



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



FACULTAD  
DE CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

***BIOCONTROL DE NEMATODOS AGALLADORES *Meloidogyne enterolobii*, POR UN CONSORCIO MICROBIANO.***

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G O**

**P R E S E N T A:**

LUZ ELENA LUGO GARCIA

**DIRECTORA**

DRA. IRÁN TAPIA VÁZQUEZ

**CODIRECTORA**

DRA. CLAUDIA MARTÍNEZ ANAYA

**CUERNAVACA, MORELOS**

**MAYO, 2024**



"Para mamá fuente inagotable de sabiduría y amor que siempre me ha alentado a explorar y comprender el mundo que me rodea. A todos los espíritus curiosos que anhelan comprender el misterio del universo: Que la búsqueda de conocimiento sea su faro, y que cada descubrimiento los llene de asombro y sabiduría."

## AGRADECIMIENTOS

"Un científico en su laboratorio no es solo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que impresionan como un cuento de hadas" inspirada por esta idea de Marie Curie, deseo expresar mi agradecimiento a las personas que han contribuido a mi formación como estudiante.

Agradezco sinceramente a mi directora de tesis, la Dra. Irán Tapia, por su guía experta, apoyo constante y dedicación. Sus conocimientos y orientación fueron fundamentales en esta etapa académica. A mi codirectora, la Dra. Claudia Martínez, por aceptarme y recibirme en su laboratorio, así como a sus alumnos que se convirtieron en compañeros, que me enseñaron y guiaron. A los integrantes del laboratorio LINPI 2, les agradezco su amabilidad y compañerismo, por integrar a los nuevos alumnos y hacerlos sentir cómodos. Al comité evaluador por su tiempo, así como por sus valiosos comentarios y consejos

No puedo dejar de expresar mi gratitud hacia mis amigos Montse, Kevin, Gal, Eusebio, Lib y Mateo, con quienes reí, lloré, grité y festejé. Han compartido y escuchado en cada paso del proceso, brindando palabras de aliento y consejos que me ayudaron a despejarme. A mis fieles compañeras de desvelos, quienes se turnaban para acompañarme al pie de mi silla o debajo del escritorio. El simple hecho de verlas descansar me hacía sentir acompañada, y siempre se apiñaban para despedirme y recibirme. Gracias, Zury y Saha.

Finalmente, a mi mamá Yolanda y mi hermano Enrique, con quienes siempre puedo contar, que son mi red de seguridad y cuyo amor incondicional y constante apoyo han sido mi mayor inspiración y fortaleza.

# ÍNDICE

RESUMEN.....	1
1 INTRODUCCIÓN .....	3
2 MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 Agricultura en México .....	5
2.2 Generalidades del cultivo de Tomate .....	6
2.2.1 Importancia.....	8
2.3 Parásitos de cultivos .....	10
2.3.1 Tipos de parásitos.....	11
2.4 Nematodos.....	12
2.4.1 Nematodos fitoparásitos .....	13
2.4.2 Alimentación .....	14
2.4.3 Daños en cultivos .....	15
2.5 <i>Meloidogyne sp.</i> .....	16

2.5.1	Ciclo de vida de <i>Meloidogyne sp.</i> .....	18
2.5.2	<i>Meloidogyne enterolobii</i> .....	20
2.6	Control tradicional.....	22
2.7	Biocontrol.....	23
2.7.1	Hongos nematófagos .....	25
3	ANTECEDENTES.....	29
3.1	<i>Purpureocillium lilacinum</i> .....	29
3.2	<i>Bacillus velezensis</i> .....	30
3.2.1	Fungifree AB®.....	31
4	JUSTIFICACIÓN.....	33
5	HIPÓTESIS.....	35
6	OBJETIVOS.....	36
7	METODOLOGÍA .....	37
7.1	Obtención de cepas fúngicas.....	37

7.2	Identificación de hongos nematófagos .....	38
7.3	Propagación de nematodos en plantas de tomate en condiciones de invernadero. ....	41
7.4	Ensayo de biocontrol planta-hongo .....	43
7.5	Tratamiento de plantas con <i>P. lilacinum</i> MTL01 y <i>B. velezensis</i> 83. ....	44
7.6	Inoculación con nematodos y evaluaciones de la actividad nematocida del consorcio <i>P.lilacinum</i> MTL01- <i>B. velezensis</i> 83 .....	46
7.7	Cuantificación y evaluación de los tratamientos aplicados.....	46
8	RESULTADOS.....	49
8.1	Obtención de cepas fúngicas. ....	49
8.2	Identificación de hongos nematófagos .....	49
8.3	Propagación de nematodos en plantas de tomate en condiciones de invernadero.- .....	52
8.3.1	Actividad de los microorganismos inoculados sobre las plantas de tomate .....	55
9	DISCUSIÓN.....	60
10	CONCLUSIÓN .....	66

11	PERSPECTIVAS .....	67
12	ANEXOS.....	68
13	REFERENCIAS .....	69
	VOTOS APROBATORIOS .....	87

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta con frutos de <i>Solanum lycopersicum</i> .....	6
Figura 2. Fases fenológicas de <i>Solanum Lycopersicum</i> .....	8
Figura 3. Países con mayor cantidad de exportaciones de tomate fresco, en el año 2020 .....	9
Figura 4. Países con mayor valor bruto de exportación de tomate fresco, en el año 2020. ....	10
Figura 5. Morfología de nematodos fitoparásitos machos y hembras.....	14
Figura 6. Distribución de principales especies de nematodos fitoparásitos en México .....	17
Figura 7. Proceso de formación de agallas en las raíces. ....	19
Figura 8. Ciclo de vida de <i>Meloidogyne enterolobii</i> . ....	20
Figura 9. Distribución geográfica de <i>Meloidogyne enterolobii</i> y año de registro.....	21
Figura 10. Mecanismos de control biológico de nematodos fitoparásitos. ....	25
Figura 11. Estructuras de captura de los hongos nematófagos depredadores .....	28
Figura 12. Esquema de los tratamientos aplicados .....	45
Figura 13. Hongos observados sobre la masa de huevos .....	49

Figura 14. DNA genómico de los dos hongos aislados.....	50
Figura 15. Amplificación de la región ITS 1-2 de los dos hongos aislados.....	50
Figura 16. Secuencia obtenida de la cepa MTL01 de <i>P.lilacinum</i> .....	51
Figura 17. Filogenia de <i>P. lilacinum</i> cepa MTL01 .....	52
Figura 18. Agallas diseccionadas de plantas inoculadas con <i>M. enterolobii</i> . .....	53
Figura 19. Secuencia obtenida de los nematodos propagados. ....	53
Figura 20. Porcentaje de identidad de nematodos ( <i>M. enterolobii</i> ) establecidos en condiciones de invernadero.....	54
Figura 21. Filogenia de <i>Meloidogyne enterolobii</i> . ....	54
Figura 22. Efecto de los tratamientos en la formación de agallas en raíces, respecto al grupo control. .....	59

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos, Inoculaciones y Plantas por Experimento .....	43
Tabla 2. Escala de agallamiento (Taylor y Sasser, 1978) .....	47
Tabla 3. Efecto de la inoculación en tomates con los microorganismos de control .....	56
Tabla 4. Efecto de la infestación de nematodos en el crecimiento de plantas de tomate.....	57
Tabla 5. Efecto de la infestación de nematodos en la producción de flores de tomate.....	57
Tabla 6. Formación de agallas en raíces de tomate.....	58

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. BLAST de <i>P.lilacinum</i> MTL01 .....	68
Anexo B. Alineamiento de <i>P. lilacinum</i> MTL01 .....	68

