en Morelos (Cid del Prado *et al.*, 2001).

El conocimiento limitado de técnicas apropiadas para lograr producciones económicamente rentables de papaya, no ha permitido el desarrollo óptimo del cultivo. Los nematodos fitoparásitos han sido poco estudiados (Guzmán y Castaño,

2010). Sumado a estos factores, el manejo inadecuado de los agroquímicos en el cultivo (especialmente el uso de insecticidas, fungicidas, fertilizantes y nematocidas), la inestabilidad de los precios de la cosecha, los altos costos de los insumos agrícolas, entre otros factores, han contribuido a una reducción en la rentabilidad del cultivo de papaya en las áreas sembradas (Jaraba *et al.*, 2007). Por estas razones, en el presente estudio, se plantearon como objetivos identificar y cuantificar los géneros de nematodos fitoparásitos asociados y presentes en el cultivo de papaya en los municipios de Tecomán y Colima, Colima, México.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se tomaron muestras de suelo y raíz de plantas de papaya en diez huertos en los municipios de Colima y Tecomán, Colima, México. Considerando como criterio la selección de los predios la ubicación geográfica y el tipo de material o híbrido de papaya: “Maradol”, “Tainung” y “Sensation” (Cuadro 1). La superficie de cada huerto seleccionado, se dividió en tres lotes y de cada lote se tomaron diez sub muestras de raíz y suelo, las muestras se homogenizaron, y se tomó una muestra de aproximadamente 2.0 kg de suelo y 0.5 kg de raíz, por cada lote. Para cada punto de muestreo fue tomada la georreferenciación para lo cual se utilizó un equipo de GPS (eTrex H). Las muestras se analizaron en el laboratorio de fitopatología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C. Unidad Culiacán).

**Cuadro 1.** Ubicación de huertos de papaya donde se realizó el muestreo de suelo y raíces, con el fin de detectar nematodos fitoparásitos en los municipios de Colima y Tecomán, Colima, México.

Predio	Material/Híbrido	Municipio	Coordenadas
Rancho Villa	Sensation	Colima	19°14'38'' N, 103°46'27'' O
Rancho el Balcón	Maradol	Colima	19°14'33'' N, 103°48'27'' O
Fruti Oro	Maradol	Colima	19°12'07'' N, 103°48'41'' O
Fruti Oro	Tainung	Colima	19°12'07'' N, 103°48'41'' O
Rancho Primavera	Tainung	Tecomán	18°52'31'' N, 103°55'20'' O
Rancho Primavera	Maradol	Tecomán	18°52'31'' N, 103°55'20'' O
Rancho Cabeza de Toro	Maradol	Tecomán	18°46'15'' N, 103°45'09'' O
Rancho Cabeza de Toro	Sensation	Tecomán	18°46'15'' N, 103°45'09'' O
Chula Vista	Tainung	Tecomán	18°46'07'' N, 103°45'07'' O
Rancho Don Polo	Maradol	Tecomán	18°56'56'' N, 104°05'44'' O

Los nematodos filiformes se extrajeron mediante la técnica de tamiz-embudo (Cobb, 1918). Con el fin de extraer a las hembras adultas globosas de nematodo de las agallas, se trituraron las raíces para seleccionar a las hembras para su identificación a nivel género y especie. Los especímenes de hembras globosas obtenidos de raíces de cada una de las muestras procesadas, se sometieron a disección mediante un corte transversal debajo de la línea ecuatorial, eliminando la mitad anterior del cuerpo; a la mitad posterior se le realizaron cortes paralelos, dejando la región genital al centro. Sobre un portaobjeto limpio, se depositó una gota de lactofenol y sobre



ésta se colocaron los cortes de forma tal que la parte externa del modelo perineal hiciera contacto con la superficie del cubreobjetos. Para cada una de las muestras se realizaron un total de 50 cortes. Cada uno de los patrones o modelos perineales que presentaron las hembras, se comparó con los ya reportados en la clave pictórica de Eisenback *et al.* 1981.

Para la confirmación de la identidad de *Meloidogyne* a nivel especie, las raíces de papaya agalladas se lavaron con agua destilada para remover el suelo, se seleccionaron agallas individuales, de donde se extrajeron 50 hembras con una aguja de disección y se depositaron en un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml, posteriormente se añadió una alícuota de 45 µl de buffer de lisis (NaOH 50 mM), para ser sometido a lisis por calor a 95°C por 10 min. Agregándose posteriormente 45 µl de Tris-HCl (pH 8) y se centrifugó por 3 min a 10,000 rpm (Hu *et al.*, 2011); se recuperó el sobrenadante, para proceder con la PCR utilizando el par de iniciadores Mi-F (5'-GTGAGGATTCAGCTCCCCAG-3') y Mi-R (5'-ACGAGGAACATACTTCTCCGTCC-3'), que codifican para la región 28S ARNr (Hu *et al.* 2011).

Las reacciones de PCR se realizaron utilizando el sistema de PCR core Systems 1 (Promega). El volumen total de la mezcla de reacción fue de 25 µl para todas las reacciones. El contenido de la mezcla de reacción fue: 10 ng de ADN genómico, 5 µl de buffer de PCR 10x, 3 µl de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0.5 µl de cada dNTP (10 mM), 1 µl de cada iniciador, 0.2 µl de *Taq* polimerasa (5u/µl) y el resto de agua nanopura estéril. La amplificación del ADN se llevó a cabo en un termociclador (BIO-RAD T100), bajo

las siguientes condiciones de amplificación: 94°C por 2 min, 35 ciclos de 94°C por 30 s, 64°C por 30 s, 68°C por 1 min, seguidos de una extensión final a 72°C por 5 min.

Una alícuota del producto de PCR se visualizó en un gel de agarosa al 1%, teñido con 1 µl de bromuro de etidio (10 mg ml<sup>-1</sup>), y con un transiluminador (Benchtop UV). El registro fotográfico de los productos de PCR se obtuvo mediante una cámara digital (Panasonic). La respuesta positiva se definió como una banda visible de 1000 pb.

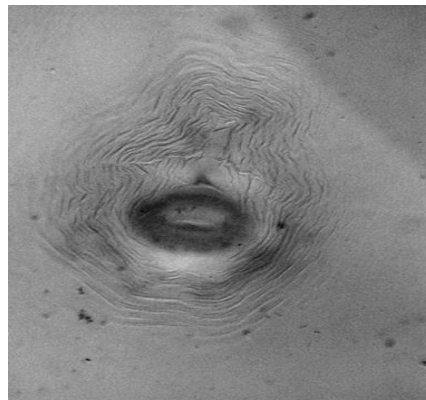
Por otro lado los especímenes filiformes extraídos mediante tamiz-embudo, se identificaron a nivel género, en base a sus características morfológicas mediante las claves taxonómicas de Luc *et al.* (1990) y Mai *et al.* (1964). Así mismo para el caso de juveniles y machos adultos de *Meloidogyne*, se midió la longitud del cuerpo, estilete, región hialina, cola y la distancia de los nódulos a la glándula esofágica dorsal, lo cual se realizó con en un microscopio óptico (Olympus) adaptado con una cámara y con el programa OLYMPUS DP2-BSW.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En las muestras de suelo y raíces analizadas, provenientes de las diferentes plantaciones de papaya en los municipios de Tecomán y Colima, Colima, México se identificaron a los géneros asociados: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus*; y *Meloidogyne*, específicamente *M. incognita*, causando daño al cultivo.

En base a la descripción de los caracteres observados para cada género y de acuerdo con la literatura, los resultados coinciden con lo reportado en Costa Rica (Fernández y Quesada 2009), y en Colombia (Espinosa *et al.*, 2007).

