



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD DE AZÚCARES, ÁCIDOS GRASOS
Y ESTEROLES CONTRA EL FITONEMATODO *Nacobbus aberrans*.**

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

PRESENTA:

RAMÍREZ FLORES NIMCI ABIGAIL

DIRECTORA:

DRA. LILIANA AGUILAR MARCELINO

CO-DIRECTORA:

M. EN MRN. SUSAN YARACET PÁEZ LEÓN

CUERNAVACA, MORELOS

ENERO 2024



DEDICATORIA

A ti mi Dios, por darme la dicha de llegar a este momento tan importante de mi vida, por permitirme crecer como persona, gracias por nunca dejarme sola, por siempre ser mi ayudador y consolador.

A mis padres quienes han estado conmigo en cada una de las etapas de mi vida, apoyándome y motivándome a ir cada vez por más, me han visto evolucionar como persona y profesionalmente, hoy dedico este trabajo hecho con mucho esfuerzo que tomó meses en realizarse. Este gran logro no solamente es mío, sino también de ustedes papitos, los amo mucho. Con amor su pequeña Abi.

A mis hermanitas Merita y Betsa, gracias por estar siempre conmigo animándome en mis buenos y malos momentos, por el apoyo y las risas, las amo con todo mi corazón.

A mi amigo y hno Panchito Reyes, por siempre brindarme sus consejos para crecer como persona, por su amistad y cariño de años.

A mi apreciable y querida amiga de la carrera Amy Selic, gracias por tu valiosa amistad, por tu y cariño.

A mis amigos que en su determinado momento me brindaron su apoyo y me animaron a no rendirme sino a seguir, los quiero.

A mí misma, por no darme por vencida a pesar de las circunstancias y demostrarme que si podía a hacer de este sueño una realidad.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alejandro García Flores por ser mi tutor durante toda la carrera.

A la Dra. Liliana Aguilar Marcelino, por aceptarme en el INIFAP y brindarme la experiencia de ser parte de este equipo de trabajo.

A mi co-directora, la maestra Susan por su ayuda en el laboratorio y también por los momentos divertidos que pasamos juntas trabajando.

Al Dr. Julio Cruz Arévalo, por su incondicional ayuda en la elaboración de este trabajo, gracias por los consejos dados.

A los doctores que integraron mi comité: Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez, Dra. Adriana Valladares Méndez y a la Mtra. Ana Luisa Ortiz Villaseñor.

A los demás integrantes del Inifap, doctores, maestros y alumnos que en su momento me ofrecieron su ayuda en mis experimentos.

Al proyecto financiado que corresponde al proyecto aprobado “Estudio metabólico del hongo comestible *Pleurotus djamor*” con el número 139335341 Proyectos Fiscales del INIFAP.

RESUMEN

Los nematodos parásitos de plantas son de gran interés, sobre todo en cultivos agrícolas, debido a que limitan la producción. En el caso particular de *Nacobbus aberrans* (falso nematodo agallador), se encuentra dentro de los diez fitonematodos más importantes a nivel mundial, y en México, afecta cultivos significativos como chile, jitomate, frijol, papa, entre otros, cultivos de gran importancia por su aporte al PIB. Diferentes estrategias de control se han propuesto, siendo el control químico el más significativo, pero también es el método más agresivo por sus efectos secundarios en el medio ambiente. Debido a ello, se han sugerido alternativas de control contra estos fitonematodos, dentro de los productos naturales reportados, se ha encontrado que los hongos comestibles poseen metabolitos efectivos contra nematodos parásitos de animales y de plantas. En el presente estudio se evaluaron *in vitro* ácidos grasos, azúcares y esteroides contra huevos y juveniles de *N. aberrans*. Estos compuestos ya han sido notificados por su efecto contra nematodos gastrointestinales, por lo tanto, se planteó la hipótesis de que “al menos uno de los compuestos puros a evaluar tendrá un efecto de inhibición de la eclosión de huevos y en la mortalidad de juveniles del falso nematodo agallador *N. aberrans*”. De acuerdo con los resultados obtenidos, ninguno de los grupos de los compuestos fue efectivos contra juveniles. Por otro lado, dentro de los ácidos grasos, el ácido linoleico si tuvo efectividad en la inhibición de la eclosión de huevos con un porcentaje de efectividad de $56.1 \pm 11.9\%$ a una concentración máxima de 2 mg/mL. Estos resultados nos permiten sugerir que el ácido linoleico podría ser un candidato para estudios posteriores en pruebas *in situ*. Dentro de las perspectivas, se plantea averiguar el mecanismo de acción, evaluar su efectividad contra otros fitonematodos de importancia agrícola, como *Globodera spp* y *Heterodera spp*.

INDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN.....	7
ANTECEDENTES	9
Generalidades de los fitoparásitos.....	9
Enfermedades de las plantas causadas por fitoparásitos.....	9
<i>N. aberrans</i>	10
Taxonomía de <i>N. aberrans</i>.....	11
Morfología de <i>N. aberrans</i>.....	11
Ciclo biológico	12
Método de control convencional para fitonematodos.....	14
Métodos alternativos de control para fitonematodos	14
Hongos comestibles.....	16
Compuestos con actividad nematicida	16
JUSTIFICACIÓN.....	22
HIPOTESIS.....	23
OBJETIVO GENERAL.....	24
Objetivos específicos	24
MATERIAL Y METODOS	25
Localización.....	26
Adquisición de los compuestos puros	27
Obtención de huevos y juveniles (J₂) de <i>N. aberrans</i>	28
Evaluación <i>in vitro</i> de ácidos grasos, azúcares y esteroides contra huevos de <i>N. aberrans</i>.....	28
Evaluación <i>in vitro</i> de ácidos grasos, azúcares y esteroides contra juveniles (J₂) de <i>N. aberrans</i>	28
Análisis estadístico	29
RESULTADOS	30
DISCUSIÓN.....	36
CONCLUSIÓN.....	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Presencia de agallas en las raíces producidas por <i>N. aberrans</i>	10
Figura 2. Juvenil de <i>N. aberrans</i> (observado a 10x en el microscopio)	11
Figura 3. Ciclo biológico de <i>N. aberrans</i>	13
Figura 4. Estructura química del ácido esteárico.....	18
Figura 5. Estructura química del ácido linoléico.	19
Figura 6. Estructura química del azúcar adonitol.....	19
Figura 7. Estructura química del azúcar trealosa.	20
Figura 8. Estructura química del esteroil ergosterol	20
Figura 9. Estructura química del esteroil β -sitosterol.....	21
Figura 10. Instituto donde se llevó a cabo la presente investigación.	26
Figura 11. Compuestos puros que se utilizaron en la presente investigación A) ergosterol, B) ácido esteárico, C) ácido linoléico, D) β -sitosterol, E) trealosa, F) adonitol	27
Figura 12. Huevos y juveniles (J_2) de <i>N. aberrans</i> encontrados en la evaluación <i>in vitro</i> contra el ácido linoléico en las concentraciones 2-1 mg/mL	32
Figura 13. Juveniles (J_2) y huevos de <i>N. aberrans</i> en la evaluación <i>in vitro</i> de mortalidad	35

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del nematodo <i>N. aberrans</i>	11
Cuadro 2. Compuestos identificados en diferentes plantas con actividad nematocida.	15
Cuadro 3. Porcentajes de la evaluación <i>in vitro</i> de inhibición de eclosión de huevos de <i>N. aberrans</i> expuestas contra azúcares	30
Cuadro 4. Porcentajes de la evaluación <i>in vitro</i> de inhibición de eclosión de huevos de <i>N. aberrans</i> con esteroides y ácidos grasos.....	31
Cuadro 5. Resultados de análisis de PROBIT de ácido linoléico 2-0.125 mg/mL	33
Cuadro 6. Porcentajes de la evaluación <i>in vitro</i> de mortalidad de juveniles (J ₂) de <i>N. aberrans</i> contra azúcares.....	33
Cuadro 7. Porcentajes de la evaluación <i>in vitro</i> de mortalidad de juveniles (J ₂) de <i>N. aberrans</i> contra ácidos grasos y esteroides	34

INTRODUCCIÓN

La producción agrícola es una de las actividades más importantes para la oferta y demanda de alimentos, proporciona una fuente de materias primas y genera oportunidades comerciales para otras industrias en todo el mundo (Flores-Francisco, 2021). En México, el cultivo del jitomate es una de las actividades agrícolas más importantes debido a que es una de las fuentes de empleo e ingreso económico importantes en nuestro país posicionándolo como uno de los principales exportadores de jitomate (SAGARPA, 2017).

A nivel mundial las hortalizas tienen un valor socioeconómico muy elevado y son expuestas a patógenos que las atacan, como los denominados nematodos fitoparásitos que son organismos altamente patógenos que muchas veces pueden causar una amplia infestación de cultivos agrícolas y forestales (Williamson y Gleason, 2003; Perry y Moens, 2006).

Los nematodos fitoparásitos son organismos que habitan en el suelo desde donde acceden a sus hospederos para completar su ciclo biológico, son considerados importantes antagonistas para el desarrollo de los cultivos, ya que deterioran el sistema radicular de las plantas (Meza-Durán 2019).

Según Agrios (2005) el daño mecánico directo causado por los nematodos mientras se alimenta es leve. La mayoría de los daños parecen ser causados por la secreción de saliva introducida en los tejidos de las plantas durante el proceso de alimentación. Ellos perforan la pared celular, introduciendo saliva dentro del citoplasma, extrayendo parte del contenido celular y así se movilizan en pocos segundos. Esto causa una reacción en las células de las plantas afectadas, resultando en la muerte o el debilitamiento de los extremos de las raíces, formando lesiones y rompiendo tejidos, abultamientos y agallas, arrugamiento y deformaciones en tallos y hojas.

Los fitoparásitos causan importantes pérdidas económicas a nivel mundial, según la Sociedad Estadounidense de Fitopatología (APS) se estima que las pérdidas económicas en el sector agrícola debido a los nematodos representan el 14% de las pérdidas de rendimiento de los cultivos a nivel mundial, lo que equivale a casi 125 mil millones de dólares anuales (Mesa-Valle *et al.*, 2020).

