



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"IZTACALA"

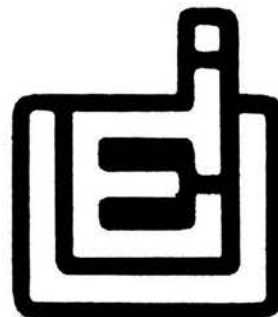
"EFECTO DE TRES TIPOS DE SUELO EN LA ACTIVIDAD
PARASITICA DE *Paecilomyces lilacinus* (THOM) SAMSON,
COMO POSIBLE AGENTE DE CONTROL BIOLOGICO DE
Meloidogyne incognita (KOFOID AND WHITE)
CHITWOOD, EN CULTIVO DE FRIJOL
(*Phaseolus vulgaris*, VAR, BLACK VALLENTINE)".

BARBARA HERNANDEZ MACIAS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIOLOGO



1 9 8 7



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A la memoria de mis abuelitas Mercedes, por el cariño que me dieron y por llenar de sueños mis primeros años así como de bellos recuerdos los presentes.

A mis padres, María Eugenia y Saúl, por el amor que me dan y por enseñarme lo agradable que es compartir la vida en pareja.

A Guillermo, mi compañero en la nueva etapa de mi vida, por su cariño y comprensión, por nuestro amor.

Esperando que también ellos logren todos sus ideales y se realicen como hombres, a Saúl, Mauricio y Leonel, mis hermanos.

Con cariño y respeto a mis familiares y amigos.

Por permitirme vivir, a tí Señor.

A G R A D E C I M I E N T O S

A mi padre Sr. Saúl Hernández Robledo, porque gracias a su apoyo económico y ejemplo de superación, pude llegar a una de mis metas.

Al Dr. Carlos Sosa-Moss, por darme la oportunidad de realizar mi tesis, así como la dirección y corrección de la misma.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Rafael Rodríguez Montessoro, por su gran calidad humana y por brindarme su apoyo y consejos en todo momento.

Al Dr. Roberto García E., por las facilidades y sugerencias dadas en la elaboración de este trabajo.

Al Dr. Parviz Jatala, por sus conocimientos transmitidos y material bibliográfico proporcionado.

A la Dra. Emma Zavaleta M., por sus sugerencias y revisión del escrito.

Al personal que ha trabajado en los laboratorios de Nematología y Ecología de los Fitopatógenos del Suelo, en especial a la Biol. Clarissa Sánchez, por su amistad y ayuda brindada.

Al M.C. José Antonio López P., por su gran ayuda en el análisis estadístico de los datos y su amistad.

A la Sra. Ma. Teresa Aguilar, Silvia Fernández P., Rodolfo Gómez L., René Ortiz C. y Luis M. Vázquez G., por su amistad, ayuda y palabras de aliento que me dieron en aquellos momentos que parecieron difíciles.

Al Sr. Antonio Pérez M., por su inapreciable ayuda en la impresión de este escrito.

A todas las personas que de cualquier forma hicieron posible se realizara esta tesis.

C O N T E N I D O

	Pág.
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS -----	i
RESUMEN -----	iii
I. INTRODUCCION -----	1
II. REVISION DE LITERATURA -----	5
III. MATERIALES Y METODOS -----	10
A. Condiciones generales del experimento -----	10
a. Colecta y tratamiento de los suelos empleados en la investigación -----	10
b. Determinación de algunas características fisicoquímicas de los tres tipos de suelo -----	11
c. Condiciones generales de las siembras -----	12
d. Obtención del inóculo del nemátodo -----	14
B. Infestación de los suelos con <i>Meloidogyne incognita</i> en la primera fecha de siembra -----	15
C. Inoculación y reaslamiento de <i>Paecilomyces lilacinus</i> en la segunda fecha de siembra -----	16
a. Preparación del inóculo de <i>P. lilacinus</i> -----	16
b. Inoculación de <i>P. lilacinus</i> a los suelos -----	17
c. Prueba de comprobación de huevecillos de <i>M. incognita</i> parasitados por <i>P. lilacinus</i> -----	19
d. Reaslamiento de <i>P. lilacinus</i> de los suelos inoculados -----	20
D. Diseño experimental y tipo de análisis matemático -----	23
a. Parámetros evaluados -----	23
b. Diseño experimental -----	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSION -----	27
A. Determinación de algunas características fisicoquímicas de los tres tipos de suelo empleados en la investigación -----	27
B. Infestación del suelo con <i>M. incognita</i> en la primera fecha de siembra -----	29

	Pág.
1. Índice de agallamiento -----	29
2. Evaluación de los parámetros registrados en la primera fecha de siembra -----	31
C. Inoculación y reaislamiento de <i>P. lilacinus</i> en la segunda fecha de siembra -----	37
1. Índice de agallamiento -----	37
2. Evaluación de los parámetros registrados en la segunda fecha de siembra -----	41
3. Prueba de comprobación de huevecillos de <i>M. incognita</i> parasitados por <i>P. lilacinus</i> -----	50
4. Reaislamiento de <i>P. lilacinus</i> de los suelos donde fue inoculado -----	53
5. Recomendaciones -----	55
V. CONCLUSIONES -----	56
VI. LITERATURA CITADA -----	57

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO		Pág.
1	ALGUNAS CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DE LOS SUELOS EMPLEADOS -----	27
2	INDICE DE AGALLAMIENTO DE LAS RAICES DE PLANTAS DE FRIJOL DE LA PRIMERA FECHA DE SIEMBRA -----	30
3	EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL NUMERO DE HUEVECILLOS POR GRAMO DE RAIZ, EN LA PRIMERA FECHA DE SIEMBRA -----	32
4	EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE EL NUMERO DE HUEVECILLOS POR GRAMO DE RAIZ. PRIMERA SIEMBRA -----	33
5	EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL PESO DE LA RAIZ. PRIMERA SIEMBRA -----	34
6	EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE LA ALTURA DE LA PLANTA. PRIMERA SIEMBRA -----	35
7	EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE EL PESO DEL FOLLAJE EN AMBOS TRATAMIENTOS EN LA PRIMERA SIEMBRA -----	36
8	EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE EL PESO DE LAS VAINAS, EN LA PRIMERA FECHA DE SIEMBRA -----	36
9	INDICE DE AGALLAMIENTO DE LAS RAICES DE PLANTAS DE FRIJOL DE LA SEGUNDA FECHA DE SIEMBRA -----	38
10	EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL NUMERO DE HUEVECILLOS POR GRAMO DE RAIZ, EN LA SEGUNDA SIEMBRA -----	42
11	EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE EL PESO DE LA RAIZ EN LOS TRES TRATAMIENTOS, PERTENECIENTES A LA SEGUNDA FECHA DE SIEMBRA-----	43
12	EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL PESO DE LA RAIZ, EN LA SEGUNDA SIEMBRA -----	44
13	EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE LA ALTURA DE LAS PLANTAS BAJO LOS TRES TRATAMIENTOS, EN LA SEGUNDA FECHA DE SIEMBRA -----	47
14	EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL PESO FRESCO DEL FOLLAJE EN LA SEGUNDA SIEMBRA -----	48

CUADRO		Pág.
15	EFFECTO DE LOS SUELOS EN EL PESO DE LAS VAINAS EN LA SEGUNDA FECHA DE SIEMBRA -----	49
FIGURA		
1	HUEVECILLOS DE <i>Meloidogyne incognita</i> parasitados por <i>Paecilomyces lilacinus</i> -----	52
2	<i>Paecilomyces lilacinus</i> : (a) Conidioforo, (b) Conidios ---	54

R E S U M E N

Debido a la importancia que tiene como alimento el frijol (*Phaseolus vulgaris*, L. var. Black Vallentine) y su susceptibilidad a ser parasitado por *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood, principalmente en zonas de clima templado y cálido, se seleccionó este cultivo con el fin de observar el efecto de tres suelos de diferente localidad, en la actividad parasítica del hongo *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson sobre el nemátodo.

Se realizaron dos siembras bajo condiciones de invernadero; la primera tuvo como fin establecer el nemátodo en los tres suelos empleados, inoculando huevecillos de *M. incognita* en cada uno de ellos; la segunda tuvo como objetivo probar el efecto del hongo sobre la población de *M. incognita*, inoculando *P. lilacinus* en los suelos previamente infestados con el nemátodo. La efectividad parasítica del hongo se evaluó con base en el número de huevecillos de *M. incognita* extraídos de las raíces, índice de agallamiento de las mismas y algunas características de las plantas de frijol, así como la producción de sus vainas.

Los resultados obtenidos indicaron que los tres suelos donde fue inoculado el hongo, no alteraron su capacidad parasítica ya que en los tres casos la mayoría de los huevecillos producidos por *M. incognita* fueron parasitados por *Paecilomyces lilacinus*, reduciendo considerablemente su número.

Sin embargo, el suelo franco presentó las mejores condiciones para que se llevara a cabo la interrelación: *P. vulgaris*-*M. incognita*-*P. lilacinus*, en la que el hongo pudo controlar al nemátodo y la planta logró una buena producción de vainas.

Se confirmó que *P. lilacinus* parasitó los huevecillos y el hongo pudo reaislarse de los suelos inoculados empleando un medio de Quitina-agar-Rosa de Bengala.

I. INTRODUCCION

El frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.) por su amplia adaptación es uno de los cultivos hortícolas más comunes en América; en México constituye la base de la alimentación por la gran calidad alimenticia de sus semillas que son ricas en proteínas, ocupando el segundo lugar en importancia en cuanto a su volumen de consumo y superficie dedicada a su cultivo. Esta leguminosa se produce en casi toda la República Mexicana, en 1984 se sembraron 1 millón 873 mil ha, de las cuales 168 mil fueron de riego y 1 millón 705 mil de temporal, lo que equivale al 9 y 91%, respectivamente. En ese año la producción de frijol fue de 218 mil toneladas (Anónimo, 1984).

En general el rendimiento promedio por hectárea es bajo debido al uso de variedades regionales no mejoradas (susceptibles a enfermedades), a bajas densidades de siembra y a la tecnología ancestral utilizada en las siembras de temporal, que trae como consecuencia un escaso e incorrecto uso de fertilizantes y el inadecuado control de plagas, malezas y enfermedades.

El cultivo se practica casi todo el año, tanto en regiones húmedas como secas y en alturas que van desde el nivel del mar hasta los 2 300 m sobre éste, lo cual indica que el frijol se cultiva bajo diversas condiciones ecológicas, que pueden favorecer la aparición de problemas patológicos en algunas regiones.

Las enfermedades del frijol causan daños severos que van desde reducciones en el rendimiento y la calidad de la semilla hasta la muerte de la planta en cualquier estado de su desarrollo. Son varios los agentes patogénicos (hongos, bacterias y virus) causantes de las enfermedades más comunes; también de gran importancia son los nemátodos fitoparásitos que lesionan las raíces y/o penetran en ellas causando en algunos casos la formación de agallas; según sus hábitos se pueden clasificar como ectoparásitos o endoparásitos y estos últimos como sedentarios o migratorios (Taylor, 1971). Las especies más comunes que atacan las raíces de frijol se encuentran dentro de los géneros *Meloidogyne* y *Pratylenchus* y de menor importancia *Belonolaimus* y *Heterodera*. Las especies del género *Meloidogyne* son endoparásitos sedentarios; la infección se inicia cuando las larvas de segundo estado penetran en la raíz en donde crecen y mudan dos veces más. El macho se alarga y después de la última y cuarta muda abandona la raíz; las hembras se van hinchando conforme avanza su desarrollo hasta tomar aspecto piriforme y permanecen dentro de la raíz. La reproducción puede realizarse en ausencia de los machos, por partenogénesis y los huevecillos son depositados en un material gelatinoso en donde se desarrollan desde la fase monocelular hasta una larva de segundo estadio, reiniciándose así nuevamente el ciclo.

El nemátodo induce la formación de células "gigantes" en el parénquima vascular de la raíz y una hipertrofia de las células corticales vecinas, lo cual provoca un engrosamiento del tejido radical llamado agalla; esto trae como consecuencia alteraciones fisiológicas que se reflejan en las partes aéreas de la planta, como clorosis o "quemazones" de las hojas y marchitamiento del follaje.

Meloidogyne spp., se ha registrado en casi todos los estados del país; en Morelos este género provoca muchos problemas, llegando a causar reducciones hasta del 80% en la producción del frijol y en algunos casos la pérdida es del 100% de la cosecha. El Valle de Tenextepango, Mor., está altamente infestado y tiene una superficie cultivable de aproximadamente 30 000 ha siendo la infestación tan fuerte que algunos agricultores están dejando de sembrar hortalizas (Sosa-Moss y Castillo, 1981a).

La forma como se ha tratado de controlar la infección ha sido por medio de productos químicos; sin embargo, este método de control es sumamente caro y mal empleado, por lo que es necesario buscar otros medios que permitan reducir los daños y pérdidas que ocasiona el nemátodo.