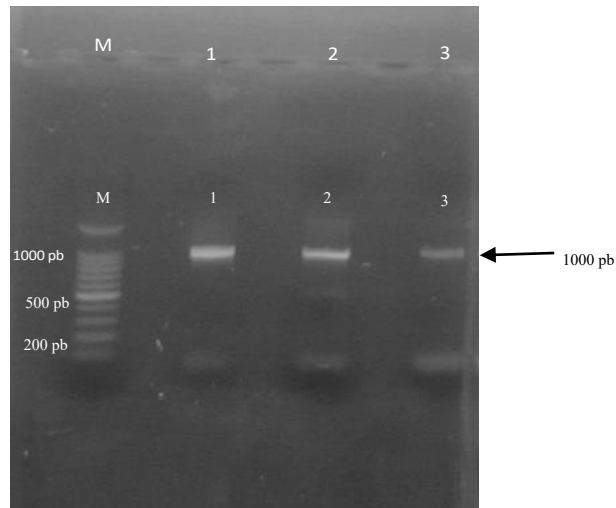
Las hembras de *M. incognita* se caracterizaron por ser periformes a redondeadas, midieron 608-813  $\mu\text{m}$  de largo y 332-589  $\mu\text{m}$  de ancho. El patrón perineal, presentó el arco dorsal alto y cuadrado, formado por estrías onduladas, sin campos laterales evidentes (Figura 4). El estilete midió de 12-16  $\mu\text{m}$  ( $14.3 \mu\text{m} \pm 0.6 \mu\text{m}$ ), con el cono curvado hacia la parte dorsal; la columna más ancha en la base con los nódulos del estilete anchos y planos. La distancia entre los nódulos del estilete y la glándula esofágica dorsal midió de 2-4.1  $\mu\text{m}$  ( $3 \mu\text{m} \pm 0.5 \mu\text{m}$ ), lo cual es típico de la especie *M. incognita*.



**Figura 4.** Microfotografía del patrón perineal de una hembra de *Meloidogyne incognita* aislada de plantas papaya del estado de Colima, México.

Las características morfológicas y morfométricas observadas en este estudio, coinciden con lo descrito por Eisenback (1985) y Jepson (1987), para *M. incognita* en raíces de papaya. Este resultado se confirmó mediante PCR. La reacción amplificó el

fragmento esperado de 1000 pb, lo que permitió identificar la especie como *M. incognita* (Figura 5).



**Figura 5.** Gel de agarosa al 1% mostrando el fragmento de ADN amplificado a partir de hembras de *Meloidogyne incognita* en muestras de nematodos Rancho Primavera.

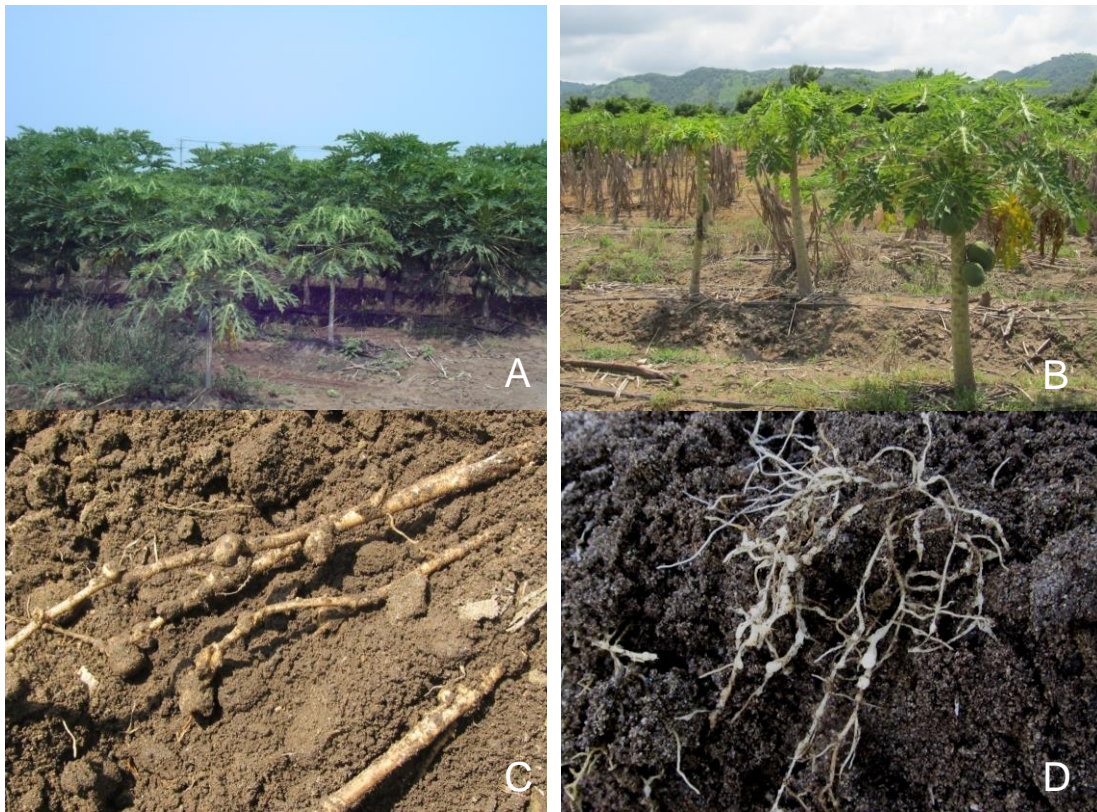
La frecuencia poblacional de nematodos detectados en papaya en Colima, México (Cuadro 2) muestra que los géneros de mayor prevalencia fueron: *Rotylenchulus* (57.66%), *Pratylenchus* (13.04%), *Helicotylenchus* (12.06%) y *Meloidogyne incognita* (10.36%), de una población total de 3689 nematodos fitoparásitos encontrados. Debido a su capacidad patogénica y daño directo al cultivo de papaya, se considera de importancia a la especie *Meloidogyne incognita*, que se detectó en el municipio de Colima en la variedad “Maradol” y en el municipio de Tecomán en los híbridos “Tainung” y “Sensation”.

**Cuadro 2.** Frecuencia poblacional, porcentaje de géneros y municipios donde se identificaron nematodos fitoparásitos asociados y presentes en cultivos de papaya en Colima, México.

<b>Género</b>	<b>Frecuencia poblacional</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Municipio(s)</b>
<i>Aphelenchus</i>	3	0.08	Colima
<i>Ditylenchus</i>	22	0.6	Tecomán
<b><i>Helicotylenchus</i></b>	445	12.06	Colima y Tecomán
<i>Paratylenchus</i>	32	0.87	Colima y Tecomán
<b><i>Pratylenchus</i></b>	481	13.04	Colima y Tecomán
<b><i>Rotylenchulus</i></b>	2127	57.66	Colima y Tecomán
<i>Rotylenchus</i>	108	2.93	Colima y Tecomán
<i>Trophurus</i>	5	0.14	Tecomán
<i>Tylenchorrhynchus</i>	28	0.76	Tecomán
<i>Tylenchus</i>	56	1.52	Colima y Tecomán
<b><i>Meloidogyne</i></b>	382	10.36	Colima y Tecomán
Total	3689	100	

Los nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp.) se han reportado en otros países de América asociados al cultivo de papaya (Sosa-Moss *et al.*, 1985). En México, este género de nematodos se ha reportado afectando diversos cultivos en diferentes zonas (Carrillo *et al.*, 2000; Cid del Prado *et al.*, 2001). En el presente trabajo sólo se encontró la especie *Meloidogyne incognita*, lo cual coincide con lo reportado por Cid del Prado *et al.*, (2001), en los estados de Michoacán y Morelos. En este estudio se identificó a *Meloidogyne incognita* afectando los materiales de papaya “Maradol”, “Tainung” y “Sensation” en plantaciones que manifestaban achaparramiento y

clorosis en la parte aérea, y en la raíz la presencia de agallas o tumores en los municipios de Colima y Tecomán (Figura 6).



**Figura 6.** Daño de *Meloidogyne incognita*, en plantas de papaya, en Colima, México.

A) y B), síntomas aéreos, C) y D), síntomas en raíz.

## CONCLUSIONES

Los géneros de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de la papaya en el estado de Colima son: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus*, y *Meloidogyne*, con la especie *M. incognita*, causando daño al cultivo.

Los géneros de nematodos fitoparásitos con mayor abundancia y dominancia en el cultivo de papaya en el estado de Colima son: *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus* y *Meloidogyne incognita*, siendo este último el de mayor importancia por su patogenicidad.