## RESUMEN

Se estima que los nematodos fitoparásitos representan la principal amenaza para los cultivos a nivel mundial, disminuyendo el rendimiento hasta 12% o más al año, lo que se traduce en una pérdida económica estimada en más de \$157 mil millones de dólares (Singh et al., 2015). La infestación de nematodos endoparásitos del género *Meloidogyne* en las raíces de las plantas es fácilmente reconocible debido a la formación de agallas o nudos de aspecto similar a tumores. La secreción de efectores que le permiten al nematodo alimentarse, tienen como consecuencia la generación de células vegetales afectadas, muerte o debilitamiento de las yemas, formación de lesiones, degradación de tejidos y una disminución en la eficiencia de la absorción de agua y nutrientes del suelo (Talavera, 2003; Agrios, 2005). También se favorecen las infecciones secundarias por otros patógenos (Moens et al., 2009). Para abordar este problema, numerosos estudios se han centrado en el uso de bacterias y hongos como métodos de biocontrol, los que poseen la capacidad de atacar y matar a los nematodos en sus diferentes etapas de desarrollo, entre los que destacan bacterias del género *Bacillus* y hongos de los géneros *Paecilomyces*, *Pochonia* y *Purpureocillium*. El presente trabajo se enfocó en evaluar la interacción entre bacterias de la especie *Bacillus velezensis* cepa 83 (Galindo et al., 2013; Balderas, et al., 2020) y la cepa MTL01 del hongo *Purpureocillium lilacinum* como estrategia de biocontrol dirigida contra *Meloidogyne enterolobii*, sobre plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*). El hongo nematófago *P. lilacinum* MTL01 fue aislado de un cultivo de tomate infestado con nematodos de la especie *M. paranaensis*, este fue identificado por medio de técnicas moleculares e inferencia filogenética. Además, se estableció un modelo de propagación de nematodos de *M. enterolobii* en plantas de tomate. Se evaluó el efecto de la inoculación de las cepas fúngica y bacteriana de manera individual y en conjunto sobre plantas de tomate y se

determinó su actividad biocontroladora de nematodos en plantas infestadas con *M. enterolobii*. Posteriormente, se probó que las cepas de *P. lilacinum* MTL01 y *B. velezensis* 83 (ya descrita y comercializada en el producto FungiFree) no tuvieron efectos adversos sobre las plantas de tomate. Se encontró que, de manera individual y en co-inoculación, las cepas fueron efectivas para reducir la población de nematodos en las plantas infestadas. Además, las plantas tratadas con ambos organismos mostraron un incremento en la producción de flores, lo que sugiere que estos microorganismos son efectivos para contrarrestar el daño causado por los nematodos.

**Palabras clave:** control biológico, nematodos, *M. enterolobii*, hongos nematófagos, *P. lilacinum* MTL01, *B. velezensis* 83, cultivos, tomate, agallas, raíces.

# 1 INTRODUCCIÓN

Los nematodos agalladores son patógenos de plantas ampliamente distribuidos en los suelos de cultivo a nivel mundial. La característica principal de la infestación de plantas por nematodos agalladores es la aparición de protuberancias en el sistema radicular en forma de ‘nudos’ o ‘tumores’, que interrumpen el transporte de agua y nutrientes a través de las plantas; como efectos colaterales, también se manifiesta daño foliar, que incluye clorosis y necrosis en las hojas, disminución de tamaño general de la planta y aborto de frutos en algunos casos. Además, se aumenta la susceptibilidad de la planta al ataque de otros patógenos (Agrios, 2005; Bernal, 2010).

Debido a los graves daños que causa en los cultivos y las pérdidas millonarias que genera, los estudios del género *Meloidogyne* destacan como relevantes para la producción de hortalizas a nivel nacional. Las especies con mayor prevalencia en los campos mexicanos son, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla* y *M. enterolobii*, siendo consideradas dentro de los fitopatógenos más nocivos del cultivo del tomate a nivel mundial, ya que dañan severamente el sistema radicular de las plantas (Romero et al., 2019; Martínez-Gallardo et al., 2019).

El tomate rojo o jitomate (*Solanum lycopersicum*) es el principal producto agroalimentario de exportación en el país (SADER, 2022) y actualmente, México ocupa el primer lugar a nivel mundial en exportación de jitomate (FAOSTA, 2020).

Recientemente, se ha determinado que *M. enterolobii* es la especie infectiva predominante y ejerce el mayor impacto sobre los cultivos de jitomate en Sinaloa principalmente, además de en Veracruz, donde afecta a cultivos de jitomate, chile, sandía, guayaba, nopal, frijol, tomate de cáscara,

zanahoria, acelga, entre otros (Alcasio-Rangel et al., 2014; Martínez Gallardo et al., 2015; Villar-Luna et al., 2016; Salinas-Castro et al., 2022)

Existen varios métodos de control para nematodos fitoparásitos. En México, la principal estrategia de control es por aplicación de agroquímicos, seguida de la alternancia de cultivos (cultivos no hospederos, resistentes o tóxicos para nematodos, que evitan que se complete el ciclo reproductivo) (Zepeda-Jazo, 2018; SENASICA, 2019; Zelaya-Molina et al., 2022). También existen métodos de biocontrol, aunque son aplicados en menor medida por la baja efectividad que presentan. Por lo tanto, es importante buscar nuevos métodos de biocontrol o bien, aumentar la eficiencia de los existentes para disminuir los impactos negativos que los agroquímicos causan a la salud y al ambiente.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Agricultura en México

En México, el sector primario representa aproximadamente el 4% del PIB (Producto Interno bruto) de la economía del país, de éste, la agricultura es la fuente principal de ingresos, con el 70% de la actividad económica del total del sector primario (CEDRSSA, 2020)

La diversidad de climas, la riqueza de la tierra y la gran cantidad de espacios destinados al cultivo, han posicionado a México entre los principales países productores y exportadores de alimentos a nivel mundial, doceavo lugar actualmente (<https://www.gob.mx/ejn/articulos/mexico-es-el-12-productor-mundial-de-alimentos>), con una creciente demanda internacional, que augura un aumento en la actividad agrícola nacional en los próximos años, posicionando a nuestro país como una potencia mundial en tema de producción de alimentos.

México es un gigante en materia de exportación alimentaria, genera una derrama económica importante, superior a los 30 mil millones de pesos anualmente. Actualmente, los productos nacionales se exportan a más de 160 países, lo que permite al sector agroalimentario incursionar en nuevos mercados e incrementar sus ventas. De acuerdo con los datos más recientes, México se posiciona en el 1er lugar del ranking mundial en la exportación de productos como aguacate y jitomate (Infoagro, 2018; FAO – FAOSTAT, 2020), y se destaca en las primeras posiciones en temas de exportación de otros productos agrícolas de primera necesidad (SADER, 2020, 2024)

## 2.2 Generalidades del cultivo de Tomate

Los términos 'Tomate' rojo y 'Jitomate' tienen origen en la lengua náhuatl y hacen referencia al fruto de las plantas cuyo nombre científico es *Solanum lycopersicum*.

Es una hortaliza dicotiledónea ampliamente adaptable que pertenece a la familia de las Solanáceas. Se caracteriza por tener flores pequeñas de color amarillo y un fruto que es una baya muy coloreada, variando desde tonos amarillos hasta rojos. La forma del fruto suele ser redonda y achatada, aunque



**Figura 1.** Planta con frutos de *Solanum lycopersicum*  
(SIAP,2017)

puede variar a una más alargada según el tipo de tomate. Además, posee un sabor distintivo ligeramente ácido (SAGARPA, 2017). Es un alimento altamente nutritivo debido a su contenido de vitaminas como la A, B1, B2, B5, vitamina C, así como compuestos antioxidantes como el licopeno y minerales como el calcio, fósforo y sodio (PROFECO,2020) (Figura 1). El tamaño general de una planta de tomate en su etapa más avanzada es de 2.5 metros de altura.

La fenología de un cultivo comprende el estudio de las etapas o eventos que forman el ciclo de vida de las plantas, en el que por medio de métodos estadísticos se miden parámetros que ayudarán

a determinar el crecimiento de la planta, momentos de ocurrencia de las distintas etapas, duración y sincronía con otros eventos del desarrollo. Dentro del ciclo de vida del tomate se identifican 3 etapas o fases fenológicas, que son: inicial, vegetativa y reproductiva (Bolaños Herrera, 2001).

*Fase inicial:* Esta inicia con la germinación de la semilla, caracterizada por el rápido aumento en la materia seca. La semilla requiere de oscuridad para germinar y una temperatura de 15-25 °C. Durante esta etapa, la planta invierte su energía en la formación de nuevos tejidos de absorción y la fotosíntesis. Su duración es de aproximadamente 45 días.

*Fase vegetativa:* Tiene una duración aproximada de 25 a 30 días, el aumento de materia seca es lento, con requerimientos de luz, temperatura y agua son similares a los de la fase inicial, pero mayores cantidades de nutrientes, esto para satisfacer las necesidades de las hojas y ramas en crecimiento y expansión. Esta etapa termina con la floración.