La necesidad de encontrar medidas de control menos costosas y que puedan complementarse ha dado importancia al control biológico, el cual permite regular por medio de organismos naturales la abundancia de un patógeno; con estos agentes de control biológico es posible, en algunos casos, reducir la densidad de inóculo por debajo del nivel que causa daños económicos. Este tipo de control existe en condiciones naturales o puede inducirse por la manipulación ya sea el medio ambiente del huésped o del organismo antagonista, o bien con la introducción masiva de uno o más antagonistas (Baker y Cook, 1974).

Un ejemplo de este tipo de control, es el que se realiza con el hongo *Paecilomyces lilacinus* que es capaz de parasitar huevecillos y hembras de *Meloidogyne incognita*; fue descubierta su capacidad parasítica por Jatala *et al.*, en 1978 en Perú (1979a) y desde entonces se han realizado varios estudios que muestran su efectividad en el control de

las poblaciones del nemátodo.

Por todo lo antes mencionado, los objetivos del presente estudio fueron los siguientes:

1. Determinar la actividad parasítica de *Paecilomyces lilacinus* sobre *Meloidogyne incognita* en tres tipos de suelo de diferente localidad.
2. Verificar si bajo las condiciones de estudio, el hongo es un agente eficaz de control biológico de *Meloidogyne incognita*, midiendo su actividad con base en el número de huevecillos y grado de agallamiento de las raíces producidas por el nemátodo y al rendimiento del frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*, L. var. Black Valentine).

II. REVISION DE LITERATURA

Existen una serie de interrelaciones entre los componentes de la microflora y microfauna del suelo; tal es el caso de la relación entre nemátodos parásitos de vegetales y un grupo de hongos que afectan el crecimiento de sus poblaciones, actuando como agentes de control biológico...

Este tipo de hongos son llamados nematófagos y pueden dividirse en los siguientes grupos: los llamados "atrapadores" que producen micelios relativamente extensos y que forman órganos de captura; los endoparásitos que son predominantemente endozoicos y que emergen del huésped sólo en el tiempo de esporulación; parásitos de huevecillos y quistes, y otros que producen metabolitos tóxicos para los nemátodos (Mankau, 1980b). De todos éstos, los más conocidos son los atrapadores que presentan dos tipos de mecanismo en sus trampas; unas son adhesivas (redes, mallas hifales, ramas laterales y nudos) y otras son mecánicas (lazos y anillos constrictores).

De acuerdo a las formas de parasitismo los hongos son efectivos en competencia, antibiosis, predación e hiperparasitismo. La mayoría de las especies de hongos endoparásitos y atrapadores de nemátodos son saprófitos y cosmopolitas, por lo que se dice que tienen aplicabilidad universal (Mankau, 1980b); su importancia ecológica radica en el hecho de que intervienen en los ciclos del carbono, nitrógeno y otros elementos importantes en la naturaleza, ayudando a convertir la materia orgánica en sustancias

asimilables por las plantas (Mankau, 1980c).

Con respecto a la relación entre los nemátodos y los hongos, las primeras observaciones fueron efectuadas a mediados del siglo pasado por Fresenius en 1852, quien describió un hongo que formaba conidios de dos células con aspecto de nudo; se trataba de un hongo atrapador al que llamó *Arthrobotrys oligospora* al que posteriormente Woronin en 1870, lo reportó como un organismo que forma mallas o hifas que se entrelazan, toda esta información es citada por Pramer (1964). Es en la siguiente década cuando Zopf realiza observaciones de un hongo que atrapa a un organismo vivo, siendo este investigador el primero en descubrir la relación "predador-presa" entre un hongo y un animal en la rizosfera; en sus estudios aisló de estiércol algunos nemátodos que frecuentemente se encontraban infectados con hifas de *A. oligospora* (Capstick, 1957).

Rham observó en 1922, que nemátodos de vida libre que vivían en musgo, también eran capturados por *A. oligospora* y por *Harposporium anguillulae* (Capstick, 1957). Estos conocimientos dieron origen a ensayos exploratorios con hongos que actúan como agentes de control biológico de nemátodos, que se iniciaron antes de la Segunda Guerra Mundial. En 1937 varios micólogos americanos, entre ellos Dreschler, publicaron un artículo con once especies nuevas, mencionando que gracias a la utilización de un medio nutritivo claro, fue posible hacer observaciones sobre las interacciones entre los nemátodos y los hongos. Linford y Yap en 1939 (Capstick, 1957) encontraron mecanismos de trampas en micelios de varias especies de hongos atrapadores al trabajar con el nemátodo agallador de la piña. En 1957, Capstick observó en suelos orgánicos de bosque la presencia de estos hongos, aunque no confirmó su actividad antagonista

sobre los nemátodos.

La mayoría de los hongos nematófagos pertenecen a los Deuteromycetes dentro del Orden Moniliales (géneros *Arthrobotrys*, *Dactylella*, *Dactylaria* y *Trichotecium*); sin embargo, Duddington y Pramer (1964) describieron algunos hongos atrapadores pertenecientes a los Phycomycetes y Basidiomycetes.

Para 1976 (a) Mankau cita 30 especies de hongos atrapadores y 4 de hongos parásitos y reporta resultados de estudios sobre la distribución de ellos y la de los nemátodos, tomando en cuenta la profundidad del suelo.

Dentro de los hongos nematófagos se ha ignorado el potencial del grupo de hongos que parasitan huevecillos como posibles agentes de control biológico, debido principalmente a dos razones: el poco conocimiento de su biología y la dificultad de aislarlos en cultivo puro. Al referirse a este tipo de hongos, Cooke (1968) indica que poseen conidios adhesivos que facilitan su parasitismo sobre nemátodos fitoparásitos.

Barron (1977) menciona que el hongo nematófago parásito de huevecillos mejor conocido es *Rophalomyces elegans* el cual ataca especies de *Rhabditis*; también señala que los huevecillos parecen ser vulnerables al ataque de especies flageladas de *Chytridiomycetes* y *Oomycetes*.

En 1979 Stirling *et al.*, reportaron el primer parásito de huevecillos de *Meloidogynespp.*, *Dactylella oviparasitica* en huertos de durazno; estos autores realizaron varias observaciones entre ellas que el hongo es capaz de sobrevivir sin el nemátodo, no obstante que los huevecillos son su fuente principal de alimento; además el número de masas de - - -

huevecillos parasitados es mayor en la rizosfera que fuera de ella.

Otro hongo parásito de huevecillos de *Meloidogyne* es conocido como *Paecilomyces lilacinus*, su actividad parasítica fue descubierta en 1978 por Jatala *et al.* (1979a) en el Centro Internacional de la Papa (CIP) en Lima, Perú, quienes observaron que masas de huevecillos en raíces de papa agalladas por *Meloidogyne* spp., traídas de Huanuco, Perú se encontraban parasitadas por el hongo; al inocular el hongo artificialmente, éste invade tanto masas de huevecillos de *M. incognita* como quistes de *Globodera pallida*, infectando del 70 al 90% de huevecillos y penetrando en hembras maduras de *Meloidogyne* spp. El hongo pertenece a la División Deuteromycete, grupo Hyphomycetes y al orden Moniliales, se caracteriza por tener hifas hialinas y septadas; produce conidios hialinos, unicelulares y ovoides en cadenas basípetas (Barnett, 1972).

P. lilacinus se desarrolla y esporula en medio de cultivo tanto de Jugo V8 y CaCO_3 como en el de Papa-Dextrosa-agar (PDA), en un período de 48 hrs., a 25°C; al inocularlo al suelo, en un período de 10 a 12 días, penetra, crece y destruye el embrión, tiene también la capacidad de destruir hembras en desarrollo introduciéndose en ellas a través del ano o la vulva (Jatala, 1979b).

En relación a sus exigencias ecológicas puede desarrollarse en temperaturas de 20°C a 30°C y en una amplia variedad de niveles de pH del suelo, lo que le confiere características muy favorables para ser usado en diferentes climas y suelos (Jatala, 1980c).

Para reproducir e inocular *P. lilacinus* al suelo, se recomienda utilizar granos esterilizados de cereales (trigo, avena, arroz, etc.)

como portadores del hongo debido a que los granos proporcionan un medio nutritivo para su desarrollo y constituyen una forma práctica de agregarlo al suelo (Jatala, 1980f).

Su eficiencia en el cultivo de la papa se ha determinado tanto en invernadero como en campo, realizándose comparaciones con tratamientos químicos o con el efecto de la adición de materia orgánica. Se ha obtenido una reducción mayor del índice de agallamiento de la raíz en las parcelas tratadas con el hongo en comparación con las tratadas con Temik 10%, Nematicur 5% y Furadán 5% o con materia orgánica (Jatala, 1980d).

En cultivo de tomate también se compararon tratamientos con *P. lilacinus* y Carbofuran obteniendo nuevamente el rendimiento más alto en las parcelas tratadas con el hongo que en las testigo y en aquellas con nematicida (Anónimo, 1982).

Otro estudio realizado en el CIP en Perú, tuvo como objetivo observar su permanencia en el suelo, encontrándose que aparentemente una aplicación del hongo es suficiente para que se establezca (Jatala, 1981g). Además, se comprobó que el hongo no afecta negativamente a las plantas cultivadas; sin embargo, Sosa Moss *et al.* (1982b) señalan cierto efecto negativo en *Phaseolus vulgaris*, L., en el cual observaron amarillamiento de las hojas inferiores, cuando se aplicó *P. lilacinus* en una cantidad de inóculo elevada.

Aparentemente *P. lilacinus* no causa daño a seres humanos ni altera el medio ambiente en el que se desarrolla; su efecto es de acción prolongada y su costo es relativamente bajo (Jatala, 1980c), características que le dan un gran potencial como agente de control biológico.

III. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el invernadero general y los laboratorios de Nematología y de Ecología de Fitopatógenos del Suelo, del Centro de Fitopatología en el Colegio de Postgraduados en Chapingo, Méx.

A. Condiciones Generales del Experimento

Se realizaron dos siembras de frijol negro ejotero, la primera tuvo como fin infestar el suelo con el nemátodo agallador *Meloidogyne incognita*, mediante la inoculación de huevecillos contenidos en trozos de raíces agalladas por el nemátodo; un mes después de hacer la primera cosecha se llevó a cabo la segunda siembra en las mismas macetas de la primera, donde se inoculó el hongo *Paecilomyces lilacinus* con el objeto de observar su efecto sobre la población de *M. incognita*.

a. Colecta y tratamiento de los suelos empleados en la investigación

Se utilizaron tres tipos de suelo provenientes de diferentes localidades donde se siembra frijol. Estas localidades y la nomenclatura que se les dio son las siguientes:

Primera localidad (T_{1-1}): Ubicada a la altura del Km 27 de la carretera México-Texcoco--Veracruz.

Segunda localidad (T_{1-2}): Está sobre la carretera México-Cuautla en el Km 77.

Tercera localidad (T_{1-3}): Pertenece a la zona de Tenextepango, Mor., y queda situada 1 Km después del pueblo llamado Colonia Heredia. Este suelo se encuentra naturalmente infestado por *M. incognita*.

En el invernadero general se esterilizaron aproximadamente 75 kg de cada tipo de suelo con Bromuro de Metilo y el suelo restante se dejó tal como se colectó en condiciones naturales, para posteriormente, ambos utilizarse en las siembras.

b. Determinación de algunas características fisicoquímicas de los tres tipos de suelo

A cada suelo se les practicaron las siguientes pruebas:

Textura: Para realizar esta prueba, primeramente se eliminó la materia orgánica de cada uno de los suelos y después se procedió a determinar el porcentaje y clase de partículas que los constituían por medio del método del Hidrómetro de Bouyucos.

pH: El cálculo del potencial de iones hidrógeno se determinó mediante el uso del potenciómetro.

CIC: La capacidad de intercambio catiónico de los suelos se determinó por medio de la técnica de Centrifugación y Acetato de Amonio IN pH 7; este análisis fue realizado por el Ing. Norberto Bautista A., en el Laboratorio de Investigación y Servicio de la UACH.

c. Condiciones generales de las siembras

Se emplearon 90 macetas de plástico con capacidad de 5 kg, las cuales se lavaron previamente para después ser llenadas con 4 kg de suelo correspondiente al tratamiento asignado a cada una. Cada tratamiento contó con 5 repeticiones y cada repetición estuvo representada por 3 plantas ya que en cada maceta se sembraron 3 semillas de frijol.

La primera fecha de siembra tuvo diferencia con la segunda en cuanto al número de repeticiones de los tratamientos donde fue inoculado el nemátodo (*), para éste se efectuaron 10 repeticiones debido a que 5 de ellas serían utilizadas para la inoculación del hongo en la segunda fecha de siembra, la cual requería que los suelos estuvieran previamente infestados con el nemátodo.