**Agradecimiento al fondo SAGARPA proyecto 211-163213: Manejo integral del cultivo de papaya en México, un acercamiento innovador.**

## LITERATURA CITADA

- Carrillo F., J.A., García E. R.S., Allende M.R., Márquez Z.I., y Cruz O. J.E. 2000. Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 18 (2): 115-119.
- Chaful, S. y R. De' Arc. 1994. Mamo: Doencas causadas por fungos e nematoides en mamoerio. *Informe Agropecuario*. 12 (134): 40-43.
- Cid del Prado, V.I., Hernández, J.A., Tovar, S.A. 2001. Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19 (1): 32-39.
- Cobb, N.A. 1918. Estimating the nematode population of soil. United States. Department of Agriculture of E. U. 1: 1-48.
- Eisenback, J.D., Hirschmann, H., Sasser, J.N. and Triantaphyllou, A.C. 1981. A guide to four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) with a pictorial key. A cooperative publication of the Departments of Plant Pathology and Genetics. North Carolina State University and the United States Agency for International Development. Raleigh, North Carolina. 48 p.
- Eisenback, J. 1985. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp). Pp 95-112. *In*: Sasser, J. y Carter, C. (eds). *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. North Carolina State University Graphics. USA. 112p.



- Espinosa, M.R., Fuentes, K.C., Jaraba, J.D. y Lozano, Z.E. 2007. Nematodos asociados al cultivo de la papaya (*Carica Papaya* L.) en Córdoba, Colombia. *Agronomía Colombiana*. 25 (1): 124-130.
- Fernández S., O.M. y Quesada S., A.S. 2009. Nematodos asociados a los cultivos de Costa Rica. Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Servicio Fitosanitario del Estado, Departamento de Laboratorios. 49p.
- Guzmán P., O.A. y Castaño Z., J. 2010. Identificación de nematodos fitoparásitos en guayabo (*Psidium guajava* L.), en el municipio de Manizales (Caldas), Colombia. Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 34 (130): 117-126.
- Hu, M.X., Zhuo, K. and Liao, J.L. 2011. Multiplex PCR for the simultaneous identification and detection of *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii* and *M. javanica* using DNA extracted directly from individual Galls. China. *Phytopathology*. 101 (11): 1270-1277.
- Jaraba, J.D., Lozano, Z. y Espinosa, M. 2007. Nematodos agalladores asociados al cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.) en el departamento de Córdoba, Colombia. Colombia. *Agronomía colombiana*. 1 (25): 124-130.
- Jepson, S.B. 1987. Identification of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species), First Edition. CAB International. London, England. 265p.

Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. 1990. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. Second Edition. CAB International. London, England. 871p.

Mai, W.F., Lyon, H.H. and Kruk, T.H. 1964. Pictorial Key to Genera of Plant Parasitic Nematodes. First Edition. Department of plant pathology, New York state college of agriculture. New York, USA. 54p.

Sosa M., C., Bartker, K., Carter, C. and Sasser, J. 1985. Report on the status of *Meloidogyne* research in México, Central America and the Caribbean countries. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Methodology. International *Meloidogyne* Project. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Carolina, USA. 346p.

## VIII. CAPÍTULO II

# POBLACIONES DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS, SU RELACIÓN CON FACTORES EDÁFICOS Y ESTIMACIÓN DEL DAÑO, EN CULTIVO DE PAPAYA EN COLIMA, MÉXICO

### RESUMEN

Dentro de este trabajo, en un artículo previo se presentó la identificación y cuantificación de las poblaciones de nematodos fitoparásitos presentes y asociados en cultivos de papaya en Colima, México. En el presente estudio los objetivos fueron determinar una relación entre factores edáficos (textura, contenido de materia orgánica, conductividad eléctrica y pH) y las poblaciones de los géneros de nematodos presentes y asociados en los cultivos de papaya, así como estimar el porcentaje de daño ocasionado por los géneros de nematodos fitoparásitos presentes en cultivos de papaya en Colima, México. Se colectaron muestras de raíz y suelo rizosférico en 10 predios de siete ranchos en los municipios de Colima y Tecomán, Colima, México cultivados con papaya “Maradol”, “Tainung” y “Sensation”. Las muestras de suelo colectadas se utilizaron para determinar las características edáficas en cada sitio de muestreo. Se realizó una prueba ji-cuadrada de Pearson, para probar la asociación entre los géneros de fitonematodos y los distintos tipos de texturas edáficas; así mismo se realizó un análisis de regresión lineal múltiple entre la variable dependiente población de nematodos fitoparásitos y las características edáficas de los suelos donde están establecidos los huertos. Además, se determinó el umbral de daño en los tres materiales de papaya para *Meloidogyne incognita*. Las

texturas de suelo identificadas fueron arenoso franca, franco arenosa, franco arcillo arenosa y arenosa. Existió correlación entre los géneros de fitonematodos y los tipos de textura del suelo, por lo que el conocer el tipo de textura del suelo será útil para conocer los posibles géneros de fitonematodos presentes, siendo la textura arenosa franca la más apta para el ciclo de vida de los fitonematodos. Los umbrales de daño para *M. incognita* fueron 2 larvas/100 g de suelo para los materiales "Maradol" y "Sensation" y 5 larvas/100 g de suelo para el material "Tainung".

## **ABSTRACT**

In this work, in a previous article was presented the identification and quantification of plant parasitic nematode populations present in papaya culture partners in Colima, Mexico. In this study, the objectives were determine a relationship between soil factors (texture, organic matter content, electrical conductivity and pH) and populations of nematodes present and associate in papaya cultures, and also to estimate the percentage of damage caused by parasitic nematodes present in papaya cultures in Colima, Mexico. Root samples and rhizosphere soil were collected in 10 plots from seven ranchs in the municipalities of Colima and Tecomán, Colima, Mexico, cultivated with papaya "Maradol", "Tainung" and "Sensation". The soil samples were used to determine soil characteristics in each sampling site. A chi-square test of Pearson was performed, to test the association between phytonematodes genres and different types of soil textures, likewise a multiple linear regression analysis was performed between the dependent variable population of plant parasitic nematodes and soil characteristics where orchards are established. In addition, the damage threshold in the three materials papaya *Meloidogyne incognita*

was determined. The identified soil textures were loamy sand, sandy loam, sandy clay loam and sandy. There was correlation between phytonematodes genres and types of soil texture, so knowing the type of soil texture will be useful to know the possible phytonematodes genres present, being loamy sand texture the most suitable for the life cycle of plant parasitic nematodes. Damage thresholds for *M. incognita* were two larvae/100 g soil for materials "Maradol" and "Sensation", and 5 g of soil larvae/100 for material "Tainung".

**Palabras clave:** nematodos fitoparásitos, interacción, umbral, *Meloidogyne*.

## INTRODUCCIÓN

En el año 2010, la producción mundial de papaya (*Carica papaya* L.) fue de 11'203,361 t, siendo los principales productores India, Brasil, República Dominicana, Nigeria, Indonesia y México, el cual ocupó el sexto lugar con el 6% de la producción mundial (616,215 t). México es el principal exportador a nivel mundial de papaya, en 2009 exportó 134,960 t, representando el 19% de la producción nacional y el 49% de las exportaciones mundiales, con un valor económico de 74.966 millones de dólares, donde Colima es el segundo productor nacional con 123,900 t, lo que representa 40% de la exportación, con los materiales "Maradol", "Tainung" y "Sensation" (SIAP-SAGARPA, 2012).

Actualmente, las exportaciones de papaya superan los 78 millones de dólares (Propapaya, 2012). En el cultivo de la papaya se reportan enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos (Jaraba *et al.*, 2007). Los nematodos fitoparásitos causan heridas en el sistema radical que posteriormente ocasionan

putrefacción de la misma; además, favorecen la penetración de otros patógenos habitantes naturales del suelo (Guzmán y Castaño, 2010). Este tipo de fitoparásitos se han reportado en cultivos de papaya en Costa Rica (Fernández y Quesada, 2009), Brasil (Chafal y De' Arc, 1994) y Colombia (Espinosa *et al.*, 2007); en México, solamente se ha reportado al nematodo agallador *Meloidogyne incognita* raza 1 en los estados de Michoacán y Morelos, así como a *M. arenaria* en Morelos (Cid del Prado *et al.*, 2001). Martínez *et al.* (2013) reportan los géneros *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus*, y a la especie *M. incognita*, como causantes de daño en el cultivo de papaya en Colima, México; reportando una mayor abundancia de los géneros de nematodos fitoparásitos *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus* y la especie *Meloidogyne incognita*, siendo esta última la de mayor importancia por su patogenicidad.