*Fase reproductiva:* Con una prolongación de 30-40 días, se inicia a partir de la fructificación y se caracteriza porque el crecimiento de la planta se detiene y los frutos extraen los nutrientes

necesarios de la planta para su crecimiento y maduración. Es necesario que durante esta fase la temperatura nocturna sea menor que la diurna (Bolaños Herrera, 2001)(Figura 2).



**Figura 2.** Fases fenológicas de *Solanum Lycopersicum*

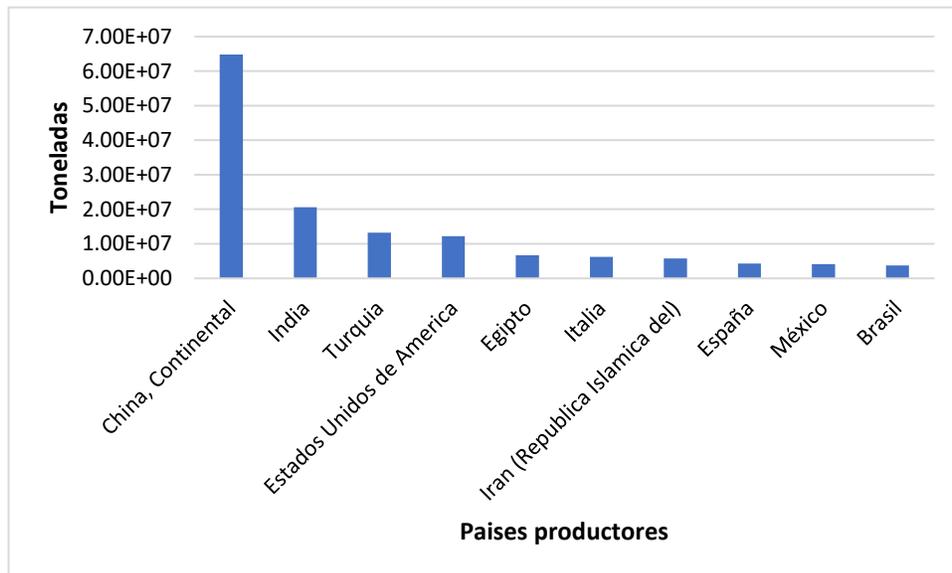
Modificado de <https://infoagronomo.net/fenologia-del-tomate/>

### 2.2.1 Importancia

El tomate es un alimento común y de gran consumo en todo el mundo, existen más de 10,000 tipos de tomates, de diferentes formas y colores; sus distintas propiedades y características hacen posible el poder cultivarlos durante cualquier época del año (FAO, 2022).

Los tomates son una fuente de ingresos clave para mucha gente al rededor del mundo, de acuerdo con información de la Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en el año 2020 China Continental se posicionaba como el mayor productor de tomates a nivel mundial con un total de 64,768,158 toneladas y un valor de 30,837,190 US \$, seguido de

India y Turquía. Durante ese año México se posicionó en el noveno lugar, con una cantidad de producción de 4,137,342 toneladas y un valor bruto de 1,969,857 US \$ (Figura 3).

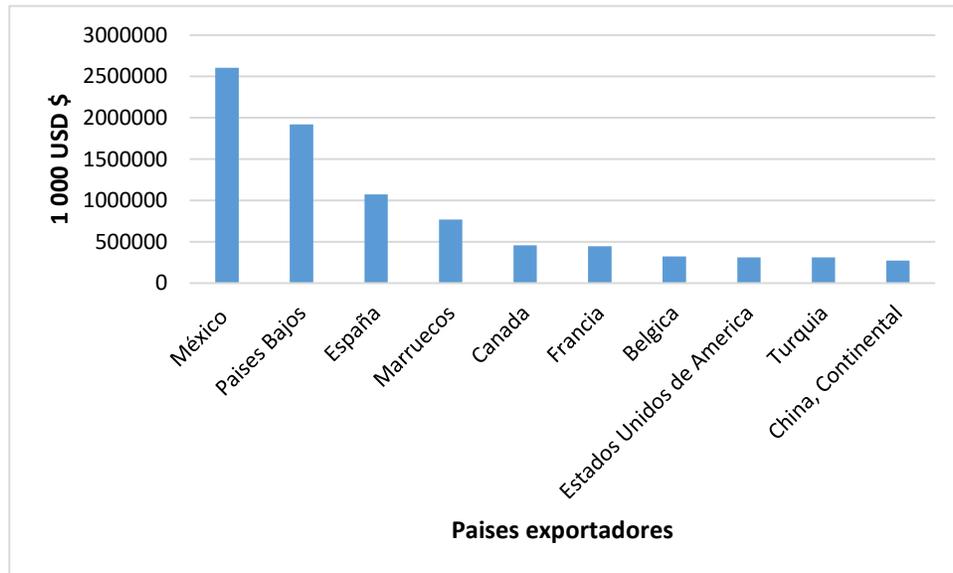


**Figura 3.** Países con mayor cantidad de exportaciones de tomate fresco, en el año 2020  
Modificado de FAO - FAOSTAT

En la Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) del 2019, el tomate se encontraba entre los 29 productos agropecuarios con representatividad nacional y en los principales estados productores. Actualmente, se encuentra dentro de los 5 productos más exportados de México.

Durante el año 2017, México ocupó el primer sitio como proveedor de tomate a nivel mundial, con 41,045 hectáreas sembradas y un 25.11%, de participación total de exportaciones mundiales en el mercado internacional, se registró un crecimiento de 54.11% en la producción y un 77.87% en las exportaciones de producto fresco, comparados con el periodo comprendido entre el 2003 y el 2016.

Para el año 2020, aun cuando México se encontraba en el noveno lugar de producción de tomate fresco, continuaba ocupando el primer lugar en exportación con una cantidad total de 1,826,715 toneladas, con valor bruto de exportación de 2,606,104 US\$ (FAO, 2022)( Figura 4).



**Figura 4.** Países con mayor valor bruto de exportación de tomate fresco, en el año 2020.  
Modificado de FAO- FAOSTAT.

El principal importador para este producto es Estados Unidos y también hay lazos comerciales con Canadá, Japón, Costa Rica, Cuba, Emiratos Árabes Unidos y Francia (SADER,2020).

El estado que destaca como líder productor de tomate en México es Sinaloa, que aporta más de un millón de toneladas al año, seguido por San Luis Potosí, Michoacán, Zacatecas y Jalisco (PROFECO, 2020).

### **2.3 Parásitos de cultivos**

Los parásitos son un gran problema en los cultivos agrícolas, ya que no solo reducen la producción, también reducen la calidad de los cultivos, de acuerdo con la FAO la producción agrícola tiene una

pérdida de 40% debido a las plagas (Agroasemex, 2019). En México el porcentaje de producción con pérdidas de cosecha por factores bióticos y abióticos es alta, en 2017 el 44.2% de las unidades de producción reportaron pérdidas por causas biológicas como enfermedades y plagas. (ENA,2017).

Los parásitos representan uno de los principales factores bióticos responsables de la pérdida de producción en los cultivos. La FAO en 1995 define una plaga como “Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales” y que esté presente más de un organismo. Sin embargo, también podemos definir a una plaga como “Toda aquella población de insectos que ataca a los cultivos establecidos por los seres humanos y cuyo nivel poblacional sube hasta producir una reducción o anulación del rendimiento del cultivo y pérdidas económicas” (Jiménez M., 2009).

### **2.3.1 Tipos de parásitos**

El tomate es un cultivo vulnerable a distintos tipos de parásitos, tanto en sistemas de cultivo a cielo abierto como en agricultura protegida en invernadero.

Entre los principales parásitos que dañan severamente al cultivo de tomate podemos encontrar insectos, hongos, bacterias, viroides, micoplasma, nematodos, arácnidos, etc. Siendo los géneros y especies más representativos de cada grupo los aquí enlistados:

- Hongos aéreos: *Alternaria tomatophila*, *Botrytis cinérea*, *Didymella lycopersici*
- Hongos telúricos: *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium spp.*

- Hongos vasculares: *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*
- Bacterias aéreas: *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas spp.*
- Bacterias endófitas: *Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas corrugata*
- Virus: *Pepino Mosaic virus* (PepMV), *Tabacco Mosaic virus* (TMV), *Tomato Mosaic virus* (ToMV). También encontramos los virus transmitidos por pulgones, aleuródidos, trips.
- Nematodos: *Globodera spp*, *Meloidogyne spp*, *Pratylenchus spp*, etc. (Blancard et al., 2011).