Las macetas fueron distribuidas al azar, el riego se efectuó de 5 a 6 veces por semana; la temperatura ambiente en el invernadero osciló entre 20°C y 30°C, eventualmente se hicieron aplicaciones de Tamarón al 1.5% para controlar la mosquita blanca.

A continuación se enlistan los tratamientos aplicados en la primera y segunda fecha de siembra respectivamente:

 Tratamientos de la primera fecha de siembra

Franco natural sin nemátodo.
 Franco esterilizado sin nemátodo.
 Franco natural con nemátodo (*).
 Franco esterilizado con nemátodo (*).
 Franco-arenoso natural sin nemátodo.
 Franco-arenoso esterilizado sin nemátodo.
 Franco-arenoso natural con nemátodo (*).
 Franco-arenoso esterilizado con nemátodo (*).
 Franco-arcillo-arenoso natural sin nemátodo.
 Franco-arcillo-arenoso esterilizado sin nemátodo.
 Franco-arcillo-arenoso natural con nemátodo (*).
 Franco-arcillo-arenoso esterilizado con nemátodo (*).

(*) Se realizaron 10 repeticiones para cada uno de estos tratamientos ya que los otros sólo contaron con 5 repeticiones.

 Tratamientos de la segunda fecha de siembra

Franco natural sin hongo y sin nemátodo.
 Franco esterilizado sin hongo y sin nemátodo.
 Franco natural sin hongo y con nemátodo.
 Franco esterilizado sin hongo y con nemátodo.
 Franco natural con hongo y con nemátodo.
 Franco esterilizado con hongo y con nemátodo.
 Franco arenoso natural sin hongo y sin nemátodo.
 Franco-arenoso esterilizado sin hongo y sin nemátodo.
 Franco-arenoso natural sin hongo y con nemátodo.
 Franco-arenoso esterilizado sin hongo y con nemátodo.
 Franco-arenoso natural con hongo y con nemátodo.
 Franco-arenoso esterilizado con hongo y con nemátodo.
 Franco-arcillo-arenoso natural sin hongo y sin nemátodo.
 Franco-arcillo-arenoso esterilizado sin hongo y sin nemátodo.
 Franco-arcillo-arenoso natural sin hongo y con nemátodo.
 Franco-arcillo-arenoso esterilizado sin hongo y con nemátodo.
 Franco-arcillo-arenoso natural con hongo y con nemátodo.
 Franco-arcillo-arenoso esterilizado con hongo y con nemátodo.

Se realizaron 5 repeticiones de cada tratamiento.

d. Obtención del inóculo del nemátodo

Para la obtención de *M. incognita* se colectaron plantas de frijol que presentaron los siguientes síntomas: escaso desarrollo vegetativo, clorosis y presencia de agallas en el sistema radical. Las raíces se separaron y guardaron con parte del suelo en bolsas de polietileno etiquetadas; todas las muestras se trajeron de terrenos de Tenextepango; Mor., y fueron refrigeradas posteriormente a 4°C hasta su empleo.

Con el fin de tener un cálculo aproximado de los huevecillos que contenía 1 g de raíz agallada, las muestras se procesaron para extraer los huevecillos de las raíces mediante la técnica de Hussey y Barker (1973) a la que se hicieron algunas modificaciones que se explican a continuación:

De las muestras traídas de campo se escogieron las raíces más agalladas y se lavaron perfectamente evitando que cayera el chorro de agua directamente sobre ellas; se escurrieron y picaron finamente con las tijeras; el material resultante se homogeneizó y de ahí se tomó 1 g que fuera representativo del total de las raíces, haciendo de esto tres repeticiones. Estas raíces se licuaron con 200 ml de solución clorada durante 3 minutos (tiempo suficiente para dispersar los huevecillos de las masas gelatinosas) teniendo cuidado de no exponerlas por más del tiempo mencionado a la acción del Hipoclorito de Sodio (0.4%), ya que éste puede dañar los huevecillos de la muestra.

La suspensión resultante se pasó primero por un tamiz de 30 mallas recogiendo el líquido en una cubeta y lavando las fracciones de raíz que quedaron en el tamiz bajo el chorro de agua corriente; la suspensión de

huevecillos que quedó en la cubeta, se agitó y pasó por el tamiz de 500 mallas; el material que quedó retenido en este último tamiz se virtió con ayuda de una piceta en frascos de vidrio con capacidad de 15 ml.

Para el conteo de los huevecillos se agitó la muestra para homogeneizar la suspensión de los mismos y con una pipeta se tomaron 3 ml los cuales fueron depositados en una caja contadora (de forma rectangular y superficie cuadrículada), bajo un microscopio estereoscópico se procedió a contar cuidadosamente con la ayuda además de un contador manual, lo que se repitió tres veces para hacer el promedio y obtener mayor precisión.

B. Infestación de los suelos con *Meloidogyne incognita* en la primera fecha de siembra de frijol

La inoculación de los huevecillos del nemátodo se realizó por medio de trozos de raíces agalladas por *M. incognita* cinco días después de la siembra; se inocularon 25 000 huevecillos aproximadamente por maceta; como 1 g de raíz contenía aproximadamente de 4 000 a 6 000 huevecillos, se utilizaron 5 g de trozos de raíces agalladas para cada maceta con 4 kg de suelo. Los trozos de raíz agallada (no mayores de 1 cm de largo) fueron desinfectados previamente durante tres minutos con Captán al 0.2% (Sosa-Moss, 1986c), posteriormente se mezclaron con el suelo correspondiente a los tratamientos con la inoculación de *M. incognita* tratando de introducir los trozos de raíz en el suelo a una profundidad de 5 cm aproximadamente.

Después de cosechar y evaluar los parámetros correspondientes a las plantas, los cuales se mencionarán más adelante, se determinó el agallamiento de las raíces y posteriormente se llevó a cabo la extracción y conteo de los huevecillos como se describió anteriormente, procesándose

9 muestras de raíz por maceta (3 por planta).

A cada frasco que contenía la suspensión de huevecillos se le agregaron 0.5 ml de formalina al 5% para preservar las muestras; después se contaron 3 alícuotas de 3 ml de cada una de las muestras, por lo que fueron 27 conteos por maceta y 135 por tratamiento (suelo/condición del suelo/nemátodo).

C. Inoculación y reaislamiento de *Paecilomyces lilacinus* en la segunda siembra de frijol

a. Preparación del inóculo de *P. lilacinus*

Una cepa del hongo *P. lilacinus* fue proporcionada por el Dr. Parviz Jatala del Centro Internacional de la Papa (CIP) de Lima, Perú. El hongo se encontraba en un medio de arena dentro de un frasco de vidrio, por lo que fue necesario reaislarlo para hacerlo crecer y propagarlo. Se utilizó la metodología descrita por Jatala (1981f) que se explica a continuación.

Se agitó el tubo de vidrio que contenía el cultivo de arena y asepticamente se colocó una pizca del medio en un tubo de ensaye que contenía 9 ml de agua destilada y esterilizada, mezclándola bien; se realizaron dos diluciones más; de la primera se tomó 1 ml y se agregó a otro tubo que contenía 9 ml de agua destilada y esterilizada y después se repitió nuevamente este paso. De la tercera dilución se tomaron 2 ó 3 gotas de la solución y se colocaron sobre una placa con medio de cultivo de Papa-Dextrosa-Agar (PDA) extendiendo el líquido con un asa triangular de vidrio, esterilizada, sobre el medio. Se prepararon 20 cajas Petri incubándolas a 28°C.

Una vez obtenidas las colonias del hongo, se procedió a preparar el inóculo empleando arroz como medio de cultivo nutritivo para propagar a *P. lilacinus* mediante la técnica rústica sugerida por Jatala *et al.*, a la cual se le hicieron algunas modificaciones para obtener mejores resultados.

Primeramente se lavaron los granos de arroz con agua corriente; el arroz se hirvió por 3 minutos y se vació sobre una coladera dejándolo escurrir y enfriar un poco; previamente se prepararon bolsas de plástico de 18 x 26 cm desinfectándolas con Hipoclorito de Sodio al 0.5%.

Los siguientes pasos se efectuaron en una cámara de flujo laminar ya que de esta manera se evitó la contaminación del medio; el arroz se extendió sobre papel secante esterilizado para evitar el exceso de agua, vaciando después en cada bolsa de plástico 250 g de arroz; dentro de la bolsa se colocaron trozos pequeños del medio de PDA con el hongo. Ya agregado el inóculo se agitaron las bolsas tratando de dispersar los trozos del agar en el arroz; posteriormente se sellaron y colocaron en forma horizontal tratando de extender el arroz dentro de ellas para favorecer el crecimiento homogéneo del hongo.

Las bolsas fueron almacenadas en una gaveta a temperatura ambiente hasta que *P. lilacinus* cubrió casi o totalmente los granos de arroz.

b. Inoculación de *P. lilacinus* a los suelos

Un mes después de la primera cosecha, se volvió a sembrar frijol y quince días después se adicionó a los suelos el inóculo del hongo preparado previamente; para esto, de las bolsas con 250 g de arroz colonizado se tomaron aproximadamente 18 g y se mezclaron con el suelo de cada

maceta a una profundidad de 5 a 10 cm; los suelos inoculados fueron los correspondientes al tratamiento de nemátodo (*M. incognita*) con hongo (*P. lilacinus*); se tomaron cuidados para evitar la contaminación de los otros tratamientos y el maltrato de las plántulas de frijol.

La cantidad de inóculo empleada (4.5 g/kg de suelo) se determinó con base a un ensayo preliminar que se realizó con el fin de encontrar y comprobar la cantidad óptima de gramos de arroz por kilogramo de suelo en el cultivo de frijol; la prueba se basó en un estudio elaborado por Jatala (1981e) en cultivo de papa; en el caso de frijol se inocularon cantidades de 2.5 g, 7.0 g y 14 g por kilogramo de suelo, obteniendo como resultados que de 2.5 a 7 g de granos de arroz por kilogramo de suelo no se observaron alteraciones en las plantas, ya que cantidades elevadas ocasionan cierta clorosis en las hojas, lo cual confirma los resultados obtenidos por Sosa-Moss *et al.* (1982b).

La evaluación del segundo experimento formal, se realizó tres meses después de la siembra; se cosechó y se realizó la extracción de huevecillos de las raíces agalladas por medio de la técnica de Hussey y Barker (1973) anteriormente descrita. Esto se hizo primeramente en el tratamiento que contenía el hongo, para realizar inmediatamente el conteo de los huevecillos ya que no era posible fijarlos, pues la Formalina (5%) alteraría la presencia del hongo dentro de ellos; además era necesario mantenerlos en condiciones naturales para posteriormente realizar la prueba de comprobación del parasitismo por el hongo. Se hicieron nuevamente los conteos de las alícuotas de 3 ml con tres repeticiones por muestra y 135 por tratamiento (Tipo de suelo/condición del mismo/inoculación hongo-nemátodo).

c. Prueba de comprobación de huevecillos de *M. incognita* parasitados por *P. lilacinus*

Con el fin de comprobar que los huevecillos del nemátodo fueron parasitados por el hongo nematófago, las muestras de los huevecillos ya extraídos en la segunda cosecha, se colocaron sobre placas de agar-agar con el objeto de observar el crecimiento del hongo, ya fuera dentro del huevecillo o alguna de sus estructuras en el medio de cultivo; los huevecillos después de ser extraídos se centrifugaron para poder eliminar la basura que pudiera contaminar el medio de agar-agar. Este procedimiento se aplicó a las muestras pertenecientes al tratamiento de inoculación de *M. incognita*/*P. lilacinus* en tres suelos.

El procedimiento de centrifugación de las muestras fue el siguiente:

Cada muestra se colocó en tubos para centrífuga, agregando primeramente media cucharadita de Caolín y sometiendo a centrifugación a 3 500 rpm por 1 minuto; se tiró el sobrenadante del tubo y posteriormente se agregó una solución azucarada al 55% removiendo el sedimento con un agitador de vidrio y se volvió a centrifugar a 3 500 rpm durante 1 minuto; el sobrenadante resultante se colectó en un tamiz de 500 mallas. El material retenido en el tamiz se transfirió a frascos con capacidad de 15 ml con ayuda de una piceta conteniendo agua destilada, esterilizada.

Después de realizado el conteo de huevecillos, en condiciones asépticas con una pipeta esterilizada (1 ml), se colocaron 0.5 ml de la suspensión que los contenía en las placas con medio de cultivo de agua-agar. La muestra fue homogeneizada con el objeto de que la cantidad de huevecillos "sembrada" fuera representativa.

Las placas se incubaron a 29°C, observándose diariamente bajo el microscopio compuesto hasta ver la aparición de hifas del hongo *P. lilacinus* sobre el medio, se prepararon 3 placas por maceta por lo que fueron 15 placas por tratamiento.

d. Reaislamiento de *P. lilacinus* de los suelos inoculados

Para poder comprobar la presencia del hongo en los suelos inoculados con el mismo, se procedió a reaislarlo después de la segunda cosecha. Para este fin se usó el medio de Quitina-agar-Rosa de Bengala (Q-a-RB) reportado por Godoy (1982) haciendo también varias modificaciones a esta técnica.