Aunque aún se conoce muy poco sobre la ecología de los nematodos fitoparásitos, es sabido que la naturaleza del suelo, su estructura, aireación y grado de humedad ejercen una gran influencia en la vida de los fitonematodos. Yeates (1996) indica que el alimento (materia orgánica) y la competencia biológica (nematodos de vida libre) son también factores importantes. Además de los anteriores, considera de gran importancia la textura y la composición química del suelo, así como el pH y la conductividad eléctrica (CE).

Dependiendo del grado de infestación, los nematodos fitoparásitos en el cultivo de papaya, pueden ocasionar pérdidas que varían de 5 a 60%, que para el caso de las

exportaciones actuales de papaya en Colima (más de 78 millones de dólares), podrían ser hasta de 46,800 millones de dólares (Propapaya, 2012).

Debido a que los nematodos fitoparásitos son un factor importante en la producción de papaya es necesario un buen entendimiento de su ecología y su interacción con la planta, para implementar posibles programas de manejo y control. El objetivo de esta investigación fue determinar la interacción entre las variables edáficas y los géneros de nematodos asociados al cultivo de la papaya en Colima, México y determinar el umbral de daño para *Meloidogyne incognita*.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### Muestreo

La presente investigación se realizó tomando muestras de suelo y raíz de plantas de papaya de diez huertos de siete ranchos en los municipios de Colima y Tecomán, Colima, México. Considerando como criterio la selección de los predios de la ubicación geográfica y el tipo de material o híbrido de papaya: “Maradol”, “Tainung” y “Sensation”. Cada uno de los huertos seleccionados, se dividió en tres lotes de aproximadamente 4 ha cada uno y de cada uno de ellos se colectó suelo de diez puntos distintos, consistiendo de 30 submuestras (suelo y raíz), obtenidas bajo un esquema de muestreo sistemático a intervalos uniformes en forma de V y zig-zag. Las submuestras se homogenizaron para obtener una muestra compuesta (1.5 kg). Las muestras se identificaron y se determinaron las coordenadas geográficas mediante un GPS (eTrex H); posteriormente se trasladaron al laboratorio de fitopatología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C.

unidad Culiacán). Cada muestra de suelo se procesó para determinar la textura, pH, contenido de materia orgánica y la conductividad eléctrica.

#### Determinación de características edafológicas

La textura del suelo se determinó mediante el método del densímetro de Bouyoucos. El pH del suelo se midió en suspensión de suelo y agua (1:2), con la ayuda de un potenciómetro marca Orion modelo EA-940. El contenido de materia orgánica se determinó por el método de carbono orgánico (Walkley, 1947) y la conductividad eléctrica se midió del extracto de saturación del suelo a una relación (1:2), con la ayuda del puente de conductividad Thermo Scientific modelo Orion 3 star.

#### Umbral de daño para *Meloidogyne incognita*

Para determinar el umbral de daño de *Meloidogyne incognita*, en los tres materiales de papaya, una vez identificado el nematodo agallador, se recolectaron raíces con agallas y se depositaron en macetas con 5 kg de suelo (estéril), en las que se sembraron 10 plantas de papaya para incrementar la población de dicho nematodo.

Transcurridos 60 días, se extrajeron y contabilizaron las larvas (J2), para establecer 8 tratamientos (T1: testigo sin adición de larvas de nematodos; T2: 2 larvas/100 g de suelo; T3: 5 larvas/100 g de suelo; T4: 10 larvas/100 g de suelo; T5: 20 larvas/100 g de suelo; T6: 50 larvas/100 g de suelo; T7: 100 larvas/100 g de suelo y T8: 200 larvas/100 g de suelo), con 5 repeticiones por cada material. Se procedió al planteo, colocando 3 kg de suelo (estéril) por maceta y una planta de papaya, 7 días después se aplicaron los 8 tratamientos. Las macetas se mantuvieron en un invernadero a



temperatura ambiente, fueron regadas 2 veces al día y se fertilizó con una solución madre (10 meq L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub>, 1.5 meq L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 3 meq L<sup>-1</sup> de SO<sub>4</sub>, 8 meq L<sup>-1</sup> de K, 6 meq L<sup>-1</sup> de Ca y 5 meq L<sup>-1</sup> de Mg). 90 días después de aplicado el inóculo se extrajeron las plantas de papaya, las raíces se separaron de la planta, se lavaron con agua para eliminar exceso de suelo y se aclararon con una solución al 30% de (hipoclorito de sodio) cloro. Éstas se incubaron y agitaron en la solución de cloro por 4 min; posteriormente, se lavaron a chorro de agua por 45 s hasta quitarle los residuos del blanqueador. Enseguida, se colocaron en un vaso de precipitado que contenía una solución madre del colorante fucsina ácida (3.5 g de fucsina ácida en 250 mL de ácido acético y 750 mL de agua destilada). Las raíces se calentaron en agua en ebullición por 30 s y se enfriaron a temperatura ambiente. Se eliminó el colorante y se enjuagaron las raíces con agua, después de esto se procedió a evaluar o cuantificar el agallamiento en las raíces, para lo cual se utilizó una escala hedónica para determinar el porcentaje de agallamiento, tomando como referencia valores de 0 al 5; donde: 0) 0% de agallamiento en la raíz, 1) de 1-10% de raíces con agallas; 2) del 11-25% de raíces con agallas; 3) del 25-50% de raíces con agallas, 4) del 51-75% de raíces con agallas y 5) 76-100% de agallamiento de raíces (Baker *et al.*, 1978).

Para determinar la efectividad de los tratamientos, los resultados del índice de agallamiento se sometieron a la siguiente fórmula: porcentaje de severidad de agallamiento (Baker *et al.*, 1978).

% de agallamiento = ((No. plantas escala X 1 + No. plantas escala X 2 + No. plantas escala X 3 + No. plantas escala X 4 + No. plantas escala X 5) / No. plantas en trat. X 5) X 100

#### Análisis estadístico

Para probar la asociación de los géneros de nematodos fitoparásitos con los distintos tipos de texturas edáficas, se realizó una prueba ji-cuadrada de Pearson (Steel y Torrie, 1995) con un valor de significancia de 0.05. Además se realizó un análisis de regresión lineal múltiple (Steel y Torrie, 1995) entre las poblaciones agregadas de los cuatro géneros de nematodos fitoparásitos más importantes contra las variables independientes: materiales, características edáficas y distribución de nematodos en suelo. El modelo lineal general es:

$$\text{Población de nematodos} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 \text{pH} + \beta_4 \text{CE} + \beta_5 \% \text{MO} + \beta_6 \% \text{ARC} + \beta_7 \% \text{LIMO} + \beta_8 \% \text{ARE} + \beta_9 Y_1 + \beta_{10} Y_2 + \beta_{11} Y_3 + \beta_{12} Y_4 + e$$

Donde:  $X_1$  y  $X_2$  son variables indicadoras (Cuadro 3); pH = potencial hidrógeno; CE = conductividad eléctrica; %MO = porcentaje de materia orgánica; %ARC = porcentaje de arcilla; %LIMO = porcentaje de limo; %ARE = porcentaje de arena;  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$  y  $Y_4$  son variables indicadoras representando la distribución poblacional de nematodos en las regiones estudiadas (Cuadro 4). Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico Minitab 15.0.

**Cuadro 3.** Codificación de variable cualitativa materiales.

X1	X2	Material
1	0	Maradol
0	1	Sensation
0	0	Tainung

**Cuadro 4.** Codificación de la distribución poblacional de nematodos.

Categoría	Intervalo	Variable indicadora
1	0-100	Y1
2	101-200	Y2
3	201-300	Y3
4	301-400	Y4
5	401-500	---

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características edafológicas

Las texturas de suelo identificadas fueron arenoso franca, franco arenosa, franco arcillo arenosa y arenosa (Cuadro 5). De acuerdo con Palm y Walter (1991), la amplia variación de los medios bióticos físicos y químicos dentro de las categorías de texturas, hace difícil generalizar la repercusión sobre la vida y el movimiento de nematodos en el suelo. Además, el tamaño de las partículas y los microporos, hacen que el movimiento del aire y agua sea más restringido. Estas condiciones hacen que los niveles de oxígeno sean más bajos, y en consecuencia el metabolismo, movimiento e infectividad de los juveniles se afecte, además del efecto negativo sobre el crecimiento y reproducción de las hembras (Muñoz, 2011). Por lo cual los

nematodos se adaptan mejor a suelos con textura porosa, como es el caso de las texturas arenosa, arenoso franca y franco arenosa; en caso contrario en suelos con texturas limosas, su ciclo de vida se ve limitado, como en el suelo con textura franco arcillo arenosa. El pH del suelo presentó poca variabilidad en las áreas de estudio (6.2 a 7.5) y no se observó una relación importante entre la distribución de las poblaciones de nematodos fitoparásitos y esta variable. En cultivo de algodón, Starr *et al.* (1993) tampoco observaron alguna relación entre pH e incidencia de *Meloidogyne* con una variabilidad de pH similar (7.5 a 8.5). Así mismo, Guzmán *et al.* (2008) mencionan que la variación del pH de 5.0 hasta 7.6, no tiene efecto sobre las poblaciones de nematodos fitoparásitos.