## 2.4 Nematodos

Los nematodos son organismos pertenecientes al reino animal. Aunque su aspecto vermiforme los hace parecer gusanos, taxonómicamente son distintos de los gusanos verdaderos (Agrios, 2005). La palabra nematodo proviene del griego *nema* “hilo” y *eidés* “con aspecto de”. Estos organismos son definidos como animales redondos, filiformes, con cuerpo sin segmentos, generalmente transparentes, cubiertos por una cutícula hialina marcada por estrías (Guzmán et al., 2012).

Para poder desplazarse, estos organismos necesitan de películas de agua libre sobre las partículas del suelo. La falta de humedad en el suelo restringe su movimiento, mientras que las lluvias intensas o riego excesivo pueden causar inundaciones y escasez de oxígeno en el suelo, lo que afectan la supervivencia de los nematodos (Bernal, 2010).

Las tasas de pérdida de cosecha atribuidas a estos organismos en la producción agrícola mundial oscilan entre el 11% y el 14% (según el ISSN 0568-3076 Agrón. 20(1): 38 - 50, 2012), lo que

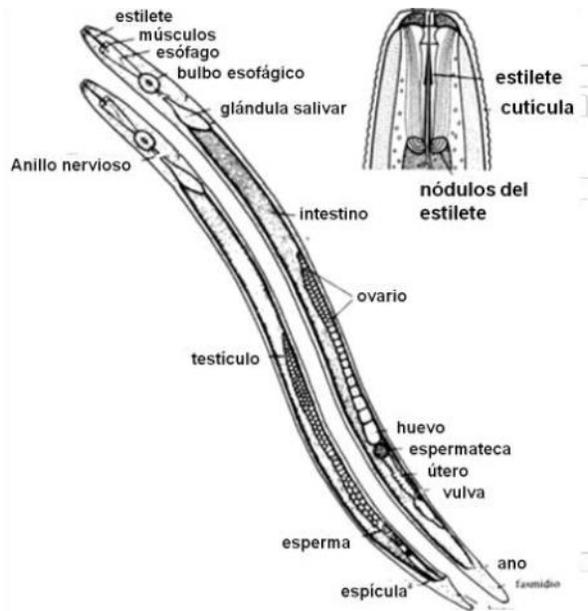
conlleva pérdidas económicas anuales de alrededor de 100 billones de dólares. Estos números subrayan la creciente urgencia de implementar medidas de control efectivas, como se destacó en el VI Congreso Internacional de Nematología en Sudáfrica (Monheim, 2014).

#### **2.4.1 Nematodos fitoparásitos**

Estos nematodos miden entre 300-1000  $\mu\text{m}$ , son tan pequeños que no se observan a simple vista, sus cuerpos son lisos, su cuerpo está cubierto por una cutícula que cambiará de acuerdo con el cambio de las etapas larvarias, no cuenta con segmentos, patas o apéndices, pero en el caso de algunas especies cuando llegan a su etapa adulta adquieren una forma redonda, también conocida como forma de pera. La respiración y circulación se realiza por medio de un líquido contenido en la cavidad corporal (Agrios, 2005).

Las hembras tienen un aparato reproductor compuesto por uno o dos ovarios, un oviducto, útero, vagina, vulva y una o dos espermatecas; el aparato reproductor de los machos está formado por un testículo, una vesícula seminal, alas caudales, el gubernáculo y espículas copulatorias sobresalientes (Agrios, 2005; Talavera, 2003).

Su sistema digestivo está compuesto por un tubo digestivo alargado que inicia en la boca, donde se encuentra un estilete hueco o lanza, pasan por el esófago, intestino, recto y termina en el ano, por último, una teca que está generalmente rodeada por seis labios (Agrios, 2005).



**Figura 5.** Morfología de nematodos fitoparásitos machos y hembras.  
(Agrios, 2005)

## 2.4.2 Alimentación

El estilete es usado para perforar las células vegetales y de esta manera infestar a las plantas, una vez que el estilete entra en la célula vegetal se segregan enzimas que ayudarán a digerir parcialmente el contenido celular para posteriormente ingerirse.

Los nematodos parásitos de acuerdo con sus hábitos de alimentación se clasifican en tres categorías (Bernal, 2010):

**Ectoparásitos:** Son aquellos que se quedan en el suelo, penetran el tejido del hospedero con el estilete, que suele ser más largo que el de los endoparásitos. Algunos incluso llegan a insertar parte de su cabeza. Se alimentan solo de las células superficiales de las raíces, y en ocasiones de células corticales cercanas al tejido vascular.

**Semiendoparásitos:** Estos penetran a las células con la cabeza y la parte anterior del cuerpo en el momento de la alimentación.

**Endoparásitos:** Como su nombre lo indica, penetran el tejido vegetal completamente, se alimentan, crecen, se desarrollan y ponen huevos dentro de las plantas.

Estos organismos se subdividen según su movilidad en sedentarios o migratorios. En el caso de los nematodos migratorios, se alimentan de las células vegetales sin adherirse a su superficie; por el contrario, los nematodos sedentarios se adhieren a una sola célula (Agrios, 2005; Bernal,2010).

### 2.4.3 Daños en cultivos

Los nematodos fitoparásitos son la plaga que más daños causa a nivel mundial. Los géneros y especies de nematodos fitoparásitos que encabezan la lista a nivel mundial por su importancia científica y económica son:

1. Nematodos agalladores (*Meloidogyne*).
2. Nematodos del quiste (*Heterodera* y *Globodera*).
3. Nematodos de lesión de raíces (*Pratylenchus*).
4. Nematodo barrenador (*Radopholus similis*).
5. *Ditylenchus dipsaci*.
6. Nematodo del marchitamiento del pino (*Bursaphelenchus xylophilus*).
7. Nematodo reniforme (*Rotylenchulus reniformis*).
8. Nematodo vector de virus (*Xiphinema index*).

9. *Nacobbus aberrans*.

10. *Aphelenchoides besseyi* (Jones et al., 2013).

Las plantas presentan síntomas tanto en las raíces como en los órganos aéreos, aunque en estos últimos no son característicos y pueden llegar a confundirse con otro tipo de enfermedades. Estos síntomas incluyen crecimiento reducido, deficiencias de nutrientes como clorosis foliar, deformación de hojas, marchitamiento excesivo en condiciones cálidas o secas, menor producción y una calidad inferior en los productos (Agrios, 2005; Bernal, 2010).

Los síntomas de las raíces son fácilmente identificables, ya que algunos forman estructuras conocidas como nudos o agallas, el tamaño de estas estructuras depende del número de hembras que se alberguen ahí. También se puede observar ramificación excesiva, puntas dañadas o la pudrición completa de la raíz. La mayor parte de estos daños son causados por la secreción de la saliva que el nematodo inyecta en la planta cuando se alimenta de ella, este proceso provoca que las células vegetales afectadas reaccionen causando la muerte o debilitamiento de las yemas o puntas de la raíz, formación de lesiones y degradación de tejidos (Talavera, 2003; Agrios, 2005).

### **2.5 *Meloidogyne sp.***

Los miembros del género *Meloidogyne* son parásitos obligados, con hábitos alimenticios endoparásitos sedentarios. Esto significa que las hembras juveniles ingresan al tejido de la planta (células vivas) y, una vez que encuentran un sitio adecuado para alimentarse, inducen la formación de un sistema trófico de células abrigo llamadas células gigantes, que reasignan los metabolitos de la planta. Una vez establecido el sistema de alimentación, las hembras se vuelven inmóviles y

comienzan a depositar sus huevos. Con un sistema de alimentación establecido, se vuelven inmóviles y comienzan a depositar sus huevos (Guzmán et al., 2012).

Se han descrito más de 100 especies dentro del género *Meloidogyne* (Elling, 2013), son nematodos polífagos, que pueden infectar a más de 3,000 especies de plantas, entre las que se incluyen hortalizas, árboles frutales y flores ornamentales (Abad et al., 2003). Tienen una amplia distribución a nivel mundial.