En este caso no fue empleada la quitina comercial en polvo, sino que se hizo la extracción de la misma empleando cutícula de crustáceos (cáscara de camarón), en el Laboratorio de Bioquímica del Colegio de Postgraduados, mediante el procedimiento que se muestra en la página No. 22.

El medio de Quitina-agar-Rosa de Bengala se preparó de la siguiente forma:

En un matraz Erlenmeyer (cap. 1000 ml) se colocaron 500 ml de agua destilada, 2 ml de solución de quitina, 0.5 g de Fosfato de Potasio, 0.25 g de Sulfato de Magnesio, 5 ml de solución de sales minerales * (en el siguiente párrafo se indica su preparación), 0.5 ml de Rosa de Bengala al 1% (P/V) y 10 g de agar; el matraz se tapó y esterilizó en una olla de presión de vapor a 15 lb durante 20 minutos.

*Solución de sales minerales: para 1000 ml de agua destilada se agregan 1 g de Sulfato de Hierro, 1 g de Sulfato de Manganeso, 1 g de Sulfato de Zinc y 2 gotas de Acido Sulfúrico concentrado.

Después de haber esterilizado el medio, se dejó entibiar para agregar 0.11 g de estrptomina, ajustando también el pH del medio a 5 mediante Acido Sulfúrico 1 N.

Dentro de una cámara de flujo laminar se vació el medio en las cajas de Petri (5 ml/caja) y se dejó solidificar, cubriendo las cajas con una manta para evitar la incidencia de luz y así la alteración del Rosa de Bengala.

Se realizaron dos diluciones del suelo inoculado con el hongo, las diluciones para cada muestra se hicieron mezclando 1 g de suelo en 9 ml de agua destilada-esterilizada contenida en tubos de ensaye; de la primera dilución se pasó 1 ml a otro tubo que contenía 9 ml de agua destilada esterilizada (segunda dilución); de cada una se tomaron 0.5 ml y se colocaron sobre el medio de Q-a-RB, distribuyendo la suspensión con un asa de vidrio sobre el medio; se realizaron 5 repeticiones por dilución para cada muestra de suelo inoculado con *P. lilacinus*.

Ya listas las cajas se incubaron a 28°C - 29°C, realizando observaciones diarias hasta la aparición del hongo (propágulos).

Extracción de quitina a partir de cutícula de crustáceos.

Técnica modificada de Lingappa y Lockwood (1962) por M.C. Haydeé Hdz.U.

- Pulverizar 100 g de cáscara de camarón
- Agregar 350 ml de NaOH 1N y agitar por 10 minutos, pasar por una manta de cielo y desechar el material retenido.
- Agregar 350 ml de HCl 1N a la suspensión colectada, agitar por 10 minutos; volver a filtrar. Repetir 3 veces.
- Colocar en frasco ámbar la última solución filtrada y agregar 500 ml de etanol. Dejar reposar por 24 horas en cuarto frío. Realizar 2 cambios similares cada 24 horas.
- Decantar y filtrar la última suspensión (desechar la fase líquida).
- Remover con un poco de acetona el material semisólido colectado.
- Agregar HCl concentrado (150 ml) lentamente, realizar bajo el chorro de agua corriente.
- Agitar la suspensión por 20 minutos dentro de una campana extractora.
- Filtrar la suspensión a través de una capa de lana de vidrio en un embudo Buchner.
- Colectar el filtrado en 500 ml de agua destilada en un frasco ámbar. Dejar reposar por 24 horas en un cuarto frío.
- Decantar y desechar la fase líquida.
- El precipitado se centrifuga a 6 000 rpm durante 20 minutos. Desechar el sobrenadante.
- Resuspender la pastilla en agua destilada esterilizada.
- Agregar 4 ml de NaOH 1N a la solución resultante. Dejar reposar hasta que precipite. Desechar la fase líquida.
- Resuspender en agua destilada esterilizada para "lavar" la suspensión. Dejar reposar nuevamente para que precipite la proteína. Desechar la fase líquida.
- La proteína precipitada se resuspende en agua destilada esterilizada aforando a 500 ml.
- Mantener la suspensión en frasco ámbar y en refrigeración hasta su empleo.

D. Diseño experimental y tipo de análisis matemático

a. Parámetros evaluados

Después de tres meses aproximadamente de haber sembrado las semillas de frijol ejotero, se procedió a cosechar las plantas para evaluar los daños ocasionados por el nemátodo, el efecto del hongo en la segunda siembra y la producción de vainas o ejotes, así como las características de las plantas que se describen a continuación:

Índice de agallamiento. La evaluación de este parámetro se llevó a cabo antes de realizar la extracción de huevecillos, para esto se hicieron observaciones de la raíz de cada planta, constatando la presencia o ausencia de agallas, basándose en la Escala de Clases de Agallamiento de Taylor (1971) que van del 1 al 5 correspondiendo las siguientes características a cada una:

<u>Clase</u>	<u>Características</u>
1	Infección nula. Las raíces carecen de agallas visibles.
2	Infección muy ligera, agallas radicales (de una a unas cuantas).
3	Infección ligera. Agallas radicales poco abundantes.
4	Infección moderada. Agallas radicales abundantes.
5	Infección intensa. Agallas radicales muy abundantes.

Número de huevecillos (no. huev./g de raíz). Las raíces que se encontraban agalladas se lavaron para quitar la tierra, tratando de evitar que cayera el chorro de agua corriente directo sobre ellas, después se escogieron las agallas y se cortaron con las tijeras para pesar lo correspondiente a 1 g de raíz agallada para posteriormente realizar la extracción de los huevecillos por medio de la técnica modificada de Hussey y Barker (1973) anteriormente descrita.

Peso de la raíz (g). De la planta de frijol se separaron la parte aérea y la raíz, a ésta última se le eliminó la tierra y se pesó. Aquellas raíces que se encontraban agalladas se colocaron nuevamente con su suelo respectivo en bolsas de polietileno para posteriormente realizar la extracción de huevecillos.

Altura de la planta (cm). Las plantas se sacaron de las macetas y se midieron desde el inicio del tallo (cuello de la raíz) hasta el ápice.

Peso fresco del follaje (g). Para esta medición se cortaron las plantas al nivel del cuello de la raíz separando la parte aérea de la radical, se pesó todo lo correspondiente al tallo y follaje excluyendo las vainas, las cuales fueron separadas también de la planta.

Peso seco del follaje (g). Este parámetro sólo se consideró en la segunda fecha de siembra; después de pesar las plantas (tallo y follaje) éstas se colocaron en bolsas de papel estrasa para posteriormente deshidratarlas y secarlas en una estufa durante 72 horas, pasado este tiempo se pesaron las 3 plantas juntas que correspondieron a 1 maceta.

Número de vainas (no. va/planta). Las vainas o ejotes ya separadas de la parte aérea de la planta se contaron.

Peso de las vainas (g/planta). Después de contar los ejotes, se procedió a pesarlos, considerando el número completo de vainas por planta.

b. El diseño experimental empleado para evaluar la inoculación de *Meloidogyne incognita* sobre los diferentes parámetros evaluados de las plantas crecidas en los suelos estudiados, así como el efecto de la inoculación de *Paecilomyces lilacinus* sobre los mismos, fue el de Parcelas sub-subdivididas.

Comprendiendo 30 repeticiones por suelo, incluyendo cada uno de los tratamientos con sus 5 repeticiones, representando cada repetición el promedio de tres plantas por maceta.

Las parcelas principales o grandes fueron los tres tipos de suelo (T_1):

- 1 : Primera localidad
- 2 : Segunda localidad
- 3 : Tercera localidad

Las subparcelas o parcelas pequeñas fueron los tratamientos (T_2):

- 1 : Testigo (sin inoculación del nemátodo ni del hongo).
- 2 : Inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- 3 : Inoculación de *M. incognita* y *P. lilacinus*.

Como sub-subparcelas se consideró la condición del suelo (T_3):

- 1 : Suelo en condición natural
- 2 : Suelo esterilizado

Posteriormente, se realizó el Análisis de Varianza (ANVA) de los datos correspondientes a cada parámetro en estudio para conocer si había diferencias con respecto a los suelos, tratamientos y condición de los suelos. En el ANVA se tomó como unidad experimental el promedio de las 3 plantas por maceta, lo que correspondió a 1 repetición, siendo un total de 5 repeticiones por tratamiento.

Para el parámetro número de huevecillos por gramo de raíz, se tomó como unidad experimental el promedio de las 27 lecturas de huevecillos correspondientes a las 3 plantas por maceta (3 extracciones de huevecillos de 1 g cada una por planta, con 3 repeticiones de conteo de huevecillos cada una).

Cuando hubo diferencias significativas en el ANVA, se llevó a cabo la Prueba de Separación de Medias de Tukey para conocer las diferencias entre tratamientos, suelo y condición de los mismos con respecto a los parámetros evaluados.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

A. Determinación de algunas características fisicoquímicas de los tres tipos de suelo empleados en la investigación

Con base a las pruebas realizadas fue posible determinar las diferencias entre los suelos y clasificarlos de acuerdo a su textura (Cuadro 1). Los tres suelos pertenecen al tipo "Franco", siendo favorables para el cultivo del frijol que requiere suelos cuya textura va de "Franco-limosa" a ligeramente "Arenosa", tolerando bien los suelos "Franco-arcillosos".

CUADRO 1. ALGUNAS CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DE LOS SUELOS EMPLEADOS.

No. de control	Clasificación textural	P o r c e n t a j e			pH*	CIC** meq/100 g
		Arena	Limo	Arcilla		
T ₁₋₁	Franco	45.12	30.36	24.52	6.5	18.06
T ₁₋₂	Franco-arenoso	67.12	24.36	8.52	6.0	4.42
T ₁₋₃	Franco-arcillo-arenoso	45.12	28.36	26.52	7.0	22.52

* pH Potencial de iones hidrógeno

** CIC Capacidad de intercambio catiónico

En cuanto al estado de acidez o reacción del suelo (pH), se determinó que el franco-arenoso tenía un pH de 6, es decir, era ligeramente ácido; el franco y franco-arcillo-arenoso tenían un pH de 6.5 y 7 respectivamente y fueron considerados neutros. Los tres tipos de suelo estaban

dentro del rango óptimo para el desarrollo de la mayoría de los cultivos y dos de ellos tenían un pH favorable para el cultivo de frijol que se desarrolla bien entre pH de 5.5 a 6.5 (Anónimo, 1981). El pH se tomó en cuenta, porque determina la disponibilidad de los nutrientes para que la planta los pueda utilizar, e influye también en el desarrollo de los microorganismos habitantes de la rizosfera. Al respecto se sabe que *Meloidogyne* spp., se desarrolla en un pH que va de 4.8 a 8.0 y para *P. lilacinus* se ha encontrado un rango de tolerancia amplio que va de 2 a 10 (Domsch, 1980), por lo que el pH de los tres suelos usados en este experimento, pueden considerarse como favorables para el establecimiento de ambos organismos.

La otra propiedad fisicoquímica determinada fue la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el valor más alto (22.52 meq/100 g) correspondió al suelo franco-arcillo-arenoso, debido en parte a su alto porcentaje de arcilla (24.52%), ya que como es conocido, las partículas tanto de arcilla como la materia orgánica constituyen el material coloidal del suelo que determina la propiedad de intercambio catiónico (Foth, 1979). El valor intermedio (18.06 meq/100 g) correspondió al suelo franco y el valor más bajo (4.42 meq/100 g) lo presentó el suelo franco-arenoso, el cual contenía el porcentaje más bajo de arcilla (8.52%).

El interés de conocer esta propiedad, radica en que la oviposición y sobrevivencia de las larvas de los nemátodos, así como también el establecimiento del hongo y la absorción de nutrientes por la raíz de las plantas (Palm, 1976), se ven influenciados por varios iones y sales.

B. Infestación del suelo con *M. incognita* en la primera fecha de siembra

Después de ser inoculados los suelos con aproximadamente 25 000 huevecillos por maceta, las plantas de frijol mostraron algunas diferencias en su desarrollo y producción de ejotes, lo que permitió evaluar tanto la influencia del tipo y condición de los suelos, actuando como sustrato para el frijol, como el daño causado a éste por el nemátodo.

Por ser el índice de agallamiento una característica importante en la evaluación del desarrollo del nemátodo en la planta, los resultados correspondientes a este parámetro se analizaron por un método diferente al que se usó para analizar los otros parámetros, descrito anteriormente en la metodología.

1. Índice de agallamiento

En esta siembra se observó que el nemátodo al ser inoculado en los tres suelos, se desarrolló adecuadamente, ya que infectó las plantas ocasionando agallamiento en sus raíces; este síntoma se presentó en diferentes grados, como se muestra en el Cuadro 2.