Cuando los patógenos que afectan los cultivos se encuentran en la parte aérea de las plantas es posible realizar evaluaciones visuales para cuantificar alguna enfermedad, sin embargo, cuando se presentan en el sistema radicular, como es el caso de los fitoparásitos

estos pasan desapercibidos y generalmente son confundidos con problemas de nutrición, subestimación de afección y, por ende, se realiza un incorrecto manejo de la situación fitosanitaria (Tamayo, 2001).

Debido a la problemática que ha generado el uso excesivo de compuestos químicos se han buscado opciones de control más amigables que sean capaces de reducir las poblaciones de fitoparásitos. Los hongos comestibles han sido objeto de estudio, debido a que se ha demostrado que sus compuestos presentan actividad nematicida contra diversos nematodos, por lo que poseen un uso potencial como herramientas para el control de nematodos parásitos que afectan la agricultura.

Dentro de las formas en la que actúan los hongos comestibles se encuentra la producción de metabolitos secundarios que son utilizados como mecanismos de defensa del nematodo (Zhan y Hyde, 2014). Por tal motivo el objetivo del presente estudio fue evaluar *in vitro* compuestos comerciales previamente identificados en diferentes extractos de hongos comestibles contra nematodos de importancia agrícola.

ANTECEDENTES

Generalidades de los fitoparásitos

Los fitonematodos son organismos invisibles a simple vista cuando están en el suelo, a menudo se caracterizan por tener forma vermiforme, tienen simetría bilateral, no son segmentados, son pseudocelomados y cuentan con todos los aparatos y sistemas a excepción del respiratorio y el circulatorio. Generalmente se reproducen de manera sexual y las hembras habitualmente son más aptas para el parasitismo que los machos (Anaya y Romero, 1999).

Enfermedades de las plantas causadas por fitoparásitos

Estos fitoparásitos pueden causar daños significativos a las plantas que van desde lesiones insignificantes hasta la destrucción total del material vegetal. Aunque algunas especies de nematodos se alimentan de partes aéreas de la planta, como las hojas, tallos, flores y semillas, la mayoría de estos parásitos se alimentan de partes subterráneas de las plantas, incluyendo raíces, bulbos y tubérculos. Debido a esta actividad de alimentación “oculta” debajo del suelo, el daño que el nematodo ocasiona a las plantas no siempre se puede diagnosticar (Ravichandra, 2014).

Los efectos de los fitonematodos sobre los cultivos a veces se suelen confundir con desordenes nutricionales, estrés hídrico, problemas de fertilidad del suelo. El daño causado se manifiesta de la siguiente forma (González-Rodríguez, 2007):

1. Limitan el desarrollo radical
2. Producción de lesiones y necrosis en raíces
3. Formación de nódulos, deformaciones y abultamientos en raíces
4. Proliferación de raíces secundarias
5. En ocasiones la corteza exterior de la raíz se presenta con lesiones, pudrición y oscurecimiento

Todas las partes de las plantas están expuestas a ser afectadas por los fitoparásitos, sin embargo, el tipo de daño variará de acuerdo con las especies de nematodos y a las plantas hospederas y se clasifican en tres categorías (Guzmán-Piedrahita *et al.*, 2012):

- 1) Semi-endoparásitos: penetran parcialmente al interior del tejido vegetal
- 2) Endoparásitos: penetran a las raíces totalmente, se desarrollan y se multiplican en su interior, existen dos tipos de endoparásitos: 1) migratorios: se movilizan de un

punto a otro al interior de la planta y 2) sedentarios: penetran a la planta y se fijan en un solo lugar formando nódulos.

- 3) Ectoparásitos: se alimentan de las partes externas del sistema radical de las plantas sin penetrar en forma directa dañando las células superficiales en grandes áreas.

N. aberrans

N. aberrans es un nematodo perteneciente a una de las principales especies más perjudiciales de nematodos fitoparásitos en el mundo debido a las pérdidas económicas que ocasiona, afectando cultivos de frijol, chile, tomate, remolacha, trigo, papa entre otros. Comprende una de las especies de endoparásitos sedentarios que inducen a la formación de agallas en las raíces hospederas, de ahí también conocido como "nematodo falso agallador".



Figura 1. Presencia de agallas en las raíces producidas por *N. aberrans* (Manzanilla-López *et al.*, 2002)

Esta especie es nativa del continente americano de importancia cuarentenaria (Manzanilla López, 2010), y se encuentra distribuida en Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador, México, Estados Unidos y Perú.

Taxonomía de *N. aberrans*

En el Cuadro 1. se presenta la Taxonomía del nematodo falso agallador *N. aberrans*

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del nematodo *N. aberrans*

Reino	Animalia
Filo	<i>Nematoda</i>
Clase	<i>Secernentea</i>
Orden	<i>Tylenchida</i>
Familia	<i>Pratylenchidae</i>
Subfamilia	<i>Nacobbinae</i>
Género	<i>Nacobbus</i>
Especie	<i>Aberrans</i>

Morfología de *N. aberrans*

El nematodo *N. aberrans* presenta de 15 a 24 anulaciones entre la vulva y el ano, la hembra madura tiene forma de huso y retiene los huevos en la región posterior del cuerpo únicamente (Manzanilla-López *et al.*, 2005).

Presenta también un marcado dimorfismo sexual (Manzanilla-López, 2010), y su periodo de vida varía según las condiciones de temperatura y la disponibilidad de alimento, oscilando entre 25-59 días a 22-24°C (Costilla, 1985) desarrollándose una parte en el suelo y la otra en el interior de los tejidos del hospedador.



Figura 2. Juvenil de *N. aberrans* (observado a 10x en el microscopio) (Rípodas, 2017).

Ciclo biológico

El ciclo de vida (Figura 3) comprende un estadio de huevo, cuatro estados juveniles y un estado adulto, tras producirse cuatro mudas, la primera de ellas en el huevo. Primer estadio (J_1): El primer estadio larval (J_1) y la primera muda ocurren dentro del huevo, donde los huevos son depositados fuera del cuerpo de la hembra en una masa gelatinosa (matriz) expuesta fuera de los tejidos del nudo, quedando en contacto con el suelo. Una semana después de la primera división celular durante el proceso de embriogénesis, se forma el primer estadio juvenil (J_1), que desarrolla rápidamente y se enrosca tres o cuatro veces dentro de la cubierta del huevo.

Segundo estadio (J_2): La primera muda ocurre dentro del huevo y se completa de tres a cuatro días. La larva que emerge del huevo es el segundo estadio (J_2) e infecta la raíz penetrando por la zona de elongación. La eclosión del huevo libera al segundo estadio juvenil en el suelo. Es pequeño de aproximadamente 0.34mm de largo. Posee gran movilidad por lo que constituye el estado más infectivo (PROINPA, 2005). Cuando entra en contacto con las raíces de las plantas, a menudo penetra inmediatamente, aunque los juveniles ingresan a la raíz por detrás de la capsula, la penetración puede ocurrir por otros lugares: por puntos donde las raíces laterales emergen o por tejidos agallados rodeando hembras adultas (Ortuño *et al.*, 2005). Dentro de las raíces, los juveniles se mueven intracelularmente hasta encontrar una localización favorable para alimentarse. Una vez que la alimentación comienza, las células en el lugar de alimentación (tejido vascular) incrementan su tamaño seguido por la necrosis de las células corticales.

Tercer estadio (J_3): En la raíz ocurre una segunda muda que origina el tercer estadio larval (J_3) que se distingue por adoptar forma de "C" abierta o en espiral. Proviene de la segunda muda que ocurre en la raíz o en el suelo. Su longitud se aproxima a los 0.55 mm, su intestino es más oscuro por el alto número de gránulos de grasa. Son menos activos que el J_2 ; sin embargo, aún pueden dejar la raíz y reingresar, aunque mayormente tienden a permanecer en estado de quiescencia en forma de "C". El sexo puede ser determinado al fin de este estado, por el desarrollo de las gónadas, su tamaño relativo y su disposición.

Cuarto estadio (J_4): En el cuarto estadio (J_4) experimenta la cuarta muda, se desarrollan las gónadas y abandona la raíz en estado pre-adulto, copulan e invaden nuevamente las raíces donde se establecen e inducen la formación de las agallas o nudos. Su longitud aproximada es de 0,65mm y tienen también el intestino oscuro. Se mantienen encorvados en un estado de quiescencia dentro de la corteza. Se caracteriza por su inmovilidad, dando la impresión

de estar muerto. Las gónadas del macho crecen rápidamente hacia el ano. El J₄ puede resistir más las condiciones adversas (Ortuño *et al.*, 2005).

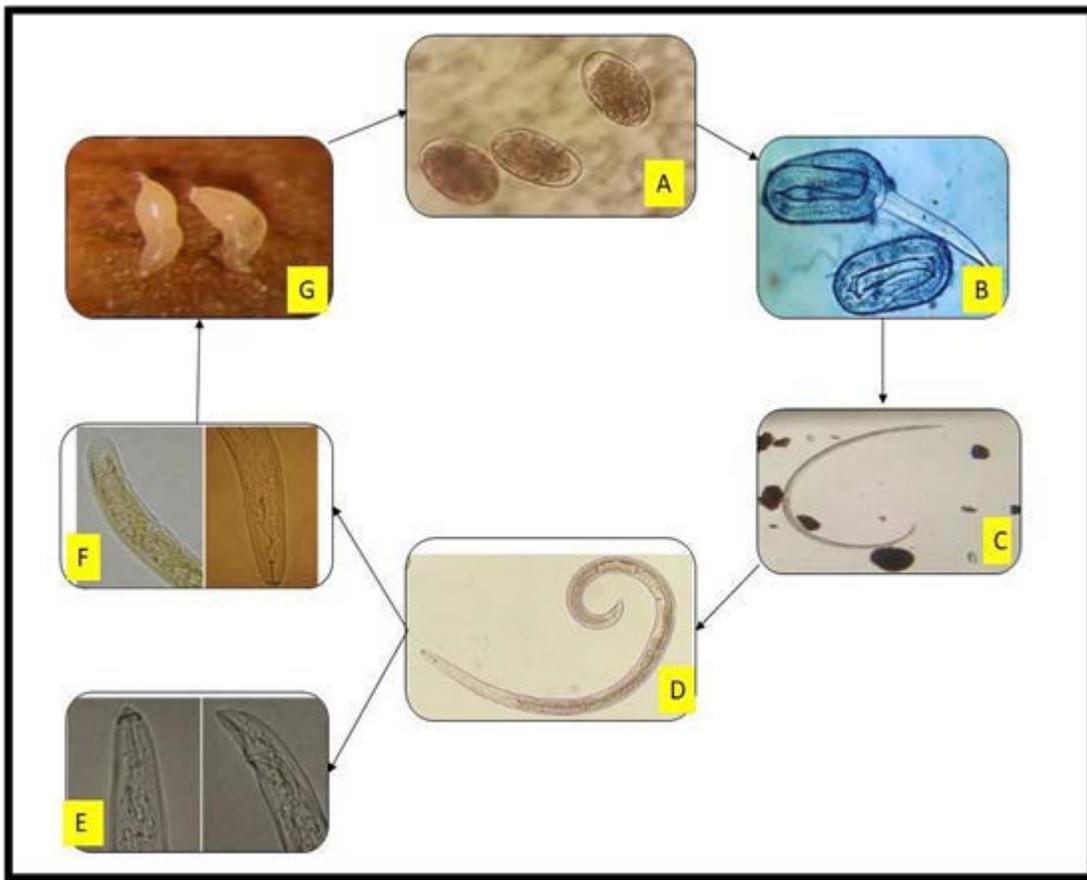


Figura 3. Ciclo biológico de *N. aberrans*: A) el huevo es depositado en una matriz gelatinosa en el suelo; B) la 1er muda ocurre dentro del huevo después de la embriogénesis; C) la larva que emerge del huevo es (J₂); D) el 3er estadio (J₃) adopta una forma de "C"; E) macho del 3er estadio ; F) hembra inmadura; G) en el 4to estadio (J₄) es una hembra madura e invade las raíces donde se forman las agallas (Páez-León, 2018).