El contenido de materia orgánica osciló de 1.58 a 2.78%, por lo cual se consideran suelos con contenido moderadamente alto. Guzmán-Plazola *et al.* (2008) reportan que en suelos con buen contenido de materia orgánica el ciclo de vida de los nematodos fitoparásitos es afectado, debido al desarrollo de organismos antagónicos como bacterias y hongos nematófagos y quitiniformes; así como, a la competencia por espacio y alimento de los nematodos de vida libre.

**Cuadro 5.** Ubicación y tipo de textura edáfica de huertos de papaya donde se realizó el muestreo de suelo y raíces, con el fin de detectar nematodos fitoparásitos en los municipios de Colima y Tecomán, Colima, México.

<b>Predio</b>	<b>Material/Híbrido</b>	<b>Municipio</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Textura edáfica*</b>
Villa	Sensation	Colima	19°14'38'' N, 103°46'27'' O	Fa
El Balcón	Maradol	Colima	19°14'33'' N, 103°48'27'' O	Fa
Fruti Oro	Maradol	Colima	19°12'07'' N, 103°48'41'' O	Fa
Fruti Oro	Tainung	Colima	19°12'07'' N, 103°48'41'' O	Fa
Primavera	Tainung	Tecomán	18°52'31'' N, 103°55'20'' O	Af
Primavera	Maradol	Tecomán	18°52'31'' N, 103°55'20'' O	A
Cabeza de Toro	Maradol	Tecomán	18°46'15'' N, 103°45'09'' O	Faa
Cabeza de Toro	Sensation	Tecomán	18°46'15'' N, 103°45'09'' O	Faa
Chula Vista	Tainung	Tecomán	18°46'07'' N, 103°45'07'' O	Faa
Don Polo	Maradol	Tecomán	18°56'56'' N, 104°05'44'' O	A

\*A= Arenosa; Af= Arenoso franca; Fa= Franco arenosa; Faa= Franco arcillo arenosa.

La conductividad eléctrica del agua extraída de las muestras saturadas de suelo estuvo en un rango de 0.15 a 2.48 dS/m y no se obtuvo una correlación significativa con relación a las poblaciones de nematodos fitoparásitos.

## Asociación entre géneros de nematodos fitoparásitos y características edáficas

Se encontró asociación entre los géneros de nematodos fitoparásitos y los tipos de textura edáfica ( $\chi^2_{\text{calc}} = 21.40$ ,  $p = 0.011$ ), por lo cual conocer el tipo de textura edáfica ayudará a conocer los posibles géneros de nematodos fitoparásitos presentes y viceversa (Cuadro 6).

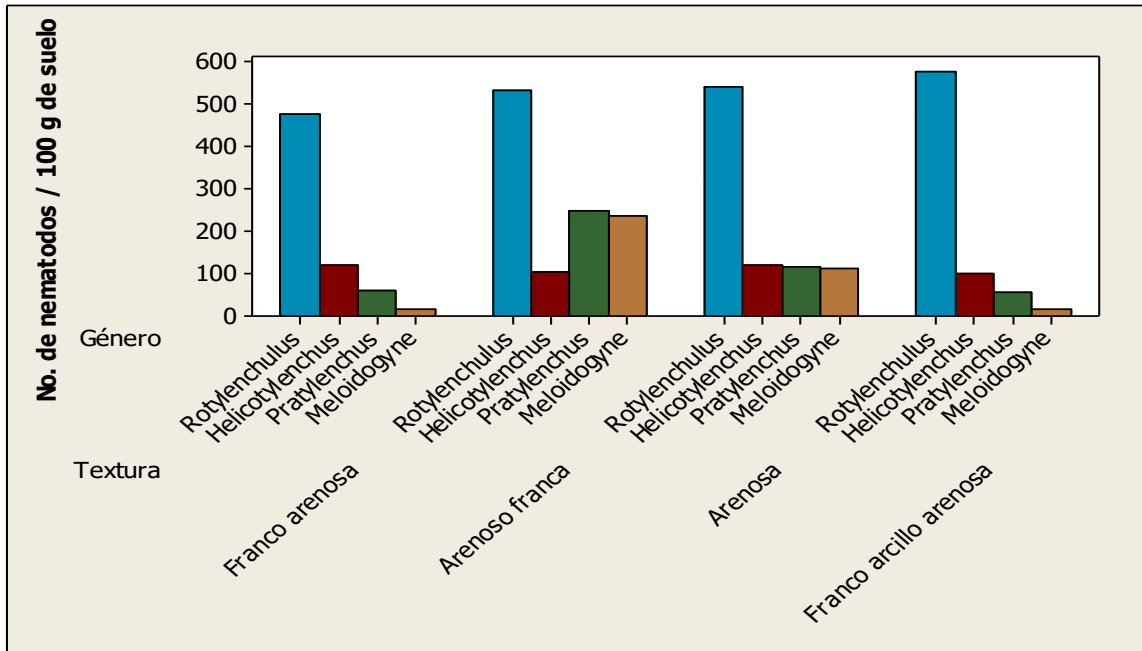
**Cuadro 6.** Tabla de contingencia de los géneros de nematodos fitoparásitos y textura de suelos.

Textura	Género de nematodos fitoparásitos				Total
	<i>Rotylenchulus</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Meloidogyne</i>	
Franco	13	3	2	1	19
arenosa	10.83	2.26	3.15	2.75	
Arenoso	59	12	28	26	125
franca	71.28	14.89	20.74	18.09	
Arenosa	30	7	6	6	49
	27.94	5.84	8.13	7.09	
Franco	32	6	3	1	42
arcillo					
arenosa	23.95	5.00	6.97	6.08	
Total	134	28	39	34	235

Valores de celda (observados y esperado)

En suelos con textura arenoso franca se presentó la mayoría de los cuatro géneros de nematodos fitoparásitos (Figura 7). El género *Rotylenchulus* se distribuye homogéneamente en los cuatro tipos de textura, siendo el más abundante. El género *Helicotylenchus* se distribuye de manera homogénea en los cuatro tipos de textura

sin presentar preferencia por algún tipo. Sin embargo, los géneros *Pratylenchus* y *Meloidogyne* presentan las poblaciones más altas en la textura arenoso franca.



**Figura 7.** Gráfica de distribución entre géneros de nematodos fitoparásitos y texturas edáficas.

### Análisis de regresión

Primeramente, se corrió un modelo de regresión que incluía todas las variables independientes para determinar cuáles eran significativas (Anexo 1). Una vez eliminadas las variables no significativas, se corrió nuevamente un modelo más simple que incluía sólo las variables independientes significativas (Cuadro 7) Adicionalmente, en este cuadro aparece el estimador de la desviación estándar del error aleatorio, la  $R^2$  y la  $R^2$  ajustada. La ecuación de regresión obtenida es:

$$\text{NEMAFITOPARÁSITOS} = 350 - 87.6 X_1 - 59.4 X_2 - 4.43 \% \text{ARC} - 196 Y_1$$

**Cuadro 7.** Modelo de regresión lineal múltiple con variables significativas.

Predictor	Coefficiente	Coefficiente de EE	T	P	VIF
<b>Constante</b>	350.26	28.46	12.31	0.000	
X <sub>1</sub>	-87.64	22.17	-3.95	0.000	1.400
X <sub>2</sub>	-59.39	29.74	-2.00	0.056	1.512
%ARC	-4.435	1.114	-3.98	0.000	1.241
Y <sub>1</sub>	-195.92	18.97	-10.33	0.000	1.025

S = 53.5944 R<sup>2</sup> = 82.7% R<sup>2</sup> (ajustada) = 80.2%

Todas las variables independientes incluidas en el modelo se pueden considerar estadísticamente significativas (p <0.05). El ajuste del modelo de acuerdo con los coeficientes de determinación puede considerarse apropiado.