CUADRO 2. INDICE DE AGALLAMIENTO DE LAS RAICES DE PLANTAS DE FRIJOL DE LA PRIMERA FECHA DE SIEMBRA

T r a t a m i e n t o s	Indice de Agallamiento (*)
Franco natural sin nemátodo	1
Franco esterilizado sin nemátodo	1
Franco natural con nemátodo	3
Franco esterilizado con nemátodo	3
Franco-arenoso natural sin nemátodo	1
Franco-arenoso esterilizado sin nemátodo	1
Franco-arenoso natural con nemátodo	3
Franco-arenoso esterilizado con nemátodo	3
Franco-arcillo-arenoso natural sin nemátodo	2
Franco-arcillo-arenoso esterilizado sin nemátodo	2
Franco-arcillo-arenoso natural con nemátodo	2
Franco-arcillo-arenoso esterilizado con nemátodo	4

(*) Promedio de 3 plantas por maceta con 5 repeticiones

Al observar los resultados y usando al testigo (no inoculado) como punto de comparación, con el grado 1 que indica ausencia de agallas, pue de notarse que las raíces desarrolladas en los suelos franco y franco-arenoso, que fueron inoculadas artificialmente, mostraron un índice de agallamiento de 3, lo que indica una infección de aproximadamente 60%.

En el caso del suelo franco-arcillo-arenoso con una infestación de campo, esterilizado y sin inocular, se observaron algunas agallas en las raíces, lo que indica que la esterilización con Bromuro de Metilo no fue del todo efectiva; el mismo suelo en condición natural y también sin inocular, permitieron el desarrollo de raíces con un índice de 2 (aproximadamente 40% de infección), que aunque puede considerarse como ligera, permitió comprobar la infestación natural de este suelo. Los resultados

de agallamiento para las raíces desarrolladas en el mismo suelo, pero inoculado artificialmente con el nemátodo, fueron de 2 a 4 o sea entre 40 y 80% de infección.

2. Evaluación de los parámetros registrados en la primera fecha de siembra

El diseño de parcelas sub-subdivididas que se usó, permitió analizar los parámetros considerados, de la siguiente manera:

- Relación entre los tratamientos (testigo e inoculación con *M. incognita*) y los parámetros evaluados (número de huevecillos por g de raíz, peso de raíz, peso de follaje, altura de la planta, peso y número de vainas).
- Influencia de los suelos (franco, franco-arenoso, franco-arcillo-arenoso) sobre los mismos parámetros.
- Influencia de la condición de los suelos (natural, esterilizado) también sobre los mismos parámetros.

El análisis de varianza mostró diferencias para los parámetros peso de raíz y número de huevecillos, bajo la influencia de los tratamientos, no habiendo diferencia para los otros parámetros evaluados.

En cuanto al efecto de los suelos sobre los parámetros, se presentaron diferencias en la altura de las plantas, peso fresco del follaje, peso de las vainas y número de huevecillos; en cambio para el número de vainas producidas y el peso de las raíces, no existió diferencia significativa, en relación con los tipos de suelo (franco, franco-arenoso, franco-arcillo-arenoso).

Tampoco se detectaron diferencias estadísticas en relación al efecto de la condición del suelo, sobre todos los parámetros registrados en las plantas.

Para mayor facilidad, los resultados se presentan y discuten cada uno por separado.

Número de huevecillos

Como era de esperarse, en los tres suelos, el promedio de huevecillos por gramo de raíz, presentó diferencia entre el tratamiento testigo, sin inocular, y el inoculado con *M. incognita*, ya que la prueba de separación de medias de Tukey indicó que la diferencia fue altamente significativa, correspondiendo a este último tratamiento una media de 174.8 huevecillos por gramo de raíz.

Cabe hacer notar que el valor del tratamiento testigo es de 11.91 y no de "0" huevecillos, esto se debe a que se tomaron en cuenta en el promedio, los huevecillos extraídos de las plantas pertenecientes al suelo de Tenextepango, Mor., que se encontraba naturalmente infestado. Estos resultados se muestran en el siguiente cuadro.

CUADRO 3. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL NUMERO DE HUEVECILLOS POR GRAMO DE RAIZ, EN LA PRIMERA FECHA DE SIEMBRA

Tratamientos	Número de huevecillos/g raíz \bar{x}
Inoculación de <i>M. incognita</i>	174.75 a
Testigo (sin inoculación)	11.91 b

DMS : 97.45 huev./g de raíz.

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí, $p = 0.05$

Con respecto a la influencia de los suelos sobre el número de huevecillos, se encontraron diferencias significativas en el ANVA; la prueba de separación de medias de Tukey indicó que las medias correspondientes a los suelos franco y franco-arcillo-arenoso tuvieron valores mayores que el del suelo franco-arenoso (Cuadro 4).

CUADRO 4. EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE EL NUMERO DE HUEVECILLOS POR GRAMO DE RAIZ. PRIMERA SIEMBRA

Tipos de suelo	No. de huevecillos/g de raíz \bar{x}
Franco-arcillo-arenoso	157.6 a
Franco	133.9 a
Franco-arenoso	69.86 b

DMS : 85.7 huev./g de raíz

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí, $p = 0.05$

Probablemente la razón por la cual el valor más alto corresponde al suelo franco-arcillo-arenoso, es que en éste se encuentra *M. incognita* en condiciones naturales, las que son propicias para el desarrollo de este parásito.

Por otra parte, aunque el suelo franco-arenoso contenía un 67.12% de arena que favorece el desarrollo de este género de nemátodos, mostró el número más bajo de huevecillos; es posible que otros factores tales como la humedad no hayan sido favorables. Si bien es cierto que el riego fue constante y similar, debe tenerse presente que en las macetas la percolación y evaporación del agua son más rápidas en este tipo de suelo, por lo que, al no haber suficiente agua se impidió o disminuyó tanto el movimiento de las larvas así como la eclosión de los huevecillos de los nemátodos.

Peso de la raíz

El efecto de la inoculación de *M. incognita* se expresó en un mayor peso de raíces en comparación con las plantas del tratamiento testigo (sin inocular); esto se debe a que las agallas producidas por el nemáto-do incrementan el peso normal de las raíces, como se observa en el siguiente cuadro.

CUADRO 5. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL PESO DE LA RAÍZ. PRIMERA SIEMBRA

Tratamientos	Peso de la raíz (g) \bar{x}
Inoculación de <i>M. incognita</i>	2.06 a
Testigo (sin inoculación)	1.12 b

DMS : 0.78 g

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí, $p = 0.05$

En relación con esto, Noriega y Becerra (1986), mencionan que durante la infección por *M. incognita*, la mayor parte del crecimiento de la planta se concentra en las raíces, en detrimento de la floración y del desarrollo de frutos; además indican haber observado este fenómeno de mayor peso de raíces en plantas infectadas con *M. incognita* en chile xalapeño (*Capsicum annuum*, L.). También Jiménez (1986) señala haber encontrado que raíces infectadas por *Meloidogyne* spp. presentan mayor volumen y peso, que las sanas, y mayor aún que las infectadas por algún hongo.

Altura de la planta

Las plantas que crecieron en los suelos franco y franco-arenoso mostraron en forma significativa una mayor altura en comparación con las que crecieron en el suelo franco-arcillo-arenoso; por medio de la prueba de separación de medias de Tukey se confirmaron las diferencias, como se muestra a continuación en el Cuadro 6.

CUADRO 6. EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE LA ALTURA DE LA PLANTA. PRIMERA SIEMBRA

Tipos de suelo	Altura (cm) \bar{X}
Franco	56.8 a
Franco-arenoso	44.1 a
Franco-arcillo-arenoso	39.6 b

DMS : 13.2 cm

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre si, $p = 0.05$

Peso fresco del follaje

Las plantas crecidas en los suelos franco y franco-arcillo-arenoso se mostraron más vigorosas y tuvieron una mejor producción de hojas, en comparación con las que crecieron en el suelo franco-arenoso, por lo que al separar las medias, la prueba de Tukey mostró diferencias altamente significativas (Cuadro 7) confirmando las observaciones anteriores.

CUADRO 7. EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE EL PESO DEL FOLLAJE EN AMBOS TRATAMIENTOS, EN LA PRIMERA SIEMBRA

Tipos de suelo	Peso fresco del follaje (g) \bar{X}
Franco	4.4 a
Franco-arcillo-arenoso	5.8 a
Franco-arenoso	2.6 b

DMS : 3.06 g

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí con una probabilidad de confianza de 0.05.

Peso de las vainas

Al igual que el parámetro anterior, las plantas que tuvieron una mejor producción de vainas (peso), fueron las que crecieron en los suelos franco y franco-arcillo-arenoso, correspondiendo el menor peso a las del suelo franco-arenoso. Según la prueba de Tukey podemos observar las diferencias en el siguiente cuadro.

CUADRO 8. EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE EL PESO DE LAS VAINAS, EN LA PRIMERA FECHA DE SIEMBRA

Tipos de suelo	Peso de las vainas (g) \bar{X}
Franco	5.7 a
Franco-arcillo-arenoso	5.3 a
Franco-arenoso	2.8 b

DMS : 2.23 g

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí, $p = 0.05$

C. Inoculación y reaislamiento de *Paecilomyces lilanicus* en la segunda fecha de siembra

Los resultados de esta segunda siembra se analizaron independientemente de la primera, debido a que se aplicó un tratamiento más (inoculación de *P. lilacinus*/*M. incognita*); además la época de siembra fue diferente.

Las características de las plantas de frijol, consideradas para la evaluación al tiempo de la cosecha, también mostraron diferencias que pueden atribuirse a la influencia de los tratamientos y a los suelos en los cuales se desarrollaron. A continuación se describen los resultados para cada parámetro.

1. Índice de agallamiento

La evaluación del grado de agallamiento de las raíces (Cuadro 9), indicó que en el tratamiento testigo (sin inoculación de nemátodo ni hongo) en todos los suelos, excepto en el franco-arcillo-arenoso, las raíces mostraron un valor de "I", es decir, que no hubo infección ya que el nemátodo no se inoculó, este tratamiento se usó nuevamente como punto de comparación para los otros tratamientos. En el último suelo mencionado, que fue traído de Tenextepango, Mor., hubo agallamiento de las raíces de grado 2 (infección ligera), lo cual comprobó nuevamente la infestación natural de este suelo.

Para los tratamientos en los cuales se inoculó *M. incognita* se obtuvieron diferentes valores; los más altos correspondieron al suelo franco, tanto en condición de suelo natural como esterilizado; en este caso, el índice de agallamiento fue de 4, que correspondió a una infección - -

CUADRO 9. INDICE DE AGALLAMIENTO DE LAS RAICES DE PLANTAS DE FRIJOL DE LA SEGUNDA FECHA DE SIEMBRA.

T r a t a m i e n t o s	Indice de Agallamiento
Franco natural sin hongo/sin nemátodo	1
Franco esterilizado sin hongo/sin nemátodo	1
Franco natural sin hongo/con nemátodo	4
Franco esterilizado sin hongo/con nemátodo	4
Franco natural con hongo/con nemátodo	3
Franco esterilizado con hongo/con nemátodo	3
Franco-arenoso natural sin hongo/sin nemátodo	1
Franco-arenoso esterilizado sin hongo/sin nemátodo	1
Franco-arenoso natural sin hongo/con nemátodo	3
Franco-arenoso esterilizado sin hongo/con nemátodo	2
Franco-arenoso natural con hongo/con nemátodo	2
Franco-arenoso esterilizado con hongo/con nemátodo	2
Franco-arcillo-arenoso natural sin hongo/sin nemátodo	2
Franco-arcillo-arenoso esterilizado sin hongo/sin nemátodo	2
Franco-arcillo-arenoso natural sin hongo/con nemátodo	3
Franco-arcillo-arenoso esterilizado sin hongo/con nemátodo	3
Franco-arcillo-arenoso natural con hongo/con nemátodo	2
Franco-arcillo-arenoso esterilizado con hongo/con nemátodo	2

fuerte, con agallas radicales abundantes. En los suelos franco-arenoso y franco-arcillo-arenoso, las raíces mostraron una infección ligera con agallas radicales poco abundantes, correspondiéndoles un grado 3 de agallamiento.

En el tratamiento correspondiente a la inoculación del hongo *P. lilacinus* y el nemátodo *M. incognita*, los valores de agallamiento se redujeron un 20% (un grado), en comparación con el otro tratamiento en el que sólo estaba inoculado el nemátodo (Cuadro 9). Comparando las raíces infectadas que se desarrollaron en el suelo franco, con agallamiento de grado 4 (80%), con la de las plantas inoculadas con *Meloidogyne* pero también con el hongo nematoparásito, se redujo el agallamiento a un grado 3 (60%); en los otros dos suelos sucedió lo mismo, es decir, con el hongo hubo una reducción del 20% (de grado 3 a 2).