Método de control convencional para fitonematodos

El principal método para controlar las poblaciones de fitonematodos es el control químico, que consiste en la aplicación de nematicidas químicos en los cultivos afectados (Giesbrecht Harder y Aquino Jara, 2009). En la agricultura convencional ha sido el procedimiento más utilizado por su rápido efecto (Djian-Caporalino *et al.*, 2007; Pérez-Rodríguez *et al.*, 2011).

Estos productos químicos utilizados como nematicidas se incluyen en dos grupos: 1) Los fumigantes son productos químicos volátiles entre los que se incluyen el D-D y 1-3-D y los plaguicidas de uso general tales como bromuro de metilo, cloropicrina y metil-isocianato que son en realidad biocidas de amplio espectro que controlan nematodos, hongos y malas hierbas y 2) Los productos no fumigantes son compuestos no volátiles que incluyen organofosforados como etoprofos y fenaminfos y los carbamatos como carbofuran y oxamilo que son más solubles en agua y están disponibles en formulación granulada (Ándres, 2002).

Estos productos químicos se aplican para proteger a los cultivos sin tomar en cuenta su toxicidad, la cual conlleva a la contaminación por residuos químicos afectando el suelo, agua y aire, sin embargo, puede afectar también la salud de los pobladores de las comunidades cercanas a los campos agrícolas según (Silveira-Gramont, *et al.*, 2018).

El control de los nematodos con pesticidas en algunos países es actualmente regulado debido a los efectos negativos sobre la salud humana y el medio ambiente, aunque en la actualidad se siguen usando este tipo de métodos de control (Edwards y Ploeg, 2014).

Métodos alternativos de control para fitonematodos

Debido a que es imposible la total erradicación de los nematodos fitófagos en el campo, existen diferentes métodos para disminuir su densidad poblacional en el suelo (Balarezo, 2015). Entre ellos, se destacan:

Solarización: previo a la siembra, el suelo húmedo se cubre con una lámina de polietileno transparente durante los meses de mayor insolación. De esta forma, la alta temperatura mata los huevos y juveniles de los nematodos (Vicente, 2012).

Biofumigación: el término “biofumigación” fue acuñado por Kirkegaard *et al.*, (1993) se puede definir como la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de plantas (Bello *et al.*, 2000).

Control biológico: se utilizan uno o más organismos antagónicos del agente a combatir (Abd-Elgawad, 2016). Esta estrategia permite reducir el uso de plaguicidas resultando segura para el ambiente y la salud humana (Eke *et al.*, 2016). Varios microorganismos han sido identificados como enemigos naturales de nematodos fitófagos, tales como: bacterias promotoras de crecimiento (Mukhtar *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2015), nematodos entomopatógenos (Caccia *et al.*, 2013; Kepenekci *et al.*, 2016), hongos parásitos (Huang *et al.*, 2016; Luambano *et al.*, 2015) y hongos micorrícicos arbusculares (HMA) (Robab *et al.*, 2012; Sharma y Sharma, 2016).

Un ejemplo es el uso de la bacteria *Pasteuria spp.*, la cual ha demostrado ser un gran agente de control biológico, ya que es capaz de combatir nematodos como *Belonolaimus longicaudatus*, *Heterodera spp.*, *Meloidogyne spp.*, y *Xiphinema diversicaudatum*. La bacteria *P. spp.*, es formadora de endosporas, su proceso de infección ocurre cuando las endosporas se adhieren a la cutícula del nematodo y el desarrollo de la bacteria sucede en sincronía con el desarrollo de los nematodos, por ejemplo: *P. penetrans* parasita a *M. spp.* y *P. hartismeri* parasita a *M. ardenasis* (Chen y Dickson 1998; Davies *et al.*, 2001; Gómez *et al.*, 2010).

Plantas medicinales: se basa en la aplicación de extractos vegetales que poseen metabolitos secundarios generados (terpenos, fenoles, etc) que tienen efectos nematocidas (Shivraj *et al.*, 2017).

Cuadro 2. Compuestos identificados en diferentes plantas con actividad nematocida.

Plantas nematocidas	Compuesto nematocida	Especies
<i>Melía azedarach</i>	Ácido acético, ácido butírico, ácido hexanoico, ácido decanoico, furfural, 5- hidroximetilfurfural y furfurool	<i>Meloidogyne incógnita</i>
<i>Crotalina</i>	Añcaloides 1,2 Dehidropirrolizidina	<i>M. incógnita</i>
<i>Tagetes</i>	Poliacetilenos polietilénicos flavonoides	<i>Meloidogyne spp</i>
<i>T. patula</i>	a-Terthienil ácido, ácido gálico y ácido linoleico	<i>Heterodera zea</i>
<i>Brassica juncea</i>	Glucosinolatos	<i>Pratylenchus penetrans</i>
<i>Lantana cámara</i>	11- Ácido triterpénico	<i>M. incógnita</i>
<i>Aster sedifolius</i>	Saponina	<i>M. incógnita</i>

Hongos comestibles

Los hongos comestibles son muy apreciados en el mundo debido a que ofrecen una importante cantidad y calidad de nutrientes para el consumo humano como proteínas, minerales y vitaminas. Incluso producen metabolitos secundarios tales como compuestos fenólicos, polipéptidos, terpenos y esteroides (Thatoi y Singdevsachan, 2014; Karthika y Murugesan, 2015; Souza *et al.*, 2016). así como propiedades antimicrobianas y actividad antioxidante (Jing *et al.*, 2014; Dong *et al.*, 2017). Los hongos pertenecen a un grupo de hongos nematófagos productores de toxinas, las cuales son toxinas específicas que son capaces de paralizar y/o matar a los nematodos (Soares *et al.*, 2018).

Se ha reportado la actividad de los hongos comestibles contra los fitonematodos, por ejemplo, Luo *et al.*, (2017) en donde el nematodo *M. arenaria* fue expuesto al micelio de *Coprinus comatus* mostrando un resultado donde los nematodos fueron paralizados en un 95.8% con un periodo de confrontación de 8h.

Compuestos con actividad nematicida

En un estudio realizado por Saba *et al.*, (2022) se evaluó la actividad nematicida *in vitro* del hongo *Ganoderma lucidum* contra el fitonematodo *M. incognita*, se expusieron los juveniles con las concentraciones de 100%, 50%, 10% y 1% en diferentes intervalos de tiempo (12,24,48 y 72 h). Se prepararon las muestras de basidiocarpo, los resultados del experimento revelaron que entre las tres edades del píleo y el estípite de dos semanas mostraron gran potencia nematotóxica y causaron 83.8% y 73.8% de mortalidad de juveniles a la concentración de 100% después de 72 h y con respecto a la inhibición de eclosión de huevos mostraron un 89.2% y 81% en la concentración del 100% después de cinco días. Algunos de los metabolitos que se caracterizaron del hongo *G. lucidum* mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) fueron algunos azúcares, esteroides y ácidos grasos como el ácido linoleico.

Por otro lado, Tarraf *et al.*, (2019) evaluaron la actividad *in vitro* del aceite de *Citrullus colocynthis* contra juveniles y huevos de *M. incognita* en donde por medio de un análisis de cromatografía de gases se observó la composición del aceite donde se encontraron ácidos grasos entre los cuales estaban el ácido esteárico en un 5.86%. en cuanto a los resultados el aceite fue altamente tóxico para los juveniles de *M. incognita* (> 73% de mortalidad) después de una exposición de 24 h a una solución de 25 µg/mL. En cuanto a los resultados

obtenidos con los huevos se obtuvo un 64% de mortalidad en un tiempo de 72 h en una solución de 250 µg/mL.

En otro estudio reportado por Sujogya *et al.*, (2020) se investigaron los principios bioactivos de la planta *Holigarna caustica* la cual tiene actividad antihelmíntica para lo cual se realizó un fraccionamiento guiado por un bioensayo. Del extracto de etanol se fraccionó en una columna de gel de sílice, guiado de HPLC, utilizando como modelo al nematodo *Caenorhabditis elegans*. Se obtuvo el aislamiento de un compuesto como único constituyente activo en la fracción activa en donde el compuesto que se identificó fue el ácido linoleico.

Por otra parte, Cruz-Arévalo *et al.*, (2020) evaluaron el efecto *in vitro* del hongo comestible *P. eryngii* contra huevos y larvas del nematodo *Haemonchus contortus*, en donde también se incluyó la evaluación de dos extractos, uno acetónico y otro hidroalcohólico de las cepas ECS-1138, ECS-1156, ECS- 1255, ECS-1258, ECS-1261, ECS-1282 y ECS-1292. El extracto hidroalcohólico de la cepa ECS-1255 se sometió a una columna de cromatografía de fase normal de donde se obtuvieron cinco fracciones, dentro de las cuales la fracción 5 (F5) (100%MeOH) fue la que presentó mayor efecto contra los huevos obteniendo unos porcentajes de inhibición de la eclosión de huevos de 88.77 y 91.87% a una concentración de 20 mg/mL. Posterior a esto se realizó una cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para determinar el contenido de contenido de los metabolitos secundarios donde se mostró que estaba compuestos por trealosa, ácido esteárico y β-sitosterol.