En el año 2018, Cid del Prado y colaboradores, publicaron un mapa que muestra la distribución de los principales nematodos fitoparásitos en México, en donde 28 de los 32 estados tienen registro de *Meloidogyne* (Figura 6). Solo un año más tarde, en marzo del 2019, Romero y colaboradores publicaron la identificación de *Meloidogyne* en 16 campos evaluados en Baja California Sur. Con esto, se sabe que el género *Meloidogyne* está representado en más del 90% del territorio nacional.



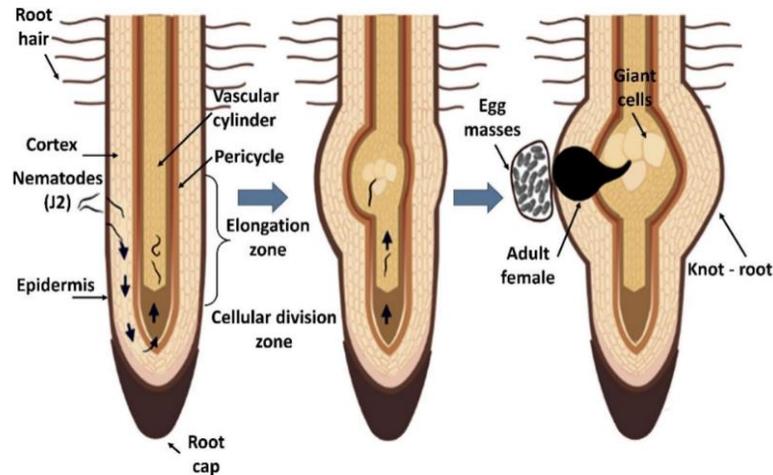
**Figura 6.** Distribución de principales especies de nematodos fitoparásitos en México (Cid del Prado-Vera et al., 2018).

### **2.5.1 Ciclo de vida de *Meloidogyne sp.***

El ciclo de vida se inicia con la puesta de masas de huevos. Las masas de huevos son una aglomeración de glicoproteínas que se produce en las glándulas rectales de la hembra. Estas masas se encargan de proteger a los huevos de condiciones ambientales adversas y depredación, así como de mantenerlos juntos. Generalmente se colocan en la parte superficial de las agallas, pero también pueden mantenerse en su interior. Estas estructuras presentan diferente coloración según su edad. Al principio son de color blanco, cristalino, con una consistencia pegajosa; a medida que maduran adquieren firmeza y un tono oscuro amarillo-marrón (Moens et al., 2009).

Dentro del huevo, la embriogénesis continúa hasta alcanzar el primer estadio juvenil (J1), donde el embrión permanece hasta que las condiciones ambientales sean óptimas para la eclosión del siguiente estadio, conocido como juveniles 2 (J2). El individuo J2 permanece brevemente en el suelo hasta encontrar una raíz. Este proceso debe ocurrir lo más rápido posible, ya que en este estadio no se alimentan y, por lo tanto, son vulnerables a ataques de organismos nematófagos (Moens et al., 2009; Philbrick et al., 2020).

Una vez que encuentra una raíz, los nematodos causan daño físico con su estilete y segregan enzimas celulolíticas y pectolíticas. Luego, penetran el córtex de la planta y viajan hacia la cofia para posteriormente ascender por el cilindro vascular (Figura 7), donde se establecen. Una vez que las células gigantes comienzan a diferenciarse, provocan la formación de agallas, la hembra se vuelve sedentaria. (Moens et al., 2009; Philbrick et al., 2020).



**Figura 7.** Proceso de formación de agallas en las raíces.  
(Tapia-Vázquez et al., 2022).

Después de aproximadamente 14 días, la hembra aumentará de tamaño hasta adquirir una forma de salchicha correspondiente al estadio juvenil 3 (J3). Poco después, muda nuevamente la cubierta serosa que lo recubre para ingresar al estadio juvenil 4 (J4). Estas últimas dos etapas duran entre 4 a 6 días. En el estadio J4 la hembra adulta adquiere forma de pera y coloración blanca. Una vez adulta, comenzará a reproducirse por partenogénesis mitótica obligada, generando una masa de huevos con hasta 600 huevos cada una. En condiciones favorables el ciclo se completa en un aproximado de 30-35 días (Moens et al., 2009; Philbrick et al., 2020) (Figura 8).

Los machos, en muchas especies de *Meloidogyne*, solo se forman en condiciones desfavorables. (Philbrick et al., 2020). Son vermiformes, abandonan el sistema radicular, no se alimentan una vez que son adultos y no son necesarios para la reproducción.

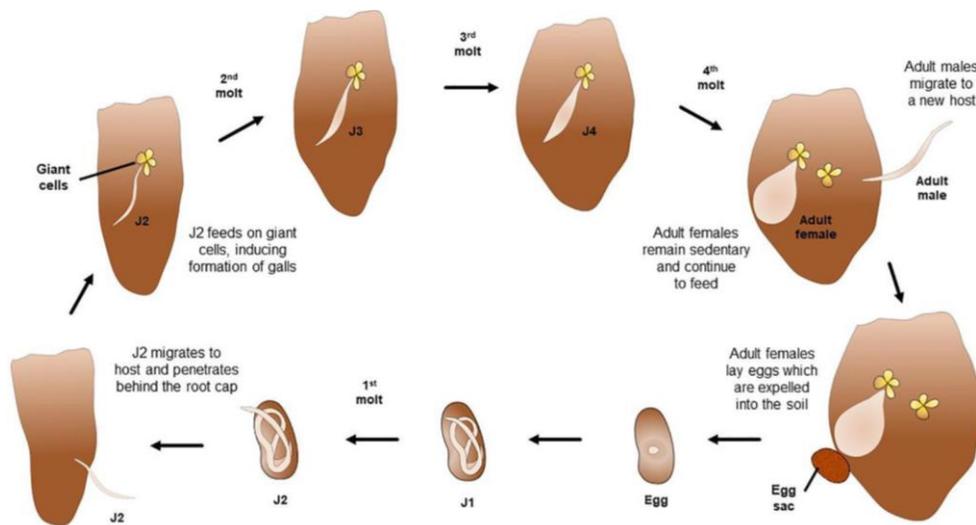


Figura 8. Ciclo de vida de *Meloidogyne enterolobii*.  
(Philbrick et al., 2020).

### 2.5.2 *Meloidogyne enterolobii*

Hace un par de décadas, *M. incognita* era considerada la especie con mayor prevalencia y patogenicidad en los cultivos, seguida de *M. arenaria* (Trudgill y Blok, 2001); en el 2013 Elling enlistó como los principales patógenos a *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica*, en esta lista *M. enterolobii* se clasificó como una especie de menor riesgo, en comparación con las antes mencionadas. Sin embargo, desde el 2009 ya se mencionaba su amplia distribución geográfica, rango de hospederos y su capacidad para superar la resistencia de plantas de cultivo importantes, como los genotipos de tomate, pimiento y otros cultivos agronómicos que portan el gen Mi-1 y Mi-3 que les confiere resistencia contra especies como *M. javanica*, *M. arenaria* y *M. incognita* (Moens et al., 2009).

En 2001, Cid del Prado y Vera llevaron a cabo un estudio sobre la distribución de *Meloidogyne* en 56 poblaciones muestreadas en 18 estados de México. Reportaron que el 60.7% de las especies

encontradas correspondían a *M. incognita*, 21.4% a *M. arenaria*, 12.5% a *M. javanica* y 5.3% a *M. hapla*.

En 2012, *M. enterolobii* fue registrado por primera vez en México (Figura 9), añadiéndose a la lista de especies comunes e importantes junto con las cuatro identificadas en 2001, además de *M. chitwoodi* y *M. paranaensis*.

Para 2019 se reportó la distribución e incidencia de *M. enterolobii* en cuatro zonas de cultivos de tomate en Sinaloa, identificando a *M. enterolobii* en todas las zonas de producción muestreadas, con un 88% de incidencia, mientras que *M. incognita* y *M. arenaria* se encontraron solo en algunas zonas con un 10% y 2% de representación, respectivamente.