Son varias las causas que podrían explicar los resultados anteriores; en lo que respecta a los tipos de suelo, se observa qué clase de partículas (tamaño y diámetro) que los constituyen, influyen en la porosidad del mismo lo que a su vez condiciona el espesor de las películas de agua que se forman; esto tiene influencia en el desplazamiento de los nemátodos en el suelo (Palm, 1976). Si aplicamos esta información a los resultados obtenidos, podríamos decir que los suelos influyeron en el movimiento de las larvas de *M. incognita*, inhibiendo o incrementando el número de las que penetraron a las raíces.

Otras propiedades de los suelos, como el pH, CIC y demás características abióticas pudieron tener también un efecto en los resultados obtenidos. En relación con esto, Palm (1976) menciona que las raíces de las plantas también pueden modificar las características del medio suelo,

disminuyendo la concentración de los nutrientes, la humedad, el oxígeno e incrementando el CO_2 , contribuyendo con la exudación y muerte de células, a la producción de una gran variedad de sustancias orgánicas; indica además, que los exudados influyen en el movimiento de las larvas, lo cual pudo haber sido otra de las causas que afectó el índice de agallamiento de las raíces, de las plantas de frijol en estudio.

En ocasiones un medio ambiente determinado no puede ser favorable para algunos organismos, más aún cuando se introducen su o sus antagonistas; tal es el caso de *M. incognita* al inocular *P. lilacinus*, ya que bajo estas condiciones el hongo influyó en el proceso de formación de agallas, debido a que el hongo además tiene la capacidad de parasitar hembras en desarrollo (Jatala, 1979a), ésta pudo haber sido otra de las causas de importancia en este estudio que influyó en el proceso de infección por el nemátodo.

Por otro lado, la diferencia de fecha de siembra así como el tiempo en que los suelos se dejaron sin sembrar (un mes), pudo haber influido en la reducción de las larvas y la viabilidad de los huevecillos de *M. incognita* y de esta manera reducir la infección general de las plantas.

Cabe señalar que las raíces que mostraron menos agallas, presentaron gran cantidad de nódulos nitrificantes, esto podría indicar que la inoculación de *P. lilacinus*, por medio de granos de arroz, propició el incremento de la materia orgánica en los suelos, lo que influyó en el desarrollo de bacterias nitrificantes.

2. Evaluación de los parámetros registrados en la segunda fecha de siembra

En cuanto a los resultados de los otros parámetros evaluados en la segunda cosecha, fueron el número de huevecillos, peso de las raíces y peso fresco del follaje, los que presentaron diferencias significativas en el ANVA, con respecto al efecto de los tratamientos (sin inoculaciones, inoculación del nemátodo, inoculación del hongo y el nemátodo) aplicados a los tres suelos; el peso seco del follaje, altura de la planta, peso de las vainas y número de vainas, no presentaron diferencias significativas.

En cuanto al efecto de los suelos sobre la expresión de los parámetros peso de raíz, altura de la planta y peso de las vainas, se detectaron diferencias significativas en el ANVA, no encontrándose diferencias estadísticas en los parámetros restantes (número de huevecillos, peso fresco del follaje, peso seco del follaje y número de vainas).

No se presentaron diferencias en ninguno de los parámetros, en relación con el efecto de la condición de los suelos.

Número de huevecillos

Con respecto a este parámetro que es de mayor importancia para este estudio, se obtuvieron los siguientes resultados: el promedio de huevecillos extraídos por gramo de raíz, perteneciente al tratamiento que consistió en inocular *M. incognita* en los tres suelos, fue significativamente mayor en comparación con el de los otros dos tratamientos (inoculación de *P. lilacinus*/*M. incognita* y el testigo), el cual se muestra en el siguiente cuadro:

CUADRO 10. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL NUMERO DE HUEVECILLOS POR GRAMO DE RAIZ, EN LA SEGUNDA SIEMBRA

Tratamientos	No. huevecillos/g de raíz \bar{X}	
Inoculación de <i>M. incognita</i>	3 002.2	a
Inoculación de <i>P. lilacinus</i> / <i>M. incognita</i>	61.9	b
Testigo	0.0	b

DMS : 1 110.2 huev./g de raíz

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre si, $p = 0.05$

Estos resultados sugieren que el hongo *P. lilacinus* actuó como un agente de control biológico al parasitar los huevecillos del nemátodo (Fig. 2, pág. 52), ocasionando la muerte de un número considerable de éstos. Sin embargo, queda la duda de que al menos parte de la reducción pudo haberse debido a los fenómenos derivados de la incorporación de los granos de arroz al suelo, como se mencionó anteriormente. No obstante las consideraciones anteriores, el número tan reducido de huevecillos se puede atribuir a la acción parasítica del hongo y a su rapidez para desintegrar al huevecillo, porque, aunque la producción de ellos por las hembras hubiera sido normal, al introducir a *P. lilacinus* en los suelos y encontrar el sustrato adecuado para su desarrollo, inmediatamente parasitó a los huevecillos, ocasionando su muerte y degradación. A este respecto Jatala (1979a) encontró que el hongo es capaz de parasitar y destruir el embrión, en un período de 10 a 12 días.

Cabe recordar que el hongo es capaz de parasitar hembras en desarrollo y de esta manera evitar la producción de huevecillos, lo cual pudo haber influido en el parámetro en estudio; al respecto, Kerry (1974) trabajó con hongos que parasitan hembras jóvenes de *Heterodera avenae* y - - -

menciona que un hongo que tenga la capacidad de matar hembras, antes de que éstas produzcan huevecillos, comúnmente reduce las poblaciones de nemátodos, más que aquéllos que atacan a larvas infectivas.

Peso de la raíz

Las plantas que tuvieron un mejor desarrollo de raíces fueron las que crecieron en el suelo franco-arenoso, bajo los tres tratamientos; la prueba de separación de medias de Tukey indicó que las diferencias fueron altamente significativas para este parámetro, al comparar sus valores correspondientes con los valores de los otros dos suelos (franco y franco-arcillo-arenoso). Observar el siguiente cuadro:

CUADRO 11. EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE EL PESO DE LA RAIZ EN LOS TRES TRATAMIENTOS, PERTENECIENTES A LA SEGUNDA FECHA DE SIEMBRA

S u e l o s	Peso de raíz (g) \bar{X}
Franco-arenoso	3.1 a
Franco	1.9 b
Franco-arcillo-arenoso	1.7 b

DMS Pr : 1.0 g

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí con un 0.05 de probabilidad.

La textura arenosa permitió un desarrollo de raíces secundarias en abundancia, lo cual influyó en el peso de la raíz. En cuanto al valor más bajo, correspondiente al suelo franco-arcillo-arenoso, lo podemos relacionar con la influencia de los tratamientos sobre este parámetro, como se explica a continuación.

El análisis estadístico mostró que los tratamientos tuvieron efecto sobre este parámetro (Cuadro 12), en donde los promedios más altos correspondieron al testigo (sin inoculaciones) y se observó que las plantas crecidas en los suelos inoculados con *P. lilacinus* mostraron valores más bajos de peso de raíz en comparación con los otros dos tratamientos (testigo e inoculación con *M. incognita*).

CUADRO 12. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL PESO DE LA RAIZ, EN LA SEGUNDA SIEMBRA

Tratamientos	Peso de raíz (g) \bar{x}
Testigo (sin inoculaciones)	3.4 a
Inoculación de <i>M. incognita</i>	2.2 b
Inoculación de <i>P. lilacinus</i> / <i>M. incognita</i>	0.9 c

DMS : 0.96 g

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí con un 0.05 de probabilidad de confianza.

Al evaluar este parámetro se detectó la presencia de un hongo fitopatógeno, *Rhizoctonia* sp., que incrementó el daño provocado por el nemátodo, ocasionando la pudrición de las raíces en el tratamiento de la inoculación de *P. lilacinus*/*M. incognita*, repercutiendo esto en el promedio general del peso de la raíz.

El ANVA mostró diferencias altamente significativas en el efecto de los suelos sobre el peso de las raíces, cabe mencionar que las plantas crecidas en el suelo franco-arcillo-arenoso inoculado con *P. lilacinus*/*M. incognita*, mostraron los valores más bajos de peso de raíz en comparación con los de los otros dos suelos y los otros tratamientos. Dentro de las posibles explicaciones que se pueden dar al respecto, puede ---

aludirse por un lado, que al adicionar los granos de arroz que portaban al hongo *P. lilacinus*, proporcionaron carbono y energía útiles para el desarrollo de otras poblaciones de microorganismos del suelo, algunos perjudiciales a las plantas, en este caso el hongo *Rhizoctonia* sp. sobre *P. vulgaris*.

Con respecto a la presencia del hongo fitopatógeno en los suelos y su efecto sobre la planta, así como también en la rizosfera, sabemos que existen en algunos casos relaciones sinérgicas entre los microorganismos, entre ellas las de nemátodos y hongos fitopatógenos, de las cuales se han realizado varios estudios; entre ellos podemos citar al de Ram y Dwivadi (1983) quienes señalan que al inocular simultáneamente *Meloidogyne* sp. con *Rhizoctonia* sp. o *Fusarium* sp. provocan síntomas de marchitez y pudrición de la raíz, más rápidamente y en forma exitosa que cuando se inocula únicamente el hongo. También Powell (1963) indica que la enfermedad llamada "secadera" de la planta de algodón, causada por *Rhizoctonia solani*, fue más severa cuando *Meloidogyne acrita* estuvo presente. En este estudio pudimos observar nuevamente el efecto sinérgico que existe entre *M. incognita* y *Rhizoctonia* sp. actuando negativamente sobre las plantas de frijol.

Por otro lado, y con respecto al tratamiento *P. lilacinus*/*M. incognita*, podemos mencionar y relacionar la siguiente información: existe gran relación entre las poblaciones de *Rhizoctonia* spp. y *Pythium* spp. ya que se conoce que al estar presente uno de los géneros, siempre se encuentra el otro, al haber algún cambio o reducción en alguno de ellos, el daño producido por el otro es más fuerte y más drástico que cuando se encuentran compitiendo (García, R. 1985b); Hoch *et al.* (1975) consideran que el género *Pythium* actúa como patógeno primario sobre aislamientos --

hechos en raíces enfermas de frijol, seguido de *Rhizoctonia solani*, y *Fusarium solani*, lo que puede indicar también que se trata de una asociación entre ellos. Esto nos podría indicar que al estar presente *Rhizoctonia* sp. probablemente se encontraba *Pythium* sp., aunque no se hubiera observado en los aislamientos, ya que se sabe que en ocasiones cuando se realizan aislamientos, sólo se presenta uno de los dos hongos (García, R., 1974a), o bien se requiere de medios selectivos, pero además, la evidencia únicamente de *Rhizoctonia* sp., podría indicar también que otro factor actuó sobre *Pythium* sp., en este estudio; al respecto podemos relacionar la información obtenida por Lumsden *et al.*, en 1982, quienes realizaron un trabajo en suelos de chinampa originarios de México, en donde registraron qué especies de *Paecilomyces* entre otras, eran antagonistas de *Pythium aphanidermatum*. Por lo tanto, relacionando la información anterior con nuestros resultados, se puede decir que posiblemente al inocular el hongo *P. lilacinus* en el suelo franco-arcillo-arenoso y parasitar los huevecillos de *M. incognita*, también pudo haber actuado como antagonista de *Pythium* spp., si es que éste se encontraba presente y de esta forma haber favorecido el desarrollo de *Rhizoctonia* sp., que actuó sinérgicamente con *M. incognita*, provocando un daño más severo en las raíces de frijol.

Estos resultados comprueban que de alguna forma se originan cambios en la rizosfera al introducir un microorganismo extraño a un medio en estudio, obteniendo resultados que no son tan satisfactorios, ya que se ve afectado el equilibrio de las poblaciones que están ahí interactuando, lo que es perjudicial en algunos casos para el buen desarrollo del cultivo.

Altura de las plantas

Durante el ciclo de crecimiento del frjjo^l se observó que las plantas más altas fueron las que se desarrollaron en el suelo franco-arenoso en los tres tratamientos. La prueba de Tukey indicó que el valor más alto correspondió efectivamente a las plantas crecidas en el suelo franco-arenoso en comparación con los otros dos suelos como se puede observar en el siguiente cuadro.

CUADRO 13. EFECTO DE LOS SUELOS SOBRE LA ALTURA DE LAS PLANTAS BAJO LOS TRES TRATAMIENTOS, EN LA SEGUNDA FECHA DE SIEMBRA

S u e l o s	Altura (cm) \bar{x}
Franco-arenoso	30.2 a
Franco	24.2 b
Franco-arcillo-arenoso	20.2 b

DMS : A1. : 4.8 cm

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí con 0.05 de probabilidad

Los resultados anteriores indican que el suelo franco-arenoso influyó positivamente en el crecimiento de las plantas, aún al estar sometidas bajo diferentes tratamientos; esto podría estar relacionado con su pH de 6, es decir, que ese nivel de acidez del suelo fue favorable para el intercambio y absorción de los nutrientes necesarios para el crecimiento en cuanto a altura se refiere del cultivo de frijol.