En uno de los estudios de Pineda-Alegría *et al.*, (2017) evaluaron *in vitro* la actividad de extractos hidroalcohólicos y fracciones del hongo *P. djamor* contra huevos y larvas de *H. contortus*. Los extractos hidroalcohólicos se obtuvieron por maceración mientras que las fracciones se obtuvieron por cromatografía. En cuanto a la evaluación contra los huevos el extracto no presentó una actividad significativa. El análisis de cromatografía mostró 23 fracciones las cuales se agruparon en (E=1, E=2 y E=3) y de ellas se obtuvieron los siguientes porcentajes de inhibición de eclosión de huevos E1=100, E2=38.7 y E3=5.5 a 10mg/mL a 72h post-exposición. Para la identificación de los metabolitos se realizó una cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y los compuestos que se identificaron fueron ácidos grasos dentro de los cuales estaban el ácido pentadecanoico, palmítico, linoleico y el ácido esteárico y el β-sitosterol.

De igual manera Pineda- Alegría *et al.*, (2020) con base a los compuestos que identificaron en el año 2017, evaluaron la actividad antihelmíntica de los compuestos puros: ácido pentadecanoico, ácido linoleico, ácido palmítico, ácido esteárico y β -sitosterol y se realizó una evaluación *in vitro* para la inhibición de la eclosión de huevos en donde se evaluaron los compuestos individualmente y en una combinación a una concentración final de 20 mg/mL. Como resultados el ácido esteárico en combinación con el ácido palmítico inhibió en un 100% la eclosión de huevos de *H. contortus*. Los compuestos que mayormente se reportan con actividad biológica son:

Ácidos grasos

Tienen numerosas funciones importantes en el cuerpo, incluido el almacenamiento de energía y se ha informado que algunos ácidos grasos y sus derivados tienen actividad nematocida según Tarjan y Cheo (1956).

Ácido esteárico: es un ácido graso saturado de 18 átomos de carbono presente en aceites y grasas animales y vegetales. Su fórmula química es $C_{18}H_{36}O_2$. Se obtiene tratando la grasa animal con agua a una alta presión y temperatura, y mediante la hidrogenación de los aceites vegetales. Algunas de sus sales, principalmente de sodio y potasio, tienen propiedades como tensoactivas (Hoyos, 2009).

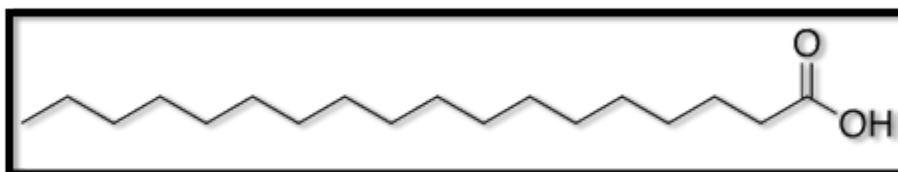


Figura 4. Estructura química del ácido esteárico.

Ácido linoleico: Es un ácido graso poliinsaturado que contiene dos dobles enlaces "cis" y 18 átomos de carbonos. Es un ácido graso esencial, el organismo no puede crearlo y tiene que ser adquirido a través de la dieta. Se encuentra principalmente en aceites vegetales.

Tienen un efecto positivo en la salud, se ha comprobado que tiene grandes beneficios a nivel de sistema nervioso como circular e incluso en efectos anticancerígenos (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2005).

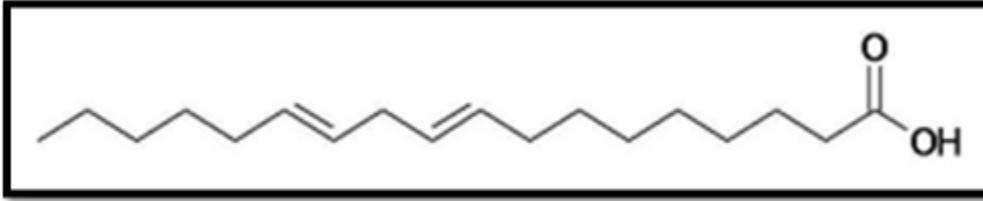


Figura 5. Estructura química del ácido linoléico.

Azúcares

Adonitol: Es un polialcohol en forma de pentosa y su fórmula molecular es $C_5H_{12}O_5$, está formado por la reducción de la ribosa. Se puede encontrar de forma natural en algunas plantas. Así como en las paredes celulares de las bacterias Gram positivas (específicamente como ribitol fosfato en los ácidos teicóicos).

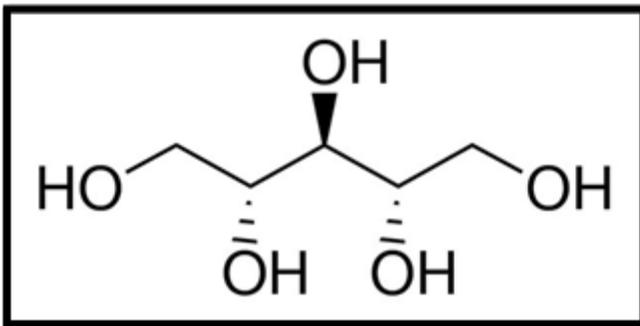


Figura 6. Estructura química del azúcar adonitol.

Trealosa: es un compuesto orgánico, un carbohidrato del grupo de los disacáridos. La trealosa se extrajo por primera vez del cornezuelo; también se encuentra en algas, levaduras, hongos superiores, líquenes, algunas plantas superiores y la hemolinfa de varios gusanos e insectos.

Algunos organismos, sobre todo bacterias, levaduras, hongos, insectos e invertebrados, así como plantas inferiores y superiores, tienen enzimas que pueden producir trealosa. La trealosa aporta a varios organismos la capacidad de recuperación tras una desecación prolongada.

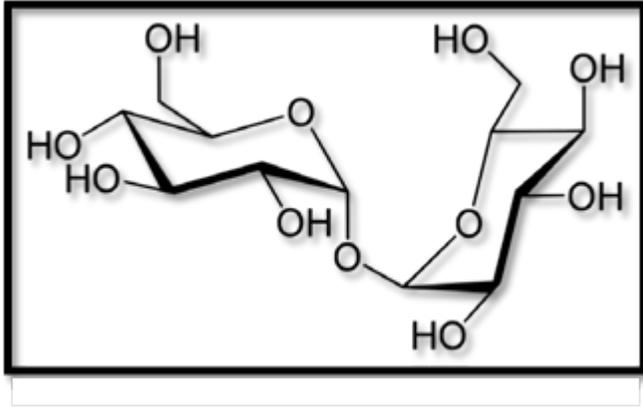


Figura 7. Estructura química del azúcar trealosa.

Esteroles

Su estructura química deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno y se caracterizan por tener como función orgánica oxigenada el alcohol. Estas sustancias se encuentran en abundancia de los organismos vivos, sobre todo en animales y en algunas algas rojas. Los hongos y levaduras contienen esteroides como el ergosterol que son precursores de la vitamina D.

Ergosterol: es un componente de las membranas celulares de los hongos es capaz de modificar la fluidez y permeabilidad de la membrana o actuando como modulador de algunas proteínas celulares. Las investigaciones han demostrado que el ergosterol puede tener propiedades antitumorales.

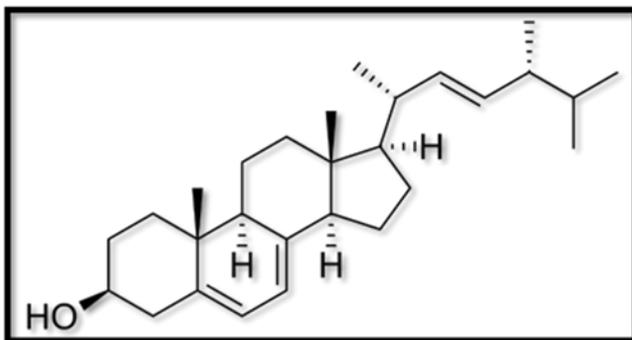


Figura 8. Estructura química del esteroide ergosterol.

β -sitosterol: es un compuesto químico que pertenece al grupo de los fitoesteroles, que son los esteroides que se encuentran de forma natural en las plantas. Cumplen la función de mantener la estructura y el funcionamiento de las membranas celulares (Pineda-Rodríguez *et al.*, 2005).

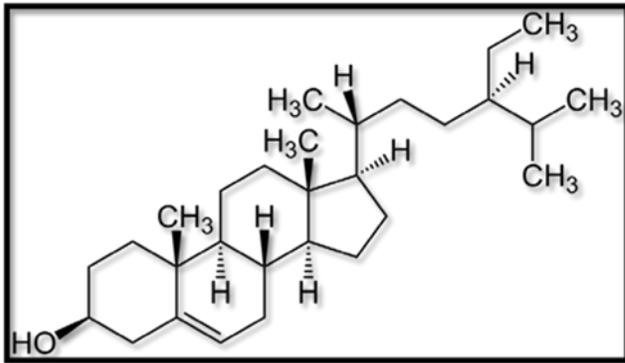


Figura 9. Estructura química del esteroide β -sitosterol

JUSTIFICACIÓN

Una de las problemáticas de la agricultura son las enfermedades causadas por fitopatógenos generando costos económicos y ambientales, tradicionalmente los métodos más comunes para el control de los fitopatógenos que afectan a los cultivos es el uso de pesticidas, sin embargo, los residuos químicos de estos compuestos han generado contaminación del suelo y agua afectando a organismos benéficos. Debido a esto los esfuerzos de investigación están enfocados en la búsqueda de nuevos compuestos para el control de estas plagas, dado que los hongos comestibles producen una amplia variedad de compuestos con múltiples actividades biológicas entre las que destacan la actividad antiparasitaria han sido objeto de estudio, por tal motivo, es necesario evaluar los compuestos puros obtenidos mediante procesos biotecnológicos para demostrar su efectividad contra fitonematodos como el falso nematodo agallador *N. aberrans* que ataca los cultivos para de esta manera disminuir las poblaciones de este nematodo sin afectar a los organismos benéficos con la finalidad de proponer un control alternativo más seguro.