Modelo por materiales

X<sub>1</sub> ("Maradol"): NEMAFITOPARÁSITOS = 262.4 – 4.43 %ARC – 196 Y<sub>1</sub>

X<sub>2</sub> ("Sensation"): NEMAFITOPARÁSITOS = 290.6 – 4.43 %ARC – 196 Y<sub>1</sub>

X<sub>0</sub> ("Tainung"): NEMAFITOPARÁSITOS = 350 – 4.43 %ARC – 196 Y<sub>1</sub>

De acuerdo a los modelos por material de papaya cultivados, la característica edáfica más importante es la arcilla, la cual nos disminuye la población de nematodos fitoparásitos aproximadamente en 4 ó 5 nematodos por cada uno por ciento de incremento de arcilla en la composición del suelo.

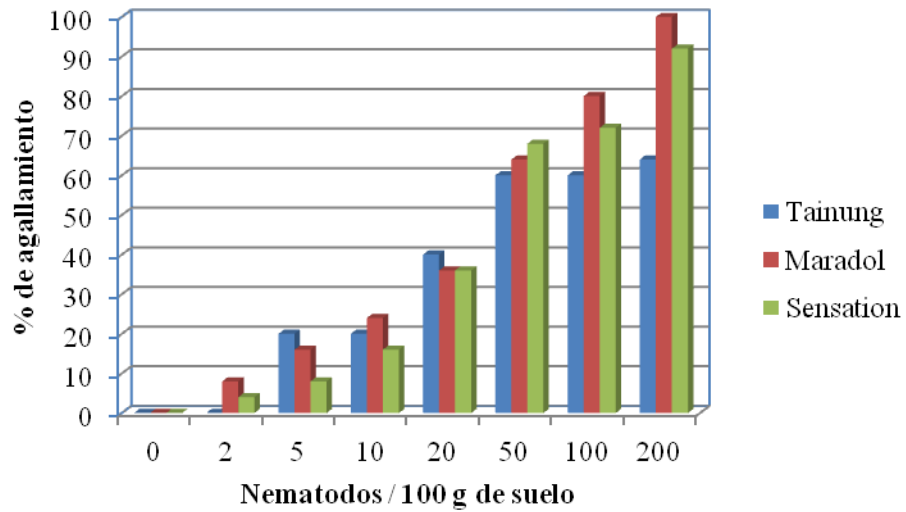


### Umbral de daño para *Meloidogyne incognita*

Las plantas sometidas a evaluación mostraron los síntomas típicos de daño por nematodos (Figura 8). Para el material “Maradol” y “Sensation” el umbral de daño fue de 2 larvas/100 g de suelo, mientras que para el material “Tainung” fue de 5 larvas/100 g de suelo (Figura 9).



**Figura 8.** Raíces de papaya con presencia de agallas (flechas) inducidas por *Meloidogyne incognita*, después de 60 días de inoculadas. A) “Maradol”, B) “Tainung” y C) “Sensation”.



**Figura 9.** Porcentaje de severidad del agallamiento en papaya “Maradol”, “Tainung” y “Sensation”, con diversa población de inóculo.

## CONCLUSIONES

Los géneros de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de la papaya en el estado de Colima fueron: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus*, y *Meloidogyne*, des los que *M. incognita* es la especie que más daño cuasa al cultivo.

Los géneros de nematodos fitoparásitos con mayor abundancia y dominancia en el cultivo de papaya en el estado de Colima fueron: *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus* y *Meloidogyne incognita*.

Los nematodos fitoparásitos se desarrollan mejor en suelos con textura porosa, como es el caso de los de texturas arenosa, arenoso franca y franco arenosa; sin embargo, en suelos con textura limosa, su ciclo de vida se ve limitado, como en el suelo con textura franco arcillo arenosa.

El porcentaje de arcilla disminuye la población de nematodos fitoparásitos aproximadamente en 4 ó 5 nematodos por cada uno por ciento de incremento en la composición del suelo.

El umbral de daño para materiales “Maradol” y “Sensation” es de dos larvas por cada 100 g de suelo, mientras que para el híbrido “Tainung” es de cinco larvas por cada 100 g de suelo.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th Ed. Academic Press, New York. 922 p.
- Baker, K.F., Townshend, J.L., Michell, R.E., Norton. D.C. and Ruehle, J.L. 1978. Determining nematode population responses to control agents. In: E.I Zehrr and Bird, G. (Eds) Methods for Evaluating Plant Fungicides, Nematicides and Bactericides. APS. St Paul Minnesota. Pp. 114–126.
- Carrillo F., J.A., García E., R.S., Allende M, .R., Márquez Z., I. y Cruz O., J.E. 2000. Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas en Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 18 (2): 115-119.
- Chaful, S. y De' Arc, R. 1994. Mamo: Doencas causadas por fungos e nematoides en mamoeiro. Informe Agropecuario. 134 (12): 40-43.
- Cid del Prado V., I., Hernández J., A. y Tovar, S., A. 2001. Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en México. Revista Mexicana de Fitopatología. 19 (1):32-39.
- Cobb, N.A. 1918. Estimating the nematode population of soil. United States. Department of Agriculture of E. U. 1: 1-48.
- Eisenback, J.D., Hirschmann, H., Sasser, J.N. and Triantaphyllou, A.C. 1981. A guide to four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) with a pictorial key. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology and Genetics. North Carolina State University and the United States Agency for International Development. Raleigh, North Carolina. 48 p.

- Eisenback, J. 1985. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp). Pp 95-112. In: Sasser, J. y Carter, C. (eds). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. North Carolina State University Graphics. USA. 112p.
- Espinosa, M.R., Fuentes, K.C., Jaraba, J.D. y Lozano, Z.E. 2007. Nematodos asociados al cultivo de la papaya (*Carica Papaya* L.) en Córdoba, Colombia Agronomía Colombiana. 25 (1): 124-130.
- Fernández, S, O.M. y Quesada, S. A.S. 2009. Nematodos asociados a los cultivos de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Servicio Fitosanitario del Estado, departamento de Laboratorios. 49 p.
- Guzmán P., R.A., Hernández F., B., Franco N., F. y Cadena H., M. 2008. Nematodos agalladores en la Vega de Mezquitlán, Hidalgo, México: identificación, distribución espacial y relación con factores edáficos. Nematropica. 38: 47-61.
- Guzmán, P.O.A. y Castaño, Z.J. 2010. Identificación de nematodos fitoparásitos en guayabo (*Psidium guajava* L.), en el municipio de Manizales (Caldas), Colombia. Colombia. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. 34 (130): 117-126.
- Jaraba, J.D., Lozano, Z. y Espinosa, M. 2007. Nematodos agalladores asociados al cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.) en el departamento de Córdoba, Colombia. Colombia. Agronomía colombiana. 25 (1): 124-130.

- Jepson, S.B. 1987. Identification of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species), First Edition. CAB International. London, England. 265p.
- Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. 1990. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. Second Edition. CAB International. London, England. 871p.
- Mai, W.F., Lyon, H.H. and Kruk, T.H. 1964. Pictorial Key to Genera of Plant Parasitic Nematodes. First Edition. Department of plant pathology, New York state college of agriculture. New York, USA. 54p.
- Martínez G., J.A., Díaz V., T., Allende M., R., Ortiz M., J.A., García E., R.S. y Carrillo F., J.A. 2013. Nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de papaya (*Carica papaya* L.) en Colima, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. (En revisión).
- Muñoz, N.L.A. 2011. Efecto del tipo de suelo, la concentración de materia orgánica y la incorporación de un hidrogel en la infestación de *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949. Tesis doctoral. Universidad Austral de Chile. 60 p.
- Palm, C.E., Walter, W.D. 1991. Control of plant-parasitic nematodes. Vol. IV. Ed. National Academy of Sciences. 219 pp.
- Propapaya, 2012. Propaya Sistema producto papaya. [En línea] Available at: <http://propapaya.org> [Último acceso: 04 Diciembre 2012].
- SIAP-SAGARPA, 2012. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. [En línea] Available at: <http://www.siap.gob.mx> [Último acceso: 04 Diciembre 2012].