Además aunque el ANVA no mostró diferencias para este parámetro en relación con los tratamientos, también pudo observarse que las plantas infectadas con *M. incognita* tuvieron una mayor altura que las plantas

que estuvieron sometidas a los otros dos tratamientos (testigo e inoculación de *P. lilacinus*/*M. incognita*). Este fenómeno ha sido observado en otros cultivos infectados por *Meloidogyne* spp., lo cual indica que el nemátodo influye en la reacción de la planta al expresar un mayor crecimiento en altura (Hanounik, 1975; Wallace, 1973).

Peso fresco del follaje

Las plantas de frijol que se mostraron vigorosas y tuvieron abundante follaje fueron aquéllas que no estuvieron bajo algún tratamiento, seguidas de las inoculadas con *M. incognita*, y las que mostraron una menor cantidad de hojas en promedio fueron las plantas tratadas con el hongo *P. lilacinus* y *M. incognita*. El análisis mostró diferencias estadísticas y por medio de la prueba de Tukey se pudieron confirmar como se muestra en el Cuadro 14.

Aunque tampoco el ANVA mostró diferencias en el efecto de los suelos sobre el peso fresco del follaje de las plantas, cabe mencionar que las plantas más vigorosas fueron las crecidas en el suelo franco en los tres tratamientos, seguidas por las plantas desarrolladas en el suelo franco-arcillo-arenoso del tratamiento testigo.

CUADRO 14. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL PESO FRESCO DEL FOLLAJE, EN LA SEGUNDA SIEMBRA

Tratamientos	Peso fresco follaje (g) \bar{x}
Testigo	6.3 a
Inoculación de <i>M. incognita</i>	6.1 a
Inoculación de <i>P. lilacinus</i> / <i>M. incognita</i>	3.4 b

DMS : 2.81 g

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí, con 0.05 de probabilidad.

Se observó cierto paralelismo en la expresión de este parámetro y el peso de la raíz, por lo que las causas de la misma fueron similares y que anteriormente ya se analizaron. Sólo cabe señalar que Sosa Moss (1986d) menciona que las plantas inoculadas con *M. incognita* tienen mayor peso fresco que las testigo, fenómeno observado también en otros cultivos.

Peso de las vainas

No obstante que las plantas se desarrollaron bajo condiciones de invernadero, se consideró necesario tomar el registro de la producción de vainas de las plantas de frijol.

Las plantas que crecieron en los suelos franco y franco-arcillo-arenoso produjeron vainas con mejor peso en comparación con las producidas por las plantas crecidas en el suelo franco arenoso, todas sometidas a los tres tratamientos. La prueba de separación de medias de Tukey mostró diferencias altamente significativas para este parámetro como puede observarse en el siguiente cuadro.

CUADRO 15. EFECTO DE LOS SUELOS EN EL PESO DE LAS VAINAS EN LA SEGUNDA FECHA DE SIEMBRA

S u e l o s	Peso de las vainas (g/planta) \bar{x}
Franco	4.5 a
Franco-arcillo-arenoso	3.6 a
Franco-arenoso	3.0 b

DMS: 1.1 g

Las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí con un 0.05 de probabilidad de confianza.

Como puede observarse los suelos franco y franco-arcillo-arenoso permitieron que las plantas tuvieran una buena producción de número y peso de vainas, lo cual puede deberse a que en éstos suelos la disponibilidad de nutrientes se ve aumentada por su capacidad de intercambio catiónico de 22.52 meq/100 g y 18.06 meq/100 g respectivamente.

En cuanto al suelo franco-arenoso, pudo observarse durante el estudio, cierta reducción en el crecimiento foliar de las plantas crecidas en este suelo, lo que repercutió no en el número de vainas producidas, pero sí, en el peso de las mismas. Una causa de este fenómeno puede ser el bajo porcentaje de arcilla que contiene dicho suelo y su baja capacidad de intercambio catiónico (4.42 meq/100 g), cuya consecuencia es una menor disponibilidad de nutrientes para la formación de hojas y granos.

3. Prueba de comprobación de huevecillos de *M. incognita* parasitados por *P. lilacinus*

Con el fin de descartar la posibilidad de que otros factores pudieran afectar negativamente el desarrollo de los huevecillos del nemátodo y comprobar que realmente fueron parasitados por el hongo inoculado, se realizaron las observaciones de todas las muestras de huevecillos extraídos que se colocaron en el medio de agua-agar, teniendo como resultado: el desarrollo de propágulos de *P. lilacinus* sobre el medio. También fue posible observar gran cantidad de huevecillos parasitados así como su desorganización interna y se constató la presencia de estructuras del hongo (hifas) dentro de los mismos, Figura 2. Las observaciones se realizaron bajo el microscopio compuesto; en el interior del corion se vio una desorganización completa del embrión en el caso de los parasitados, en cambio, en aquéllos que no lo fueron, se observaron algunas de las

fases de desarrollo del nemátodo.

También fue posible distinguir hifas en el interior de algunos huevecillos; en estos casos, al realizar una segunda observación (24 horas después), sólo se encontraron propágulos del hongo en el medio, lo que indicó la desaparición de los huevecillos; esto se debió a que el hongo tiene propiedades quitinolíticas, por lo que es capaz de desintegrar al corion. A este respecto, Stirling (1979), Morgan-Jones y Rodríguez Kabana (1981), sugieren que aunque el mecanismo involucrado en el parasitismo de los huevecillos de nemátodos por hongos no está claramente entendido, hay degradación enzimática de las paredes de los mismos, siendo la degradación de la quitina uno de los pasos en el proceso, ya que esta proteína es uno de los principales componentes de la capa media del corion de los huevecillos de los nemátodos. Esta información ha sido reforzada con los datos obtenidos en el estudio realizado por O'Hara y Jatala en 1984, quienes encontraron diferencias ultraestructurales en los huevecillos de *Meloidogyne*, *Globodera* y *Nacobbus*, dicho estudio mostró que el corion de los huevecillos de *Meloidogyne incognita* está formado de una capa vitelina relativamente delgada, seguida de una capa quitinosa más gruesa, indicando Jatala, que la prominente capa quitinosa de los huevecillos favorecía el parasitismo de *P. lilacinus* sobre los mismos.

Las observaciones también indicaron que la mayoría de los huevecillos que no se encontraban parasitados correspondían a los que tenían dentro a la larva o juvenil de primer instar y quizás algunas del segundo; se sabe que la mayoría de este tipo de hongos son capaces de parasitar a huevecillos en sus primeras fases de desarrollo embrionario, pero sólo antes de que se forme la primera larva, de ahí que fue razonable - - -

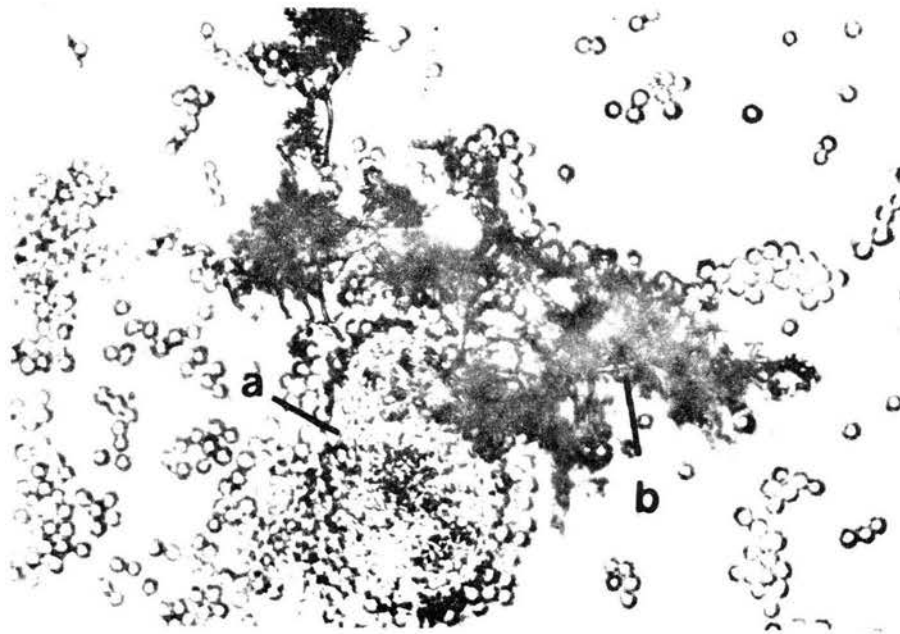
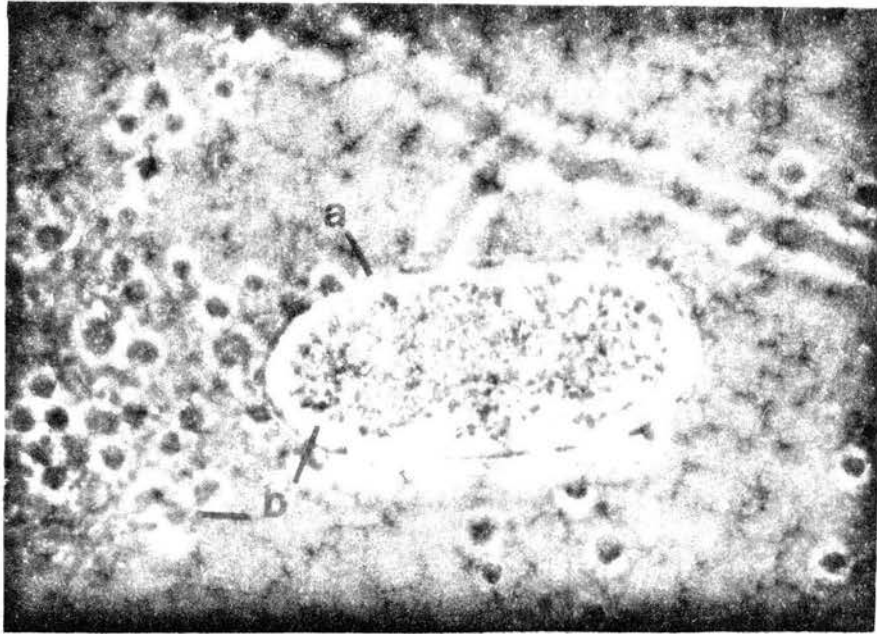


FIG. 1. HUEVECILLOS DE *Meloidogyne incognita* (a)
PARASITADOS POR *Paecilomyces lilacinus* (b)

encontrar huevecillos no parasitados.

En todas las muestras de huevecillos que se observaron, se encontró parasitismo y la presencia de propágulos de *P. lilacinus*, pero fue imposible cuantificarlos debido a la rapidez con la que el hongo los de sintegra.

4. Reaislamiento de *P. lilacinus* de los suelos donde fue inoculado

En todas las cajas de Petri con medio de cultivo de Quitina-agar-Rosa de Bengala y la adición de la muestra de suelo inoculado, se desarrollaron propágulos del hongo *P. lilacinus* (Figura 3) en un período de 14 a 18 días a 29°C después de haber sembrado la muestra; esto indicó que el hongo se encontraba en los tres suelos donde fue inoculado.

En el medio de quitina se detectó solamente la presencia de propágulos ya que no pudo cuantificarse el número de conidios o alguna estructura del hongo debido a que no se cuantificó el inóculo inicial, sino que solamente se midió la cantidad de gramos de arroz colonizados por el hongo sin conocer el número de conidios presentes en cada muestra.

El medio usado para esta prueba proporcionó uno de los nutrientes principales para el desarrollo de *P. lilacinus*; este nutriente es la quitina, aunque se observó que no es específico para este hongo, ya que se desarrollaron también algunos actinomycetes.