HIPOTESIS

Al menos uno de los compuestos puros a evaluar presentará un efecto de inhibición de la eclosión de huevos y un efecto de mortalidad contra juveniles (J₂) del falso nematodo agallador *N. aberrans*.

OBJETIVO GENERAL

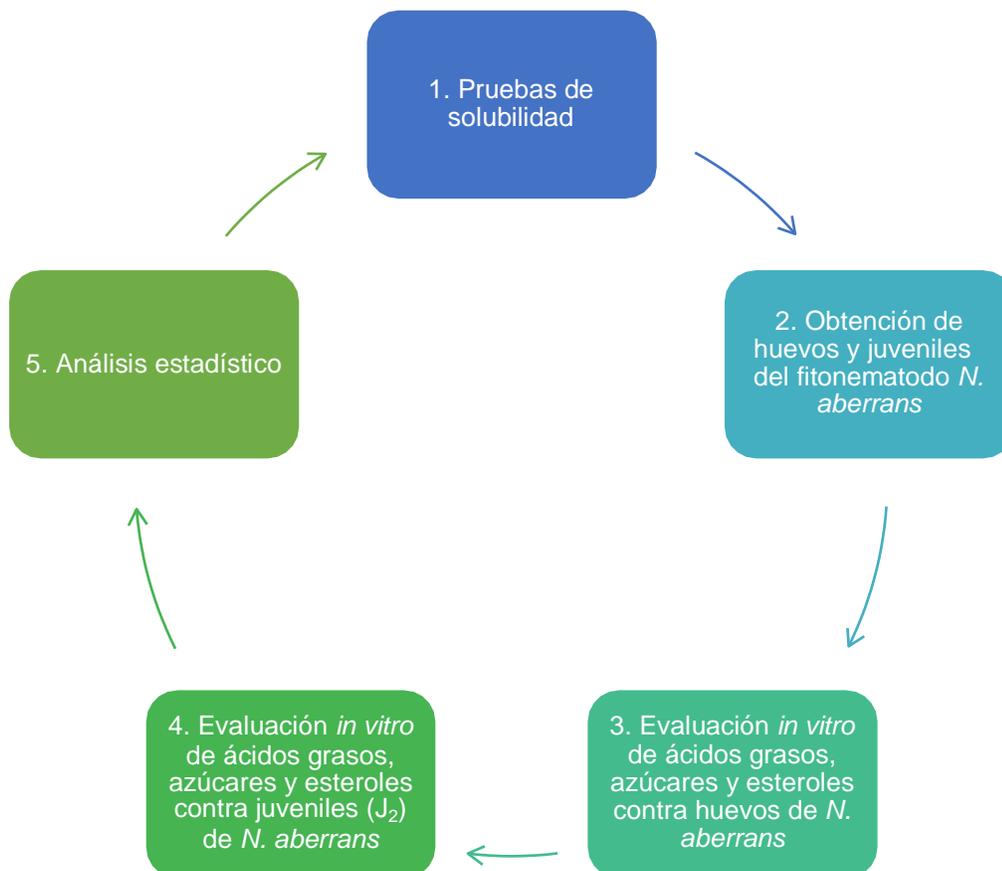
1. Evaluar *in vitro* ácidos grasos, azúcares y esteroides contra huevos y juveniles (J₂) del falso nematodo agallador *N. aberrans*.

Objetivos específicos

1. Evaluar *in vitro* los ácidos grasos linoléico y esteárico contra huevos y juveniles (J₂) de *N. aberrans*.
2. Evaluar *in vitro* los azúcares trealosa y adonitol contra huevos y juveniles (J₂) de *N. aberrans*.
3. Evaluar *in vitro* los esteroides ergosterol y β-sitosterol contra huevos y juveniles (J₂) de *N. aberrans*.
4. Calcular la CL₅₀ y CL₉₀ de todos los compuestos que presenten un efecto dosis dependiente.

MATERIAL Y METODOS

La metodología por utilizar se describe en el siguiente diagrama



Localización

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones del CENID SALUD ANIMAL E INOCUIDAD, INIFAP en Jiutepec, Morelos, México.



Figura 10. Instituto donde se llevó a cabo la presente investigación.

Adquisición de los compuestos puros

Los compuestos ácido esteárico (CAS 57-11-4), ácido linoleico (CAS 60-33-3), adonitol (CAS 488-81-3), trealosa, (CAS 87-99-0), β -sitosterol (CAS 83-46-5) y ergosterol (CAS 57 87-4) fueron adquiridos en SIGMA-ALDRICH® (Toluca de Lerdo, Estado de México, México).



Figura 11. Compuestos puros que se utilizaron en la presente investigación A) ergosterol, B) ácido esteárico, C) ácido linoléico, D) β -sitosterol, E) trealosa, F) adonitol

Obtención de huevos y juveniles (J₂) de *N. aberrans*

El inóculo de *N. aberrans* se obtuvo del tomate (*Solanum Lycopersicum Mill.*) con raíces agallas, en el Colegio de Postgraduados (COLPOS), Campus de Montecillo, Estado de México. Se incrementó la población a partir de una sola masa de huevos, los huevos se extrajeron usando el método descrito por (Vrain, 1977) bajo la dirección de la Dra. Olga Gómez Rodríguez.

Evaluación *in vitro* de ácidos grasos, azúcares y esteroides contra huevos de *N. aberrans*

Se utilizaron microplacas de titulación de 96 pozos y se realizaron diluciones seriadas de cada compuesto a diferentes concentraciones siendo 2, 1, 0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL. Por cada pozo se colocaron 50 µL de cada concentración, 20 µL de una suspensión acuosa de huevos de *N. aberrans* y 30 µL de cloranfenicol obteniendo así un volumen final de 100 µL/pozo. Se incluyeron como controles negativos agua (azúcares) y DMSO 5% (ácidos grasos y esteroides) y como control positivo Nematrol (6 mg/mL). Se realizaron por duplicado con una n=4 para cada tratamiento, las placas se cubrieron con papel aluminio y fueron incubadas a una temperatura de 27±1°C finalmente se realizó una lectura a los 16 días post confrontación.

Evaluación *in vitro* de ácidos grasos, azúcares y esteroides contra juveniles (J₂) de *N. aberrans*

Se utilizaron microplacas de titulación de 96 pozos y se realizaron diluciones seriadas de cada compuesto a diferentes concentraciones siendo 2, 1, 0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL. Por cada pozo se colocaron 50 µL de cada concentración, 20 µL de una suspensión acuosa de juveniles (J₂) de *N. aberrans* y 30 µL de cloranfenicol obteniendo así un volumen final de 100 µL/pozo. Se incluyeron como controles negativos agua (azúcares) y DMSO 5% (ácidos grasos y esteroides) y como control positivo Nematrol (6 mg/mL). Se realizaron por duplicado con una n=4 para cada tratamiento, las placas se cubrieron con papel aluminio y fueron incubadas a una temperatura de 27±1°C, finalmente se realizó una lectura a las 72 h post confrontación.

Análisis estadístico

El porcentaje de inhibición de eclosión de huevos (EHI) se calculó mediante la fórmula (Páez-León *et al.*, 2022).

$$\text{EHI}(\%) = \frac{\text{número total de huevos (morulados y larvados)}}{\text{número total de huevos (morulados y larvados)} + \text{número de larvas}} \times 100$$

El porcentaje de mortalidad se calculó mediante la siguiente fórmula (Vargas-Magaña *et al.*, 2014).

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{\text{número de larvas muertas}}{\text{número de larvas vivas} + \text{número de larvas muertas}} \times 100$$

Los datos de mortalidad fueron transformados mediante la función $(\sin^{-1}(\sqrt{y/100}))$. Posteriormente, se realizaron las pruebas de normalidad (test de Shapiro-Wilk) y la prueba ANOVA unidireccional por rangos de Kruskal-Wallis para los azúcares y ácidos grasos en juveniles. Para el caso de las pruebas *in vitro* con huevos, se realizó un ANOVA de una vía y la comparación de medias según el valor de p.

RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de las evaluaciones *in vitro* contra huevos de *N. aberrans*.

Cuadro 3. Porcentajes de la evaluación *in vitro* de inhibición de eclosión de huevos de *N. aberrans* expuestas contra azúcares.

Concentración mg/mL	TRE ns	ADO ns	DMSO	NEM
2	34.43±17.62	36±10.63		
1	35.71±18.85	35.71±24.97		
0.5	35.73±17.22	28.81±22.97	29.71±12.13	92.77±9.42
0.25	36.85±9.84	29.34±15.49		
0.125	31.61±25.29	29.30±26.80		

ns: no significativo

TRE: trealosa, ADO: adonitol

DMSO: control negativo 5%, NEM: nematrol, control positivo 6 mg/mL

De la evaluación *in vitro* realizada se puede observar que ninguno de los compuestos tuvo un efecto de inhibición de eclosión de huevos de *N. aberrans* mayor al 40%.

Cuadro 4. Porcentajes de la evaluación *in vitro* de inhibición de eclosión de huevos de *N. aberrans* con esteroides y ácidos grasos.

Concentración mg/mL	β -ST ns	ERG ns	EA ns	AL	DMSO	NEM
2	16.40 \pm 8.08	20.43 \pm 6.82	19.65 \pm 3.72	56.10 \pm 11.93 ^a		
1	25.59 \pm 11.68	20.34 \pm 6.48	23.55 \pm 15.11	34.51 \pm 11.23 ^b		
0.5	17 \pm 6.30	20.14 \pm 5.90	22.48 \pm 5.23	18.66 \pm 5.07 ^{bc}	17.85 \pm 8.61	92.90 \pm 7.24
0.25	22.25 \pm 8.68	23.78 \pm 5.76	16.48 \pm 9.59	23.25 \pm 8.01 ^c		
0.125	17.40 \pm 6.30	20.52 \pm 7.11	19.66 \pm 7.58	17.82 \pm 5.88 ^c		

ns: no significativo

β -ST: β -sitosterol, ERG: ergosterol, AE: ácido esteárico, AL: ácido linoléico

DMSO: control negativo 5%, NEM: nematrol, control positivo 6 mg/mL

AL: promedios con letras diferentes indican que difieren significativamente (test Tukey $\alpha=0.05$; $F=26.03$, $df=4.35$, $p= <0.001$)

De la evaluación *in vitro* realizada se puede mostrar que el compuesto que presentó mayor actividad de inhibición de la eclosión de huevos de *N. aberrans* fue el ácido graso linoleico, en donde la concentración más alta 2 mg/mL presentó un porcentaje de más de 50%. Mientras que la concentración 1 mg/mL su porcentaje fue mayor al 30%.