**Figura 9.** Distribución geográfica de *Meloidogyne enterolobii* y año de registro. (Philbrick et al., 2020).

En el mismo año se reportó a *M. enterolobii* como especie prevaleciente, con incidencia del 75% en varias zonas agrícolas del estado de Baja California Sur, seguido de *M. incognita*, con una incidencia del 25% (Romero et al., 2019; Martínez-Gallardo et al., 2019).

Actualmente, se estima que solamente *M. enterolobii* causa una pérdida de cultivos del 65% más que otras especies de *Meloidogyne* (Philbrick et al., 2020).

## **2.6 Control tradicional**

Entre las estrategias tradicionales del control de nematodos se encuentran la aplicación de nematicidas químico-sintéticos, el tratamiento del suelo de cultivo por métodos físicos como la solarización (recubrimiento del suelo con plástico y exposición al sol con el propósito de incrementar la temperatura del suelo) o métodos menos agresivos con el ambiente como la alternancia de cultivos y el biocontrol.

Los nematicidas químicos son ampliamente utilizados en cultivos de alto valor económico. Los podemos clasificar por su modo de acción como fumigantes y no fumigantes

Los primeros, entre los que se encuentran los isotiocianatos y alifáticos halogenados, son preparaciones generalmente líquidas que se van a vaporizar una vez que sean aplicadas, estas moléculas de vapor se esparcen por el suelo en poca profundidad y se descomponen en productos que atacan a los nematodos cuando se exponen al agua (Andrés, 2002; Ebone et al., 2019).

Entre los no fumigantes encontramos a los organofosforados, abamectinas, flouoroalquilos, carbamatos, estos tienen menos persistencia como moléculas tóxicas, tienen acción sistemática en el nematodo y son efectivos en dosis bajas, tienen poca toxicidad en plantas, pero son altamente tóxicos para mamíferos e insectos (Andrés, 2002; Ebone et al., 2019).

Otra clasificación de los nematocidas es por su mecanismo de acción, estos pueden ser neurotóxicos (organofosforados, abamectinas, carbamatos), afectar al sistema respiratorio (isotiocianatos, alifáticos, halogenados) o al metabolismo de esteroides (flouroalquilos), de los nematodos (Ebene et al., 2019).

Los plaguicidas son un problema para la salud pública y ambiental, acciones como, la aplicación directa de estos a los cultivos agrícolas, el lavado inadecuado de tanques y contenedores, filtraciones en los depósitos de almacenamiento, residuos descargados y dispuestos en el suelo, derrames accidentales y el uso inadecuado tiene grandes consecuencias, como la contaminación del agua, suelo y aire.

Los efectos en la salud humana por la falta de medidas de seguridad en el manejo y uso indiscriminado de plaguicidas van desde dolores de cabeza, estómago, vómito, diarrea, salivación y fatiga por una baja exposición, hasta espasmos musculares, pérdida de coordinación, paros respiratorios, convulsiones, parálisis, tumores, cáncer, efectos neurológicos, etc., en caso de una exposición prolongada. Esto también va a depender del tipo de plaguicida al que se es expuesto y como entra en nuestro organismo (oral, cutáneo, inhalado) (del Puerto Rodríguez et al., 2014; Jiménez et al., 2016).

## **2.7 Biocontrol**

Biocontrol o control biológico es definido por Van Driesche y colaboradores. (2007), como el control que involucra el uso, de alguna manera, de poblaciones de enemigos naturales para la reducción de parásitos a densidades menores, de manera temporal o permanente. Las poblaciones

de estos enemigos naturales pueden manipularse para causar un cambio permanente en las redes alimenticias que rodean a la plaga. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la definición puede variar entre autores. Otra definición se refiere al empleo de organismos vivos como agentes de control de plagas, dentro de estos se incluyen a los virus, pero se excluyen a los genes o fragmentos de genes y metabolitos obtenidos sin los organismos que los producen (Eilenberg et al., 2001).

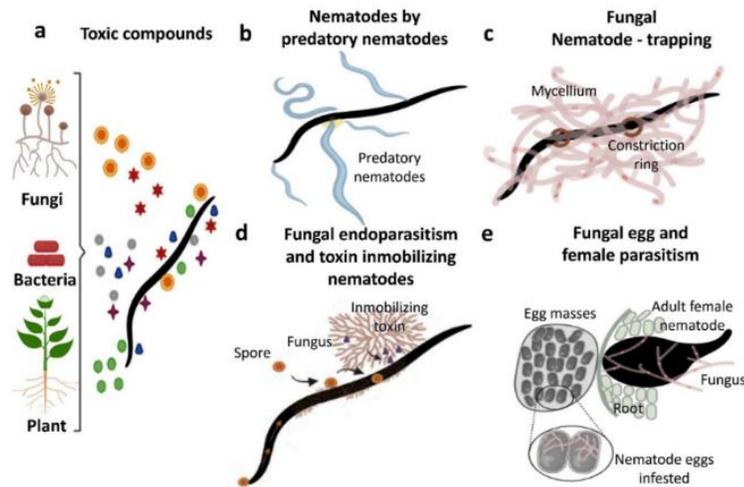
Los nematodos cuentan con varios enemigos naturales; dada la importancia fitosanitaria de *Meloidogyne* la comunidad científica se dio a la tarea de conocer y reportar a varios de estos, con la intención de que se continúen elaborando mecanismos de biocontrol que puedan sustituir gradualmente la utilización de plaguicidas químicos. Entre los enemigos naturales de *Meloidogyne* encontramos virus, plantas, protozoarios, algunos otros nematodos, así como bacterias y hongos (Eilenberg et al. 2001; Tapia-Vazquez *et al.*, 2021)

**Bacterias:** Entre ellas se encuentran las bacterias promotoras del crecimiento (PGPB), las cuales pueden ejercer una inhibición sobre los nematodos, ya sea de manera directa o indirecta. Entre los mecanismos directos está la síntesis de enzimas líticas, proteínas Cry, compuestos volátiles , hiperparasitismo bacteriano, entre otros. Los mecanismos indirectos incluyen la competencia de nutrientes, la inducción de resistencia sistémica de la planta, o la liberación de moléculas que modulan el comportamiento de los nematodos (alimentación, reconocimiento, proporción de sexos) (Gamalero & Glick , 2020).

**Nematodos:** Existen cuatro tipos de nematodos depredadores, cada uno con un mecanismo de depredación distinto. Por ejemplo, algunos nematodos depredadores inyectan toxinas y absorben

el contenido de la presa, mientras que otros utilizan una cavidad bucal con dientes para depredar. También están aquellos que perforan a la presa para luego consumir su contenido corporal (Carballo & Guharay, 2004).

**Hongos:** Los hongos antagonistas han demostrado tener un gran potencial nematicida. Generalmente se encuentran en la rizosfera y utilizan sus esporas o micelio para infectar a los nematodos. El sustrato en el que se encuentran es variado y son capaces de sobrevivir en condiciones climáticas o nutricionales extremas, sin embargo, su abundancia varía de acuerdo con las condiciones del suelo en las que se encuentren, con la cantidad de materia orgánica, temperatura y contenido de agua (Sánchez et al., 2016; Muñoz et al., 2021).



**Figura 10.** Mecanismos de control biológico de nematodos fitoparásitos.

(Tapia-Vázquez, et al. 2022).

### 2.7.1 Hongos nematófagos

Los hongos nematófagos se encargan de capturar, matar y consumir nematodos. Son frecuentemente encontrados en el suelo, moho de hojas, madera podrida, estiércol, materia vegetal

en descomposición y en la rizosfera cohabitando con nematodos fitoparásitos. Su presencia se puede ver influenciada por la humedad, temperatura del suelo (óptima 10-30 °C), aumento de las precipitaciones, en el verano la humedad por las lluvias y una buena temperatura propician un buen crecimiento de los hongos (Su , Hao, Mo, & Zhang, 2007).

Existen más de 200 especies que son hongos depredadores de nematodos, la mayoría pertenecen a los denominados hongos imperfectos (*Deuteromycetes*) (Sagües et al., 2011) y algunos de estos son especie-específicos de nematodos. Son saprófitos del suelo o parásitos facultativos, por lo que su interacción con los nematodos es oportunista (Carballo & Guharay, 2004).