Sosa-Moss, C., K. Bartker, C. Carter and J. Sasser. 1985. Report on the status of *Meloidogyne* research in México, Central America and the Caribbean countries. En: An advanced treatise on *Meloidogyne*. Methodology. International *Meloidogyne* Project. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Carolina. Pp. 32-346.

Starr, J.L., Heald, C.M., Robinson, A.F., Smith, R.G. and Krausz, J.P. 1993. *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* and associated soil textures from some cotton production areas of Texas. Supplement to Journal of Nematology. 25: 895-899.

Steel, R. y J. Torrie. 1995. Bioestadística. Principios y Procedimientos. Segunda Edición. McGraw-Hill, México. 622 p.

Walkley, A. 1947. A critical examination of a rapid method for determination of organic carbon in soils - effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. Soil Sci. 63: 251-257.

Yeates, G.W. 1996. Nematode ecology. Russian Journal of Nematology. 4 (1): 71-76.

## IX. CONCLUSIONES GENERALES

Se identificaron once géneros de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de papaya en el estado de Colima, los cuales fueron: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchus*, *Trophurus*, *Tylenchorrhynchus*, *Tylenchus* y *Meloidogyne*; de éstos los más abundantes fueron *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus* y *Meloidogyne incognita*, de los que a su vez se determinó que *Meloidogyne incognita* es el que mayor daño le causa.

El tamaño de poblaciones observadas permitieron determinar que los géneros *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus* y *Meloidogyne incognita* son las especies que más prosperan en las condiciones ambientales del estado de Colima y, en consecuencia, las que más afectan la producción de papaya.

Los nematodos fitoparásitos se desarrollan mejor en suelos con textura porosa, como es el caso de los de texturas arenosa, arenoso franca y franco arenosa; sin embargo, en suelos con textura limosa, su ciclo de vida se ve limitado, como en el suelo con textura franco arcillo arenosa.

El porcentaje de arcilla disminuye la población de nematodos fitoparásitos aproximadamente en cuatro ó cinco nematodos por cada uno por ciento de incremento en la composición del suelo.



El umbral de daño para materiales “Maradol” y “Sensation” es de dos larvas por cada 100 g de suelo, mientras que para el híbrido “Tainung” es de cinco larvas por cada 100 g de suelo.

## X. LITERATURA CITADA

- Abad, P., Favery, B., Rosso, M.N. and Sereno, P.C. 2003. Pathogen profile root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology*. 4 (4): 217-224.
- Almeida, E.J. 1999. Molecular markers and cell cycle inhibitors show the importance of cell cycle progression in nematode induced galls and syncytia. *The plant cell*. 11: 793-808.
- Bates, J., Taylor, E., Gans, P. and Thomas, J. 2002. Determination of relative proportions of *Globodera* species in mixed populations of potato cyst nematodes using PCR product melting peak analysis. *Molecular Plant Pathology*. 3 (3): 153-161.
- Bulman, S.R. and Marshall, J.W. 1997. Differentiation of australasian potato cyst nematode (PCN) populations using the polymerase chain reaction (PCR). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 25: 123-129.
- Carrillo F., J.A., García E. R.S., Allende M.R., Márquez Z.I., y Cruz O. J.E. 2000. Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 18 (2): 115-119.
- Chafal, S. y R. De' Arc. 1994. Mamo: Doencas causadas por fungos e nematoides en mamoerio. *Informe Agropecuario*. 12 (134): 40-43.
- Cid del Prado, V.I., Hernández, J.A., Tovar, S.A. 2001. Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19 (1): 32-39.

Crane, J.H. 2008. Papaya growing in the Florida Home Landscape. University of Florida. Fact Sheet HS11. 8 p.

Dale, J. and Von Schantz, M. 2002. From genes to genome. Sussex, Inglaterra. 360 p.

Espinosa, M.R., Fuentes, K.C., Jaraba, J.D. y Lozano, Z.E. 2007. Nematodos asociados al cultivo de la papaya (*Carica Papaya* L.) en Córdoba, Colombia Agronomía Colombiana. 25 (1): 124-130.

FAOSTAT. 2012. [En línea] Available at: [http://faostat3.fao.org/home/index\\_es.html?locale=es#VISUALIZE\\_BY\\_DOMAIN](http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#VISUALIZE_BY_DOMAIN) [Último acceso: 04 Diciembre 2012].

Fenoll, C. and Del Campo, F.F. 1998. The molecular basis of nematode endoparasitism in plants. *Physiology Molecular Biology Plants*. 4: 9-18.

Fernández S., O.M. y Quesada S., A.S. 2009. Nematodos asociados a los cultivos de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Servicio Fitosanitario del Estado, departamento de Laboratorios. 49 p.

Ferrato, F.R. y Alarcón, A. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Ergo Sum*. 8 (2): 175-183.

García D., S.I.E. 2011. Microorganismos del suelo sustentabilidad de los agroecosistemas. *Revista Argentina de Microbiología*. 43: 1-3.

Gheysen, G. and Fenoll, C. 2002. Gene expression in nematode feeding sites. *Annual Review of Phytopathology*. 40: 191-219.

- Guzmán P., R.A., Hernández F., B., Franco N., F. y Cadena H., M. 2008. Nematodos agalladores en la Vega de Mezquitlán, Hidalgo, México: identificación, distribución espacial y relación con factores edáficos. *Nematropica*. 38: 47-61.
- Jaraba, J. y Z. Lozano, 2002. *Meloidogyne javanica* (Treub, 1985) Chitwood, 1949: Nematodo del nudo radical en papaya (*Carica papaya* L.) en Tierralta, Córdoba. ASCOLFI (Boletín bimestral). 28 (1): 2-4.
- Karssen, G. and Moens, M. 2006. Root-knot nematodes. In: Perry, I Nematology. CAB International, Wallingford, UK. Pp 59-90.
- Keen, N.T. and Roberts P.A. 1998. Plant parasitic nematodes: digesting a page from proceedings of the national academy of sciences. USA. 95: 4789-4790.
- Klug, W.S. and Cummings, M.R. 1999. Conceptos de genética. Traducido por: Ménsua, J.L. y Bueno, D. 5ª edición. Prentice Hall. Iberia, S.R.L. España. 814 p.
- Madriz, K. 2005. Manual de laboratorio biología molecular. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 49 p.
- Muñoz N., L.A. 2011. Efecto del tipo de suelo, la concentración de materia orgánica y la incorporación de un hidrogel en la infestación de *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949. Tesis doctoral. Universidad Austral de Chile. 60 p.
- Powers, T. 2004. Nematode molecular diagnostics: from bands to barcodes. Annual Reviews Phytopathology. Department of Plant Pathology. 42: 367-383.

PROPAPAYA. 2012. PROPAPAYA Sistema producto papaya. [En línea] Available at:  
<http://propapaya.org> [Último acceso: 04 Diciembre 2012].

S.A.G.A.R. P. A. 2011. Reporte estadístico anual. Colima, Colima.

Sánchez, M.S. y Talavera, M. 2013. Los nematodos como indicadores ambientales en agroecosistemas. *Revista Científica de Ecología y Medio Ambiente*. 22 (1): 50-55.

SIAP. 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Hortalizas, Sinaloa. [En línea] Available at: [http://www.oeidrus/portal.gob.mx/portal\\_siap/Integracion/EstadisticaDerivada/InformaciondeMercados/Mercados/ams/hoy/tmte0623.htm](http://www.oeidrus/portal.gob.mx/portal_siap/Integracion/EstadisticaDerivada/InformaciondeMercados/Mercados/ams/hoy/tmte0623.htm). [Último acceso: 04 Diciembre 2012].

SIAP-SAGARPA. 2012. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. [En línea] Available at: <http://www.siap.gob.mx> [Último acceso: 04 Diciembre 2012].

Sosa-Moss, C., K. Bartker, C. Carter y J. Sasser. 1985. Report on the status of *Meloidogyne* research in México, Central America and the Caribbean countries. En: An advanced treatise on *Meloidogyne*. Methodology. International *Meloidogyne* Project. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Carolina. Pp. 32-346.

Weiland A., .C.M. 2001. Estado sanitario del cultivo de la vid (*Vitis vinifera* L.) respecto a infecciones de carácter viral en la denominación de origen condado de Huelva y métodos de saneamiento del material vegetal. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba Colombia. 208 p.