A continuación, imágenes obtenidas de huevos de *N. aberrans* de la evaluación *in vitro* contra el ácido linoleico que fue el compuesto que mayor efecto de inhibición presentó.

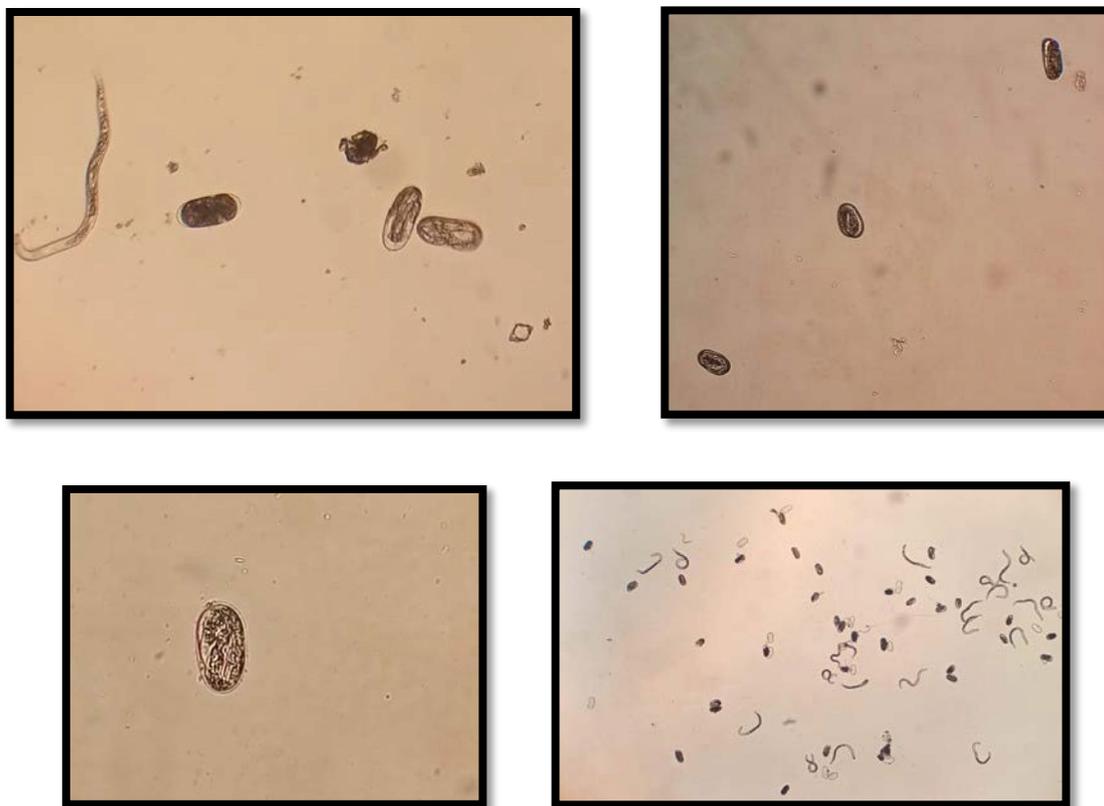


Figura 12. Huevos y juveniles (J₂) de *N. aberrans* encontrados en la evaluación *in vitro* contra el ácido linoléico en las concentraciones 2-1 mg/mL (fotografías tomadas por la autora de este trabajo, observación a 10x en el microscopio óptico).

Debido a que el ácido linoleico fue compuesto más efectivo en la prueba *in vitro* de inhibición de eclosión de huevos se obtuvo la CL₅₀ y CL₉₀. La CL₅₀ fue de 1.94 mg/mL mientras que la CL₉₀ de 28.34 mg/mL.

Para los demás compuestos no fue posible obtener dichos datos, ya que no se obtuvieron resultados favorables.

Cuadro 5. Resultados de análisis de PROBIT de ácido linoléico 2-0.125 mg/mL

Compuesto	CL ₅₀ (LI-LS)	CL ₉₀ (LI-LS)
Ácido linoleico	1.94 (1.49-2.40)	28.34 (10.31-46.37)

CL₅₀: Concentración letal media (mg/mL); LI: Límite inferior, LS:Límite superior.

Se usó paquetería drc del entorno R.

En cuanto a los resultados obtenidos de la prueba *in vitro* de mortalidad contra juveniles (J₂) de *N. aberrans* ninguno de los compuestos de los tres grupos evaluados presentó una actividad de mortalidad mayor al 15%.

Cuadro 6. Porcentajes de la evaluación *in vitro* de mortalidad de juveniles (J₂) de *N. aberrans* contra azúcares.

Concentración mg/mL	TRE ns	ADO ns	DMSO	NEM
2	0.82±1.22	0±0		
1	2.40±2.31	1.10±1.56		
0.5	1.32±1.56	1.74±3.26	0±0	100±0
0.25	0.44±1.26	0.44±0.82		
0.125	0.34±0.98	0.32±0.60		

ns: no significativo

TRE: trealosa, ADO: adonitol

DMSO: control negativo 5%, NEM: nematrol, control positivo 6 mg/mL

De la evaluación *in vitro* realizada se puede observar que los compuestos pertenecientes al grupo de los azúcares no presentaron un efecto de inhibición favorable, ya que ninguno de ellos mostró el 5% de efectividad.

Cuadro 7. Porcentajes de la evaluación *in vitro* de mortalidad de juveniles (J₂) de *N. aberrans* contra ácidos grasos y esteroides.

Concentración mg/mL	β-ST ns	ERG ns	EA*	AL ns	DMSO	NEM
2	2.09±2.48	1.22±1.63	0±0 ^b	3.21±4.94		
1	4.70±8.47	4.47±6.53	3.63±2.79 ^b	5.78±6.63		
0.5	2.88±5.42	1.88±2.71	8.61±7.30 ^a	3.68±4.93	1.56±1.70	100±0
0.25	1.95±3.55	1.51±3.07	5.10±5.83 ^b	8.12±13.27		
0.125	3.02±5.60	4.24±5.56	6.30±5.33 ^b	2.27±2.98		

ns: no significativo

β-ST: β -sitosterol, ERG: ergosterol,AE: ácido esteárico,AL: ácido linoléico

DMSO: control negativo 5%, NEM: nematrol, control positivo 6 mg/mL

*Comparaciones múltiples test de Kruskal-Wallis (promedios con letras diferentes indican que difieren significativamente, Kruskal wallis chi²= 12.576,df=4, p=0.014).

De la evaluación *in vitro* realizada se observa que tanto los compuestos del grupo de ácidos grasos y los compuestos del grupo de los azúcares no mostraron un efecto de mortalidad mayor al 10%.

A continuación, se presentan algunas imágenes de la evaluación *in vitro* de mortalidad contra juveniles (J_2) de *N. aberrans* donde la mayoría de los juveniles no presentó dicho efecto.

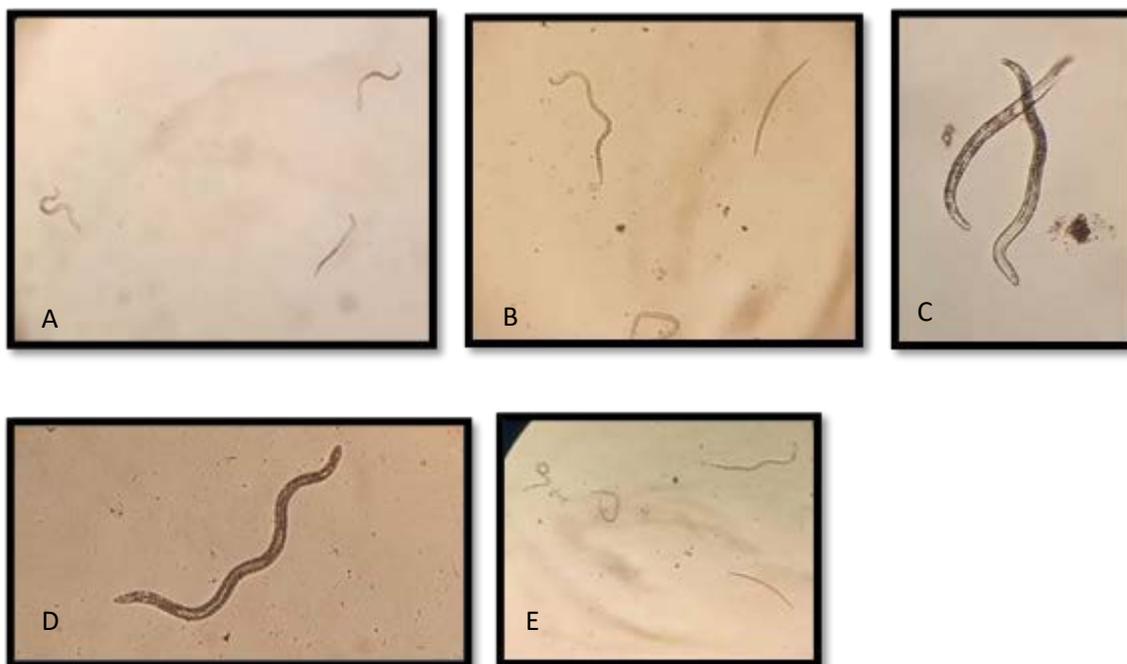


Figura 13. Juveniles (J_2) y huevos de *N. aberrans* en la evaluación *in vitro* de mortalidad A) juveniles (J_2) en muestra del azúcar adonitol en la concentración 0.5 mg/mL, B) juveniles (J_2) en muestra del azúcar trealosa en la concentración de 0.5mg/mL, en esa misma muestra de lado derecho se puede observar un juvenil en estado de mortalidad, presenta forma "C", C) juveniles (J_2) en muestra de esterol β -sitosterol en la concentración 0.25 mg/mL, D) juvenil (J_2) en muestra del ácido linoléico en la concentración 1 mg/mL E) juveniles (J_2) en muestra del esterol ergosterol en la concentración 2 mg/mL (fotografías tomadas por la autora de este trabajo, observación a 10x)

DISCUSIÓN

En el presente estudio se realizó la evaluación *in vitro* de diferentes compuestos pertenecientes a ácidos grasos, azúcares y esteroides contra huevos y juveniles (J₂) del falso nematodo agallador *N. aberrans*. Dentro del grupo de los ácidos grasos se evaluaron dos ácidos grasos, el ácido esteárico y el ácido linoleico, por su parte en el grupo de los azúcares se evaluaron la trealosa y el adonitol y finalmente en el grupo de los azúcares se evaluaron el β -sitosterol y ergosterol, de los cuales se esperó que tuvieran efecto en la inhibición de eclosión de huevos y en mortalidad de J₂.