Una forma de clasificar a los hongos nematófagos es por la forma en la que utilizan a los nematodos como un recurso nutritivo. Son divididos en tres grupos: endoparásitos, ovicidas y depredadores. Los endoparásitos únicamente afectan a los estadios móviles cuando las esporas de los hongos son ingeridas, adheridas o perforan la cutícula de los nematodos; posteriormente, sus hifas crecen exclusivamente dentro del nematodo y requieren agua para su difusión. Los ovicidas penetran con sus hifas la pared de glicoproteínas que cubre las masas de huevos para posteriormente crecer dentro de éstas. Por último, están los depredadores que forman un sistema micelial extensivo que se usará como trampa para retener a los nematodos (Sagües et al., 2011). Otro mecanismo de acción es la producción de toxinas, las hifas contienen una gota de toxina que, al contacto con el nematodo lo inmoviliza, las hifas crecen en dirección a este para adentrarse en el y digerirlo (Su , Hao, Mo, & Zhang, 2007;Sagües et al., 2011).

Se presentan distintos mecanismos de depredación, la más común es la producción de sustancias pegajosas, pero también pueden depredar por medio de trampas mecánicas, formadas con el

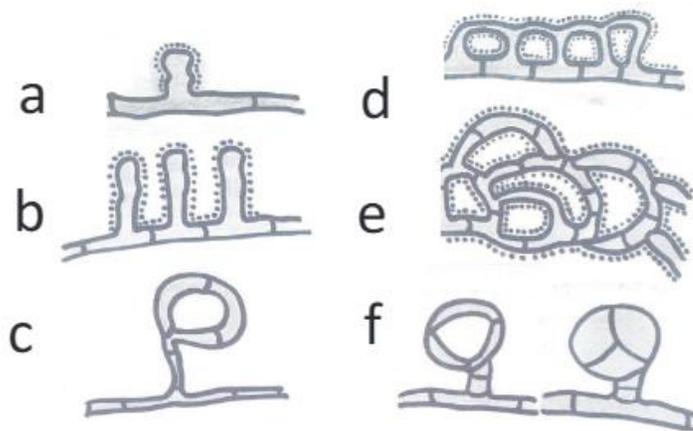
micelio y algunos otros no activamente parásitos pero que crecen dentro de los nematodos, generalmente cuentan con esporas adhesivas que son recogidas accidentalmente por los nematodos (Duddington, 1955).

Algunas de las estructuras principales formadas por hongos nematófagos para poder atrapar a los nematodos se enlistan a continuación.

- a. Botones adhesivos: cuando el micelio entra en contacto con un nematodo segrega un fluido pegajoso que retiene al nematodo, cuando deja de moverse, la hifa se hincha en donde tiene contacto con el nematodo, para después penetrar en la cutícula, comienzan a ramificarse hasta que invaden todo el cadáver y absorben su contenido corporal.
- b. Ramas adhesivas: son estructuras en forma de columnas que se fijan a una rama del micelio, estas columnas son adhesivas y los nematodos quedarán capturados en ellas.
- c. Anillos no contráctiles: tres células curvas se unen para formar el anillo, estos están anclados a una rama de micelio, el nemátodo quedará atorado en los anillos cuándo intente pasar por ellos; un ejemplo de estos hongos es, *Dactylaria candida*.
- d. Redes adhesivas escalariformes: son perillas subesferas ancladas a una rama de micelio, los nematodos se adhieren a las perillas; entre estos *Dactylella ellipospora* y *D. mammillata*.
- e. Redes adhesivas: el micelio forma ramas cortas laterales que se enroscan y anastomosan con otras ramas o las hifas progenitoras, forman pequeños aros que secretan una sustancia pegajosa en donde los nematodos quedaran atrapados; como ejemplo de ello esta *Artrhobotrys oligospora*, *Dactylella reticulata* y *Dactilaria thaumasia*.

- f. Anillos contráctiles: al igual que los anillos no contráctiles, están formados por tres células curvas unidas a una rama de micelio, una vez que el nemátodo ingresa al anillo y hace fricción con las células internas, estas comenzarán a hincharse hasta alcanzar el doble de su diámetro anterior y se acortará un poco el anillo, ejerciendo una constricción fuerte al nemátodo evitando su movilidad; ejemplos, *Arthrobotrys dactyloides*, *Dactylella benbicides*, *Dactylaria gracilis* y *Trichothecium polybrochum* (Duddington, 1955; Mendoza et al., 2009).

En todos los métodos, una vez que el nematodo deja de ejercer resistencia, los hongos van a penetrar la cutícula, para que las hifas comiencen a crecer y absorber su contenido (Duddington, 1955). Las sustancias adhesivas que se segregan están compuestas por residuos de azúcares, ácido urónico y proteínas, posterior segregan enzimas hidrolíticas, colagenasas, proteasas y quitinasas que ayudarán a romper masas de huevos (Yang et al., 2007; Swe et al., 2011).



**Figura 11.** Estructuras de captura de los hongos nematófagos depredadores  
a) Botones adhesivos; b) Ramas adhesivas; c) Anillos no contráctiles; d) Redes adhesivas  
escalariformes; e) Redes adhesivas; f) anillos contráctiles

## 3 ANTECEDENTES

### 3.1 *Purpureocillium lilacinum*

*Purpureocillium lilacinum* (anteriormente llamado *Paecilomyces lilacinus*) se describió hace más de un siglo (Luangsa-ard et al., 2011). Es un hongo de crecimiento rápido, con una textura aterciopelada-algodonosa, el color puede variar de blanco con tonalidades violetas a uno completamente violeta (Contreras et al., 2019).

Este hongo presenta una alta incidencia en regiones subtropicales, especialmente en suelos que albergan raíces afectadas por la formación de agallas causadas por el género *Meloidogyne spp.* Se sabe que ataca principalmente a las hembras y los huevos, actuando como endoparásito y ovicida (Reza & Zare, 2012). Además, se ha informado sobre su efecto nematocida en nematodos de vida libre y asociados a las raíces de cultivos de papa, como *Cruz nema tripartitum*, *Eucephalobus oxyuroides* y *Steinernema sp* (Carrión y Desgarenes, 2012).

Aminuzzaman y colaboradores (2012), llevaron a cabo ensayos *in vitro* para evaluar la tasa de reducción de la densidad poblacional de nematodos (*Meloidogyne spp*) mediante el tratamiento con *P. lilacinum*. Observaron un 98% de parasitismo de huevos y una reducción del 81% en la eclosión, además de una efectividad del 52% sobre los juveniles. Resultados similares fueron obtenidos por Silva y sus colegas en 2017, quienes evaluaron la efectividad de *P. lilacinum* en la supresión específica de *M. enterolobii*, logrando una eficacia del 69-73%.

Durante una estancia de investigación en el Instituto de Biotecnología de la UNAM, logré aislar a un hongo de la especie *P. lilacinum*, identificado como la cepa MTL01, que muestra un alto potencial nematocida de acuerdo con las evaluaciones que realizamos *in vitro*. Este descubrimiento podría tener aplicaciones prometedoras en el desarrollo de nuevas formulaciones para la industria agrícola. Aunque existen varias cepas de *P. lilacinum* presentes en formulaciones comerciales destinadas a combatir nematodos del género *Meloidogyne*, principalmente *M. incognita*, la evaluación de múltiples cepas fúngicas es crucial debido a su diversidad funcional, adaptabilidad ambiental y complejas interacciones. Además, esta práctica facilita la selección de cepas con características genéticas deseables y resistencia a estresores ambientales, siendo esencial para aplicaciones agrícolas, ambientales e industriales específicas. Este descubrimiento subraya la importancia continua de la búsqueda de nuevas cepas microbianas con potencial agrícola y ambiental.

### **3.2 *Bacillus velezensis***

*Bacillus velezensis* es una bacteria promotora del crecimiento de las plantas (PGPB) que forma esporas resistentes a la deshidratación y el calor (Maughan & Van Der Auwera, 2011). Fue aislada e identificada por primera vez en 2005 por Ruiz-García y colaboradores en España, quienes la encontraron en el río Vélez de la provincia de Málaga. Estas bacterias son bacilos Gram positivos que pueden encontrarse individualmente, en pares o en cadenas cortas, forman endosporas elipsoidales, y se desplazan mediante flagelos peritricos.