Williamson, V.M. and Gleason, C. 2003. Plant-nematode interactions. *Current Opinion in Plant Biology*. 6: 327-333.

Yáñez, J. M. 2001. Nematodos fitoparásitos. Diplomado en actualización agronómica. Culiacán Sinaloa México. Pp. 1-25.

Yeates, G.W. 1996. Nematode ecology. *Russian Journal of Nematology*. 4 (1): 71-76.

## XI. ABREVIATURAS

'	Minuto (s)
''	Segundo (s)
<	Menor que
±	Más menos
°	Grado (s)
°C	Grado (s) Celsius
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Ca	Calcio
CE	Conductividad eléctrica
CIAD	Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.
cm	Centímetro (s)
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
dNTPs	Deoxinucleótidos trifosfatos
dS	Decisiemen (s)
<i>et al</i>	Colaboradores
etc	Etcétera
g	Gramo (s)
GPS	Geoposicionador satelital
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Ácido fosfórico
ha	Hectárea (s)
K	Potasio
kg	Kilogramo (s)
L	Litro (s)
L.	Linneo
lb	Libra (s)
m	Metro (s)
<i>M</i>	<i>Meloidogyne</i>
meq	Miliequivalente (s)
mg	Miligramo (s)
Mg <sup>2+</sup>	Magnesio
MgCl <sub>2</sub>	Cloruro de magnesio
min	Minuto (s)
mL	Mililitro (s)
mM	Minimolar
N	Norte
NaOH	Hidróxido de Sodio
ng	Nanogramo (s)
No.	Número (s)
NO <sub>3</sub>	Nitrato de amonio

O	Oriente
p	Probabilidad
pb	Par (es) de base (s)
pH	Potencial hidrógeno
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
rpm	Revolución (es) por minuto
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SO <sub>4</sub>	Sulfato
sp	Especie
spp	Especies
t	Tonelada (s)
trat	Tratamiento (s)
Tris-HCl	Tris(hidroximetil)aminometano
u	Unidad (s)
μl	Microlitro (s)
χ <sup>2</sup>	Ji-cuadrada



## XII. APÉNDICE

**Apéndice 1.** Modelo de regresión lineal múltiple general.

$$\text{NEMAFITOPARÁSITOS} = 490 - 19.5 X_1 - 29.9 X_2 + 8.8 \text{CE} - 21.7 \% \text{MO} - 0.180$$

$$\% \text{ARC} - 1.03 \% \text{LIMO} - 396 Y_1 - 272 Y_2 - 172 Y_3 - 105 Y_4$$

Predictor	Coefficiente	Coefficiente de EE	T	P
<b>Constante</b>	490.02	50.54	9.70	0.000
X <sub>1</sub>	-19.45	15.71	-1.24	0.229
X <sub>2</sub>	-29.93	17.96	-1.67	0.110
CE	8.82	12.65	0.70	0.493
%MO	-21.70	23.27	-0.93	0.361
%ARC	-0.1796	0.7764	-0.23	0.819
%LIMO	-1.031	1.205	-0.86	0.401
Y <sub>1</sub>	-396.26	34.43	-11.51	0.000
Y <sub>2</sub>	-271.62	37.87	-7.17	0.000
Y <sub>3</sub>	-171.58	38.11	-4.50	0.000
Y <sub>4</sub>	-104.85	37.21	-2.82	0.010

El factor \* %ARE está altamente correlacionado con otras variables X. \* %ARE se ha eliminado de la ecuación.

$$S = 28.1190 \quad R^2 = 96.3\% \quad R^2 (\text{ajustada}) = 94.6\%$$

**Apéndice 2.** Participación en “II Reunión de Estudiantes de Posgrado de Ciencias Agropecuarias”.



La Universidad Autónoma de Sinaloa  
y el  
Colegio de Ciencias Agropecuarias  
a través de la  
**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**  
otorgan la presente



# Constancia

*M. C. José Ángel Martínez Gallardo*

Por su participación como **PONENTE** en **MODALIDAD CARTEL** con el Tema:  
**“DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE NEMATODOS FITOPARASITOS EN EL CULTIVO DE LA PAPAYA (Carica papaya) EN COLIMA, MÉXICO”** en la “II Reunión de Estudiantes de Posgrado de Ciencias Agropecuarias”, realizada los días 24 y 25 de Noviembre, en las instalaciones de la Torre Académica Mazatlán de nuestra Universidad.

Atentamente  
“*Sursum Versus*”  
Mazatlán, Sinaloa, Noviembre de 2011.



**Dr. Javier Alonso Romo Rubio**  
Presidente del Colegio de Ciencias Agropecuarias



**Dra. Idalia Enríquez Verdugo**  
Presidenta del Comité Organizador



**Apéndice 3.** Reconocimiento por tercer lugar en la presentación de cartel en la “Segunda Reunión de Estudiantes de Posgrado de Ciencias Agropecuarias”.



La Universidad Autónoma de Sinaloa  
y el  
Colegio de Ciencias Agropecuarias  
a través de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
otorgan el presente



# Reconocimiento

*Al: C. José Ángel Martínez Gallardo*

Por haber obtenido el **Tercer Lugar** en la **Presentación de Cartel** en la “II Reunión de Estudiantes de Posgrado de Ciencias Agropecuarias”, realizada los días 24 y 25 de Noviembre, en las instalaciones de la Torre Académica Mazatlán de nuestra Universidad, con el tema:

**“Detección e Identificación de Nemátodos Fitoparásitos en el Cultivo de la Papaya (*Carica papaya*) en Colima, México”.**

Atentamente  
“*Sursum Versus*”

Mazatlán, Sinaloa, Noviembre de 2011.

  
**Dr. Javier Alonso Romo Rubio**  
Presidente del Colegio de Ciencias Agropecuarias

  
**Dra. Idalia Enriquez Verdugo**  
Presidenta del Comité Organizador





## Apéndice 4. Participación en XV Congreso Internacional en Ciencias Agropecuarias.



Universidad Autónoma de Baja California  
Instituto de Ciencias Agrícolas  
Universidad de Sonora  
Departamento de Agricultura y Ganadería

“Celebrando XV años de trayectoria, 1996 - 2012”

**Otorga la presente**  
**Constancia**

**Por su participación como Ponente en el Congreso,**  
**los días 25 y 26 del presente**

**A: José Á. Martínez Gallardo**

**Mexicali, Baja California, octubre de 2012**  
**“Por la realización plena del hombre”**

Dr. Roberto Soto Ortiz  
Director del Instituto de Ciencias Agrícolas

Dra. Silvia Mónica Avilés Marín  
Presidenta del XV Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas

Dr. Jesús López Elías  
Director del Departamento de Agricultura y Ganadería

**Apéndice 5.** Participación en XV Congreso Nacional y 1er. Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A.C.



**Apéndice 6.** Aceptación de nota científica en Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.



Texcoco, Estado de México, 13 de mayo de 2013  
Referencia: 288-13

**M. C. JOSÉ ÁNGEL MARTÍNEZ GALLARDO**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**PRESENTE:**

Por este medio le agradezco y acuso de recibido el artículo intitulado "IDENTIFICACIÓN DE NEMÁTODOS FITOPARÁSITOS EN EL CULTIVO DE PAPAYA (*Carica papaya* L) EN COLIMA, MÉXICO", del cual son autores(as), José Ángel Martínez Gallardo, Tomás Díaz Valdés, Raúl Allende Molar, José Alfonso Ortiz Meza, Raymundo Saúl García Estrada y José Armando Carrillo Fasio, que fue enviado para su posible publicación a la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Le notificamos que el autor(a) principal y los coautores(as), no podrán alterarse y quedaran como se envía en esta versión.

Asimismo, me permito informarle que su contribución será sometida a revisión técnica por los dictaminadores(as) que se designen; en caso de ser aceptado, se le notificará sobre las observaciones correspondientes.

Sin otro particular reciba un cordial saludo.

Atentamente

**DRA. DORA MA. SANGERMAN-JARQUÍN**  
**EDITORA EN JEFA DE LA REVISTA**  
**MEXICANA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**

DMSJ/dpg  
Archivo

Carretera Los Reyes-Texcoco, km 13.5. Coatlínchán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56250  
E-mail: revista\_atm@yahoo.com.mx. Tel. y Fax: 01 595 9212681