Para este trabajo fueron propuestos compuestos comerciales los cuales fueron considerados como un método de control alternativo contra *N. aberrans* ya que actualmente el control que se utiliza para estos fitonematodos es el control químico, el cual es la aplicación de nematicidas químicos en los cultivos afectados. Sin embargo, estos generan problemas en el medio ambiente y en otros organismos que son benéficos.

Se sabe que los hongos comestibles poseen metabolitos con propiedades nematicidas y en algunos estudios se han identificado ácidos grasos, esteroides entre otros. Tal es el caso de Pineda-Alegria *et al.*, (2017) que identificaron compuestos como ácidos grasos dentro de los cuales estaban el ácido pentadecanoico, palmítico, linoleico y el ácido esteárico y el β sitosterol y estos tuvieron efecto sobre nematodos gastrointestinales como *H. contortus*.

No obstante, también hay artículos que muestran que tales compuestos presentan actividad sobre fitonematodos tal es el caso de Saba *et al.*, (2022) en donde mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas caracterizaron los metabolitos que se podrían usar como agentes contra nematodos agalladores dentro de los cuales estaban azúcares, ácidos grasos entre otros provenientes de *G. lucidum*. De igual manera determinaron la actividad nematicida contra juveniles de *M. incognita* en donde se obtuvo un 83.8 y 73.8% de mortalidad a una concentración del 100% después de 72h de exposición. No obstante, también se realizó una prueba de inhibición de la eclosión de huevos en donde se obtuvo un porcentaje del 89.2 y 81% en la concentración del 100%.

Se ha reportado en diversos artículos que los ácidos grasos presentan actividad nematicida, sin embargo, también presentan actividad insecticida, tal es el caso de Cruz-Estrada *et al.*, (2019) donde se evaluó extractos de la planta *Eugenia winzerlingii* contra dos insectos *Bemisia tabaci* y *Myzus persicae* al igual que contra dos nematodos fitoparásitos, *M. incognita* y *M. javanica*.

En dicha evaluación y mediante análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masas, se reveló que las fracciones tenían propiedades nematocidas en donde se encontró la presencia de una mezcla de ácidos grasos (decanoico, undecanoico, dodecanoico, tridecanoico, y ácidos tetradecanoicos).

En cuanto a la prueba de mortalidad en nematodos fitoparásitos en el estadio de J₂ se presentó un efecto de 94.4-100% de mortalidad para ambas especies, por su parte dicha mezcla de ácidos grasos también presentó efecto de inhibición de oviposición en *B. tabaci* con un porcentaje de 94.3-98.2% y en el caso de *M. persicae* los valores de inhibición de sedimentación fueron de 83.3-97.6%.

Aunque los ácidos grasos han demostrado potencial para controlar insectos y nematodos en la agricultura, Es importante determinar si el uso de estos compuestos es seguro para realizar pruebas *in vivo* y, por tanto, viables para su uso como agentes fitosanitarios.

Por otra parte, Tarraf *et al.* (2019) evaluaron la actividad *in vitro* del aceite de *C. colocynthis* contra juveniles y huevos de *M. incognita* en donde por medio de un análisis de cromatografía de gases se observó la composición del aceite donde se encontraron ácidos grasos entre los cuales estaban el ácido esteárico en un 5.86%. en cuanto a los resultados el aceite fue altamente tóxico para los juveniles de *M. incognita* (> 73% de mortalidad) después de una exposición de 24 h a una solución de 25 µg/mL. En cuanto a los resultados obtenidos con los huevos se obtuvo un 64% de mortalidad en un tiempo de 72h en una solución de 250 µg/mL.

En comparación con los resultados obtenidos en este estudio en la mortalidad de juveniles con el ácido esteárico se reportó un 8.61% de mortalidad a una concentración de 0.5 mg/mL después de 72 h de exposición. Y en la inhibición de eclosión el porcentaje fue de 23.55% a la concentración de 1 mg/mL en un tiempo de 16 días.

En cambio, en los resultados obtenidos del ácido linoleico el porcentaje de mortalidad tuvo una efectividad de 8.12% a una concentración de 0.25 mg/mL. Por otro lado, en la inhibición de eclosión el porcentaje obtenido fue de 56.10% en la concentración más alta 2 mg/mL. A comparación con los demás compuestos evaluados tanto del grupo de azúcares como esteroides que no presentaron mucha efectividad.

En otro estudio realizado por Zhang *et al.*, (2012) evaluaron los posibles efectos de nueve ácidos grasos comerciales (butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, oleico y linoleico) contra *M. incognita*, donde en dicha evaluación se realizó la prueba de

inhibición de eclosión de huevos y la prueba de mortalidad de J₂. En cuanto a los datos obtenidos de inhibición de eclosión de huevos estos se observaron a los 21 días en donde especialmente el ácido cáprico redujo la tasa de eclosión en un 15.8%, en cuanto a los resultados obtenidos en la prueba de mortalidad el ácido caprílico y cáprico mostraron un 50% de mortalidad después de 24 h de exposición.

Los ácidos grasos en los nematodos se han asociado con la alteración de las membranas celulares, lo que conduce alteraciones en la permeabilidad de la membrana y el transporte de iones, lo que a su vez compromete la capacidad interna de iones y homeostasis del agua (Davis 1997). Además, los ácidos grasos también pueden alterar el comportamiento quimiotáctico en nematodos, lo que resulta en una disminución sustancial de la infección por nematodos (Dong 2014).

Velazco-Azorsa *et al.*, (2021) realizaron una evaluación *in vitro* de extractos de plantas donde se identificaron algunos esteroides en la planta *Adenophyllum aurantium* como el β sitosterol y otros metabolitos con actividad nematicida, asimismo se realizaron evaluaciones con compuestos comerciales dentro de los cuales se encontraba el mismo esteroide identificado anteriormente. En cuanto a los resultados obtenidos de la evaluación de la mortalidad con el β -sitosterol comercial este presentó un 60% en *M. incognita*.

En comparación a los resultados obtenidos de este trabajo en la prueba de mortalidad con el compuesto β -sitosterol se obtuvo un 4.70%. Un porcentaje mucho menor al del estudio anterior. En cuanto a los resultados obtenidos de la prueba de inhibición de eclosión de huevos se obtuvo un 25.59 mg/mL .

Según Behm (1997) en cuanto a los azúcares la trealosa es un protector de estrés en los sistemas biológicos, ya que interactúa y protege directamente las membranas lipídicas y las proteínas del daño, que son causadas por el estrés ambiental. También la trealosa actúa como reserva de energía en algunos nematodos y huevos y puede ser importante en la absorción de glucosa que parece funcionar como el principal azúcar en la sangre circulante.

CONCLUSIÓN

Los compuestos del grupo de azúcares, ácidos grasos y esteroides evaluados en esta investigación no presentaron un efecto significativo para evaluar inhibición de eclosión de huevos y mortalidad en J₂ de *N. aberrans* mayor al 60%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abd-Elgawad, M.M.M. (2016). Biological control agents of plant-parasitic nematodes. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26: 423-429.

Agrios, G.N. (2005). *Plant pathology*. 5th ed. Elsevier Academic Press, New York.

Anaya S. y Romero, J. (1999). *Hortalizas plagas y enfermedades*. 1-50

Anziani, O.S., Fiel C.A. (2015). Resistencia a los antihelmínticos en nematodos que parasitan a los rumiantes en la Argentina. *Revistas de investigaciones Agropecuarias*, 41: 125 – 135.

Bello, A., López-Pérez, J. A., y Díaz-Viruliche, L. (2000). Biofumigación y solarización como alternativas al bromuro de metilo. *Memorias del Simposium Internacional de la Fresa Zamora, México*, 24-50

Biofumigation usin *Brassica* species to control pest and diseases in horticulture and agricultura. In: Wratten, M., Mailer, R.J. (Eds), 9th Australian Research Assembly on Brassicas. British Society for Plant Pathology, Agricultural Research Institute, Wagga Wagga, 77-82

Cabalenas E.; Fernández, P.; Remesar, S.; Prieto, A; Díaz, J.M.; López., G; López, C; Panadero, R, Morrando, P; Diez-Baños, P. (2017). Principales parasitosis del ganado ovino. *Investigación en Sanidad Animal: Galicia (Grupo INVESAGA)*. Departamento de Patología Animal. Universidad de Santiago de Compostela, Lugo. 25-26.

Caccia, M., Lax, P. & Doucet, M.E. (2013). Effect of entomopathogenic nematodes on the plant-parasitic nematode *Nacobbus aberrans*. *Biology of Fertility and Soils*, 49: 105- 109.

Castañeda-Ramírez, GS, Torres-Acosta, JF de J., Sánchez, JE, Mendoza-de-Gives, P., González-Cortázar, M., Zamilpa, A., Aguilar-Marcelino, L. (2020) . El posible uso biotecnológico de bioproductos de hongos comestibles para el control de nematodos parásitos de plantas y animales. *BioMed Research International*, 2020, 1-12 doi:10.1155/2020/6078917

Chen, Z. X., and Dickson, D. W. (1998). Review of *Pasteuria penetrans*: Biology, ecology, and biological control potential. *Journal of Nematology* 30:313-340

Chitwood, D.J. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service. *Pest Manag. Sci.* (2003), 59, 748–753.

Cruz-Arévalo, J., Sánchez, J. E., González-Cortázar, M., Zamilpa, A., Andrade-Gallegos, R. H., Mendoza-de-Gives, P., & Aguilar-Marcelino, L. (2020). Chemical composition of an anthelmintic fraction of *Pleurotus eryngii* against eggs and infective larvae (L3) of *Haemonchus contortus*. *BioMed research international*, 2020.