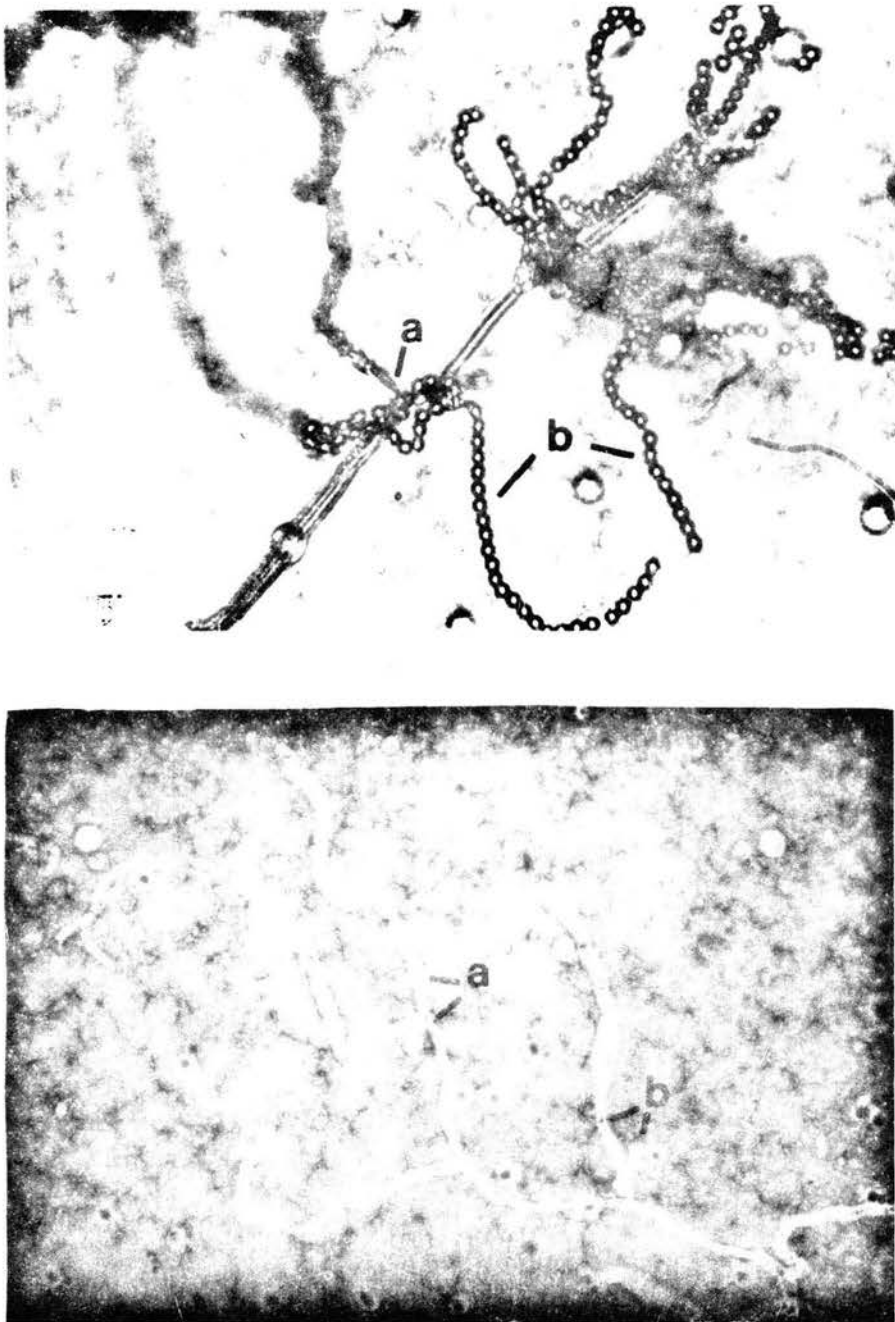


FIG. 2. *Paecilomyces lilacinus* (a) Conidioforo (b) Conidios.

5. Recomendaciones

Debido al efecto que tuvo *Rhizoctonia* spp., en algunos de los parámetros evaluados en el estudio y que no fueron del todo satisfactorios, se puede indicar lo siguiente: que es necesario realizar estudios previos sobre la microfauna y microflora del suelo en estudio para conocer los organismos que actúan como antagonistas o de forma sinérgica con un patógeno dado. Esto nos permitiría tratar de dirigir positivamente aquellos factores que pudieran actuar de forma negativa en un estudio de control biológico.

Se recomienda también que para tener bases en cuanto al efecto de la adición de materia orgánica sobre los microorganismos, en este caso el arroz cocido, se deben establecer dos tratamientos más dentro de este tipo de estudio, éstos son:

- a) La inoculación de *P. lilacinus* sin algún sustrato que lo porte.
- b) La adición del arroz solo (sin portar al hongo).

V. CONCLUSIONES

Del presente trabajo se pueden establecer las siguientes conclusiones.

El hongo *Paecilomyces lilacinus* se desarrolló favorablemente sin alterar su actividad parasítica, al ser inoculado en los tres tipos de suelo empleados, tanto en condición natural como esterilizados.

Las raíces que se desarrollaron en los suelos tratados con *P. lilacinus*, mostraron menor agallamiento que las no tratadas con el hongo.

El promedio del número de huevecillos por gramo de raíz, se redujo considerablemente en los suelos donde fue inoculado *P. lilacinus*.

Se comprobó que los huevecillos de *M. incognita* fueron parasitados por *P. lilacinus*.

El suelo franco presentó las mejores condiciones para la relación *P. vulgaris*-*M. incognita*-*P. lilacinus*, en la que el hongo pudo controlar al nemátodo y la planta logró la mejor producción de vainas.

El suelo franco-arenoso permitió el crecimiento de plantas de frijol con mayor altura y desarrollo de raíces con mejor peso.

Tanto en la primera fecha de siembra como en la segunda, los suelos franco y franco-arcillo-arenoso favorecieron el desarrollo de plantas de frijol con mejor peso de vainas y peso fresco de follaje.

P. lilacinus pudo reaislarse de los suelos donde fue inoculado.

VI. LITERATURA CITADA

- Aguilera, M.J. 1983. Conozca más sobre frijol. Noticiamec. S.A.R.H. 2(4). Chapingo, Méx.
- Anónimo, 1981. Manuales para educación agropecuaria. Frijol y chícharo. Ed. Trillas, México. 58 pp.
- Anónimo, 1982. Control de nemátodos e insectos de importancia. El nemátodo del nódulo de la raíz. CIP. Informe Anual. Lima Perú. 158 pp.
- Anónimo, 1983. Manuales para educación agropecuaria. Suelos y fertilizantes. SEP-Trillas. México. 80 pp.
- Anónimo, 1984. Dirección General de Economía Agrícola. Información Agropecuaria y Forestal. Depto. de Comunicación y Publicaciones. S.A.R.H. México.
- Baker, K.F. and Cook, R.J. 1974. Biological Control of Plant Pathogens. W.H. Freeman and Company. Cal. U.S.A. 433 pp.
- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Third edition. Burgess Publishing Co. Minn. U.S.A. 241 pp.
- Barron, G.L. 1977. The nematode-destroying fungi. Topics in Mycobiology No. 1. Canadian Biological Publications Ltd., Guelph, Ontario. 140 pp.
- Capstick, C.K. and Twinn, D.C. 1957. Predation of Natural Populations of free-living nematodes by fungi. Nematologica II:193-201.
- Crispín, A. y Campos, J. 1975. Bean diseases of importance in Mexico in 1975. Plant Disease Reporter. 60(6):535.
- Cooke, R. 1968. Relationships between Nematode-destroying fungi and Soil-borne Phytonematodes. Phytopathology, 58:909-913.
- Domsch, H.K., Gams, W., Anderson, T.H. 1980. Compendium of Soil Fungi. Vol. I. Academic Press. London. 859 pp.
- Foth, H.D., Turk, L.M. 1979. Fundamentos de la Ciencia del Suelo. C.E.C.S.A. México. 527 pp.
- García, R. 1974a. Interactions of *Pythium myriofolium* with *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, and other fungi, and with *Meloidogyne arenaria* in peanut pod rot and preemergence damping-off. Tesis Ph.D. University of Florida. U.S.A.

- García, R. 1985b. Comunicación personal.
- Godoy, G., Rodríguez-Kabana, R. and Morgan-Jones, G. 1982. Parasitism of eggs of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne arenaria* by fungi isolated from cyst of *H. glycines*. *Nematropica*, 12(1):111-119.
- Hanounik, B.S., Osborne, W. and Pirie, R. 1975. Relationships between the Population Density of *Meloidogyne incognita* and Growth of Tobacco. *Jour. Nematol.* 7:352-356.
- Hoch, H.C., Hagedorn, D., Pinnow, D. and Mitchell, J. 1975. Role of *Pythium* spp. as incitants of bean root and hypocotyl rot in Wisconsin. *Plant Disease Reporter*, 59:443-447.
- Hussey, R.S. and Barker, R.K. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57:1025-1028.
- Jatala, P. 1979a. Control Biológico de Nemátodos. Circular C.I.P., VII (3). Lima, Perú.
- _____, Kaltenbach, R., Bocangel, M. 1979b. Biological control of *Meloidogyne incognita acrita* and *Globodera pallida* on Potatoes. *Journal of Nematology* 2(4):303.
- _____. 1980c. Un Hongo como Control Biológico del Nemátodo del Nudo de la Raíz. Circular, C.I.P., VIII (10). Lima, Perú.
- _____, et al., 1980d. Field application of *Paecilomyces lilacinus* for controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes. *Journal of Nematology* 12. Abstr. 12(4):226
- _____, et al. 1981e. Biological control of *Meloidogyne* spp. and *Globodera* spp. by *Paecilomyces lilacinus* in Panama. A collaborative research work between Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDEAP) and The International Potato Center (CIP).
- _____, et al., 1981f. Biological Control of *Meloidogyne* species. Methodology for preparation and establishment of *Paecilomyces lilacinus* for field inoculations. International Potato Center. Lima, Perú.
- _____, et al. 1981g. Multiple application and long-term effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under field conditions. *Journal of Nematology* 13(4):445
- Jiménez, L.M. 1986. Evaluación de la interacción entre *Fusarium solani* y *Meloidogyne incognita* en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y alteraciones histológicas causadas en la raíz, por este nemátodo. Tesis de M.C. Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados. Montecillos, México.
- Kerry, B.R. 1974. A fungus associated with young females of the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*. Short communications. *Nematologica* 20(2): 259-260.

- Lumsden, R.D. 1982. Biocontrol of *Pythium aphanidermatum* on cucumber by microbial isolates from Mexican soils. *Phytopathology*, 72(7):1010(645).
- Lingappa and Lockwood. 1962. Chitin media for selective isolation and culture of actinomycetes. *Phytopathology* 52:317-323.
- Mankau, R. and Mc Kenry, M.V. 1976a. Spatial distribution of nematophagus fungi associated with *Meloidogyne incognita* on peach. *Journal of Nematology*, 8:294-295.
- _____. 1980b. Biocontrol: Fungi as Nematode Control Agents. *Journal of Nematology*, 12:244-252.
- _____. 1980c. Biological control of nematode pests by natural enemies. *Ann. Rev. Phytopathology* 18:415-440.
- Morgan-Jones, G. and Rodríguez-Kabana, R. 1981. Fungi associated with cysts of *Heterodera glycines* in an Alabama soil. *Nematropica* II:69-74.
- Noriega, P.L. 1986. Identificación de las especies del género *Meloidogyne* nemátodo productor de la "jicamilla" y su efecto en el cultivo del chile xalapeño (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones de semi-invernadero. Tesis Profesional. Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver.
- O'Hara, C. y Jatala, P. 1984. Diferencias estructurales en huevos de *Meloidogyne*, *Globodera* y *Nacobbus*. *Fitopatología*, 19(2):58.
- Palm, D., *et al.* 1976. Control of Plant-parasitic Nematodes. National Academy of Sciences. U.S.A.
- Pramer, D. 1964. Nematode-trapping fungi. *Science*, 144:382-387.
- Powell, N.T. 1963. The role of plant-parasitic nematodes in fungus diseases. *Phytopathology*, 53:28-35.
- Ram, N. and Dwivadi, R.P. 1983. Effect of root-knot nematode on development of grain caused by *Fusarium* and root rot by *Rhizoctonia* sp. *Helmint. Abstr. Ser. B.* 52(1):109 p. 20.
- Sayre, M.L. 1980. Promising organisms for biocontrol of nematodes. *Plant Disease* 64(6):526-532.
- Sosa-Moss, C. y Castillo, F.D. 1981a. "Avances de Investigación sobre el género *Meloidogyne* en México. Memorias de la Segunda Conferencia Regional de Planteamiento del Proyecto Internacional de *Meloidogyne*. Región I, 4-8 Sep. 1978. Instituto de Invest. Agrop. de Panamá. Facultad de Agronomía, Universidad de Panamá.
- Sosa-Moss, C., Jarquín, N.A., López-Portillo, J.A. 1982b. Control biológico de nemátodos fitoparásitos. Avances en la Investigación. Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx.

Sosa-Moss. 1986c. Información personal. Técnica usada por el autor desde 1976 pero no ha sido publicada.

_____. 1986d. Comunicación personal.

Stirling, G.R., Mc Kenry, M.V. and Mankau, R. 1979. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on peach. *Phytopathology* 69(8):806-809.

_____ and Mankau R. 1979. Mode of parasitism of *Meloidogyne* and other nematode eggs by *Dactylella oviparasitica*. *Jour. Nematol.* II: 282-288.

Taylor, A.L. 1971. *Introducción a la Nematología Vegetal Aplicada*. O.N.U. para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 133 pp.

Thorne, G. 1961. *Principles of Nematology*. Mc Graw Hill Book Company, Inc. U.S.A. 553 pp.

Wallace, R.H. 1973. *Nematode Ecology and Plant Disease*. Edward Arnold (publishers) Printed in Great Britain by Aldenard Mowbray Ltd. at the Alden Press. Oxford, Great Britain. 217 pp.