Edwards, S., and Ploeg, A. (2014). Evaluation of 31 potential biofumigant *Brassicaceous* plants as hosts for three *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 46(3):287

Eke, P., Chatue, G.C., Wakam, L.N., Kouipou, R.M.T., Fokou, P.V.T. & Boyom, F.F. (2016). Mycorrhiza consortia suppress the fusarium root rot (*Fusarium solani* f. sp. phaseoli) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biological Control*, 103: 240-250.

GL Barron y RG Thorn, "Destrucción de nematodos por especies de *Pleurotus*", *Canadian Journal of Botany*, vol. 65, núm. 4, págs. 774–778, 1987. Ver en: Sitio del editor | Google Académico

Huang, W.J., Cui, J.K., Liu, S.M., Kong, L.A., Wua, Q.S., Peng, H., He, W.T., Sun, J.H. & Peng, D.L. (2016). Testing various biocontrol agents against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in cucumber plants identifies a combination of *Syncephalastrum racemosum* and *Paecilomyces lilacinus* as being most effective. *Biological Control*, 92: 31-37.

Kirkegaard, J.A., Gardner, P.A., Desmarchelier, J.M. and Angus, J.F., (1993).

Márquez-Lara, D. (2008). Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia. *Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, Pp:124-135

Mukhtar, T., Hussain, M.A. & Kayani, M.Z. (2013). Biocontrol potential of *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne incognita* in okra. *Phytopathologia Mediterranea*, 52: 66-76.

Munguía, J., Navarro, R., Hernández, J., Molina, R., Cedillo, J. y Granados, J. (2018). Parásitos gastroentéricos, población *Haemonchus contortus* en caprinos en clima semiárido

de Sonora, Mexico. Revista <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.83.2> Avánico Veterinario 8(3), 42–50.

Ntalli, N. G., and Caboni, P. (2012). Botanical nematicides in the mediterranean basin. *Phytochemistry Reviews* 11:351-359

Panda, SK, Das, R., Mai, AH, De Borggraeve, WM y Luyten, W. (2020). La actividad nematocida de la fruta *Holigarna caustica* (Dennst.) Oken se debe al ácido linoleico. *Biomoléculas*, 10 (7), 1043.

Piedrahita, Ó. A. G., Zapata, J. C., & Estrada, B. V. (2012). Principales nematodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica. Estimación histopatológica del grado de infección inducido por *Stagonospora nodorum* (berk.) castellani & germano en plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.).

Pineda-Alegría, JA, Sánchez, JE, González-Cortazar, M., Von Son-de Fernex, E., González-Garduño, R., Mendoza-de Da, P., Aguilar-Marcelino, L (2020). Actividad nematocida *in vitro* de ácidos grasos comerciales y β -sitosterol contra *Haemonchus contortus*. *Revista de Helmintología*, 94 , e135.

Pineda-Alegría, JA, Sánchez-Vázquez, JE, Gonzalez-Cortazar, M., Zamilpa, A., López Arellano, ME, Cuevas-Padilla, EJ., Aguilar-Marcelino, L. (2017). El hongo comestible *Pleurotus djamor* produce metabolitos con actividad letal contra el nematodo parásito *Haemonchus contortus*. *Revista de Alimentos Medicinales* , 20 (12), 1184-1192

Ravichandra, NG (2014). *Nematología hortícola* (No. 14780). Nueva Delhi: Springer India.

Robab, M.I., Shaikh, H. & Azam, T. (2012). Antagonistic effect of *Glomus mosseae* on the pathogenicity of root-knot nematode infected *Solanum nigrum*. *Crop Protection*, 42: 351 355.

Rodríguez-Vivas, R. I., Grisi, L., Pérez de León, A., Silva-Villelas, H., Torres Acosta, J. F. T., Frago Sánchez, H., Romero-Salas, D., Rosario-Cruz, R., Saldierna, F. and D. García Carrasco. (2017). Potential economic impact assessment for cattle parasites in México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 61–74.

Silveira_Gramont, M. I., Aldana-Madrid, M. L., Piri_Santana, J., Valenzuela_Quintana, A. I., Jasa_Silveira, G., & Rodriguez-Olibarria, G. (2018). Plaguicidas agrícolas: Un marco de referencia para evaluar riesgos a la salud en comunidades rurales en el estado de Sonora,

Mèxico. Revista internacional de contaminación ambiental, 34(1), 1 - 15.
doi:org/10.20937/rica.2018.34.01.01

Tarraf, W., Laquale, S., De Mastro, G. y D'Addabbo, T. (2019). El potencial del aceite de *Citrullus colocynthis* como biocida contra nematodos fitoparásitos. Protección de cultivos, 124 , 104843.

Torres-Acosta JFJ, Chan-Pérez I, López-Arellano ME, Rosado-Aguilar JA, Soberanes-Céspedes N, Neri-Orantes S, Alonso-Díaz M, Martínez-Ibáñez F, Osorio-Miranda J, Vargas-Magaña JJ, Encalada-Mena L. (2015). Diagnóstico de resistencia a los antiparasitarios en rumiantes. En Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria AMPAVE-CONASA, pp. 355-403

Vicente, N.E. (2012). Conjunto Tecnológico para la Producción de Calabaza. Nematodos. Estación Experimental Agrícola, Universidad de Puerto Rico, p.155.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos a 10 de noviembre de 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **NIMCI ABIGAIL RAMÍREZ FLORES**, con el título del trabajo: **EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD DE AZÚCARES, ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES CONTRA EL FITONEMATODO *Nacobbus aberrans***. En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis como lo marca el artículo 6° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

PRESIDENTE: DR. VÍCTOR MANUEL HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ

SECRETARIO: DR. ALEJANDRO GARCÍA FLORES

VOCAL: DRA. LILIANA AGUILAR MARCELINO

SUPLENTE: M. EN C. ANA LUISA ORTÍZ VILLASEÑOR

SUPLENTE: DRA. ADRIANA VALLADARES MÉNDEZ

FIRMA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

LILIANA AGUILAR MARCELINO | Fecha:2023-11-11 16:56:36 | Firmante

f4qYIPpftxY1N3k5xpnx2Lfk8YQdr2lrgJWC7smTyO1a7Kd00wQ2d/K9L9Zpul0fOpOThrLL73KswTfrYJQXtOh9Z6bit9kLdgXulskJn3ZwPy2lQW7YBYX6+Ybvd13FvS//bL6dgx9LpuY Z6RPBIP5GH4pPOOXtnMdHgLHzq9inXjoByzBSP3H+WwSsT5S/7YTmuRr64oD7necxzzmIV7B37OONlzdYBJbygFPXMl0vqiao2tVE+1rYp+NmriF1xhkV4Gv10vjHyz7qdN5k G4Pm0ErVakNNK5P6HLzKU8NPQX4QnHDVHV08b2hAOAHSNZT8oaoi8e9JAg7RdA==

ANA LUISA ORTIZ VILLASEÑOR | Fecha:2023-11-13 11:14:40 | Firmante

gh4dlBtxZFdkM8jeUPXrq9Ktvlxz+nsZJRIQ8V3sVepf2J2sp848N4jEe7OWefLVA+32ndohBkErmR4UJV3JaNW AJ+4xml1D6gDYja80+hMwLn+XM+M020gByPbSzkdz6igXvrJhtO a/QsGfJTtooyttWiQ9x+uGAvt6mgECEJGuTvP228NN9posHh9+aUhBXUAXdremawJiW1BwkVcwsADbk6jVPWWhSuO4JpcS7AYIu9TIHN8Zle602ETicqcvLN6riJ1DjJWvmWb+Srm WuOl+UN63uAJADeM4ZPhlykaqZ5wRaP+PkuVbMdbnP73IHfCj6kKb1ooEVCvWCA8MA==

ALEJANDRO GARCIA FLORES | Fecha:2023-11-14 08:14:20 | Firmante

q18aMaTeZ6atJEKmaluSIIoYoQ2sw0mEo95atlniV5n5QM54OeHVr13fNODGhCsaNySU/uuuyO5sV+mzZMKlijY2ejqz16Ue6eV1fQ0wWepgdi0EeNVqRmUE4+uj97T/XUMyGQ /tOqhEuag27ZwcSTUJrc0vHelN0l5tSvPswD6ysoyyddmR25B+FFZdSit/9q4qiSWF2wh7HhGRhVnMbGLXbUQNODxr/OTWWLh9/oFXLCsa2G7fwSnbvbx6LQ2tbf1deWobrTO90 iGCR2GsvZAQRrp1LiDikdEybf7fv0nTdfjq1n0fPnxpTJTJGTBeAhXT003HMqvJi2bg==

VICTOR MANUEL HERNANDEZ VELAZQUEZ | Fecha:2023-11-27 10:43:06 | Firmante

Sarabd5mder+f6+0vjFVf0KHvskKlHctk1eXyJMPVFjoQ4gOfEP1HXMz01Fr8G+Clyxv/eswfs9CxFK3R9MHk0rPjZZHfdXpkfE15IOdilBoLn5biqyHr/Vor9pCpqc7QbsonKN1Z1xmQ sFrRzleKUm09184PQwcej3da6szYVfWx5qjQsB5t7w/gAwNUOC5g2h2oWkqHbZrvHRr13sosisidvZNX/6x14l6p1sRk9b70ik+8BlzBPRXxTRrhfR1nNRReeoow4euQL1Kw/BsARdGny 8RI6O6aEQagOlnpqx/xP4luocU59FDfWQPbr2WAQ+zy7dnEjnjl/qS/CY7hpHkg==

ADRIANA VALLADARES MENDEZ | Fecha:2023-12-27 18:14:18 | Firmante

XrAGI7bH2hpjwHX7IXCdSEclvBNcZYHCw38NINFXGgex58aSVTG62O+rOh8RfKEH/Tc2ZDU6x3EwQ0n2aSmtlgjMxTYkf3/qdCqUrc4Zypz7s9uy7xYywwJVUJMCYVf75UVq1EGN1 LgXM/zTHguXVU1DIKT0PqT xrpCWVLDDd1/v/56AonsA1mnRI0DhbGTra8dbZJYcNcWDki87LSI+IRpiVaLcew2lwyUNf4wjx4n1QIRyn6jCmkfGL1XK22m+d0J3XDMmY+4BocTRI kd/0Hk1ob1izPleIK9XRxyqEXeLg90piOIoc+77b/eR+o67k3feDvpmTYjL/nk7LA4WA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



rMNpIVTxZ

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/kP39NP3mVFYtyvcYJGlqth2OJoxrKSY>