Al igual que otros *Bacillus*, *B. velezensis* produce una amplia gama de metabolitos secundarios, como sideróforos, bacteriocinas y compuestos orgánicos volátiles (COV), que pueden controlar e

inhibir el crecimiento de diversos patógenos. Estos metabolitos pueden inducir la resistencia sistémica en las plantas, ayudándolas a defenderse de ataques virulentos. Además, su capacidad para formar endosporas resistentes al calor y la desecación las hace ideales para la formulación de polvos secos estables utilizados en la agricultura (Fazle Rabbee et al., 2019).

Uno de los informes más recientes sobre la actividad de *B. velezensis* es la cepa FKM10, evaluada por Wang y colaboradores en 2020; demostraron que esta cepa puede inhibir algunos patógenos fúngicos de las plantas, aumentar la producción de sideróforos, promover la absorción de nutrientes y mejorar la fertilidad y diversidad microbiana del suelo, lo que contribuye a la salud del suelo.

En pruebas con plantas de pepino, Tian y colaboradores (2022) observaron la eficacia de la cepa Bv-25 de *B. velezensis*. Esta cepa demostró una gran actividad en la inhibición de la eclosión de huevos de *Meloidogyne incognita* y una actividad nematocida en los nematodos juveniles (J2). En pruebas *in vitro*, mostró una reducción del 98% en la tasa de infección de los nematodos J2, una reducción del 73.8% en la formación de agallas en las raíces de plantas cultivadas en macetas, y una reducción del 61.6% en el agallamiento en un experimento de campo.

### **3.2.1 Fungifree AB®**

El uso de estos microorganismos como controladores de nemátodos o de otras plagas, se ha llevado a la generación de productos agrícolas. Por ejemplo, en el Instituto de Biotecnología de la UNAM se desarrolló un producto a partir de *B. velezensis*, conocido como Fungifree AB®, inicialmente dirigido a combatir la antracnosis, una enfermedad provocada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* en cultivos de mango. Con el tiempo, su uso se ha extendido para el control de tres

enfermedades fúngicas en 23 cultivos distintos, que incluyen mango, aguacate, papaya, lima, toronja, limonero, naranjo, mandarino, fresa, zarzamora, arándano, frambuesa, berenjena, chile, chile bell, jitomate, tomate de cáscara, calabaza, calabacita, chayote, melón, pepino y sandía (Galindo et al., 2013; Galindo et al., 2015).

En investigaciones más recientes, se evaluó su efectividad en cultivos de tomate bajo condiciones de invernadero, mostrando resultados positivos en el desarrollo vegetal al mejorar la absorción de nutrientes, como nitrógeno y fósforo, así como al estimular la producción de fitohormonas, como auxinas, y compuestos orgánicos volátiles, como acetoina y 2,3-butanodiol. Además, se observó una notable reducción del ~31% en la incidencia y del ~89% en la severidad del daño causado por *Botrytis cinerea* en hojas y frutos de plantas de tomate tratadas con Fungifree AB® (Balderas-Ruíz et al., 2021).

La evaluación de Fungifree AB® como posible nematocida representa una perspectiva novedosa en el ámbito del control integrado de plagas en la agricultura. Esta investigación se destaca el interés por el empleo de microorganismos benéficos para combatir nematodos está en constante aumento, debido a la búsqueda continua de alternativas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente, que reduzcan la dependencia de pesticidas químicos. El enfoque en la eficacia de combinación de *B. velezensis* y *P. lilacinum*, ofrece una valiosa oportunidad para ampliar nuestro conocimiento científico en este campo.

## 4 JUSTIFICACIÓN

Los nematodos del género *Meloidogyne* representan una amenaza considerable para el sector agrícola a nivel global, ocasionando pérdidas millonarias cada año. En México, su presencia se extiende por 29 de las 32 entidades federativas, siendo el grupo más relevante dentro de los nematodos de importancia agrícola. Específicamente, *M. enterolobii* se destaca como una especie de difícil erradicación y control, especialmente en cultivos cruciales como el tomate rojo (jitomate), lo que impacta significativamente en la economía nacional.

A pesar de los esfuerzos actuales en biocontrol y el uso de agroquímicos, los nematodos, en especial *M. enterolobii*, muestran resistencia a diversas estrategias, como los genes de resistencia *Mi* y algunas cepas de *P. lilacinum*. Esto resalta la necesidad de establecer un sistema de biocontrol más efectivo basado en enemigos naturales del suelo que no dañen las plantas de cultivo. Los formulados comerciales de *P. lilacinum*, enriquecidos con otros principios activos, han demostrado una alta eficacia.

Con el fin de potenciar su efectividad en el control de nematodos y mejorar la calidad de los cultivos, hemos decidido enriquecer nuestra cepa con *B. velezensis* 83, el principio activo de Fungifree AB®, el cual aún no se ha evaluado para el control de *Meloidogyne* u otros nematodos. Esta combinación se presenta como una estrategia especializada y prometedora para el control integrado de nematodos en la agricultura, lo que conlleva a una reducción en la dependencia de pesticidas químicos y promueve prácticas agrícolas más sostenibles. La investigación sobre la eficacia y el potencial de esta combinación específica contribuirá al desarrollo de nuevas

herramientas y prácticas para el control de nematodos, beneficiando la seguridad alimentaria y la sostenibilidad de los sistemas agrícolas.

## 5 HIPÓTESIS

La combinación del formulado Fungifree AB® (*B. velezensis* 83) y *P.lilacinum* MTL01 será capaz de reducir los daños causados por la infestación de *M. enterolobii* sobre plantas de tomate con mayor efectividad que de forma individual.

## 6 OBJETIVOS

### Objetivo general

- Evaluar la eficiencia del consorcio entre *B. velezensis* 83 y la cepa *P. lilacinum* MTL01 como estrategia de biocontrol específicamente dirigida contra *M. enterolobii*, sobre plantas de tomate.

### Objetivos específicos

- Establecer un sistema experimental para el cultivo y propagación de nematodos con propósitos de investigación.
- Analizar la actividad nematocida de manera independiente de *B. velezensis* 83 y *P.lilacinum* MTL01, así como su efectividad en consorcio, sobre plantas de tomate en condiciones de invernadero.

## 7 METODOLOGÍA

### 7.1 Obtención de cepas fúngicas.

En nuestro grupo de investigación, se buscó establecer un método para cultivar y propagar nematodos de la especie *Meloidogyne paranaensis* en plántulas de tomate reproducidas en frascos de micropropagación. Utilizamos medio de cultivo basal Murashige and Skoog (Sigma), solidificado con agar bacteriológico al 0.8%. Las plántulas se inocularon con 2-3 masas de huevos lavadas con agua destilada estéril, obtenidas de raíces infestadas con nematodos de *M. paranaensis* colectadas de un campo abierto en Veracruz, Mex. proporcionadas por el Dr. Alejandro Salinas Castro del Centro de Investigación en Micología Aplicada de la Universidad Veracruzana.

Las inoculaciones se hicieron en cinco frascos que contenían plantas independientes. De las cinco plantas inoculadas, se observó que cuatro de ellas presentaban daños irreversibles, comprometiendo su supervivencia. Al disectarlas se observó la presencia de nematodos móviles J2 desde la raíz hasta la zona cotiledonar, sin embargo, una de ellas no presentó signos de daño.

Las masas de huevos con las que se inoculó la planta “sana”, se observaron en un microscopio estereoscópico (OMAX), dónde se detectaron huevos sin eclosionar y algunos pocos nematodos J2 muertos. También se observaron dos hongos de apariencia distinta creciendo sobre las masas de huevos. Estos hongos se aislaron para su identificación.

Los hongos se sembraron en medio de cultivo sólido agar dextrosa y papa (PDA) y se incubaron durante tres días a 30°C. Se hizo un aislado individual de cada uno de los organismos crecidos en

la primera siembra, en medio PDA, con un tiempo de incubación de 3 días a 30°C. Los aislados individuales se resembraron en placas de PDA con los antibióticos ampicilina 100 µg/mL y kanamicina 50 µg/mL, para evitar el crecimiento de bacterias y se incubaron nuevamente durante 3 días a 30°C. Este procedimiento se repitió por varios pases de resiembra hasta la obtención de un cultivo de hongos libres de contaminación bacteriana.

## **7.2 Identificación de hongos nematófagos**

### **Aislamiento de ADN genómico**

Se extrajo ADN genómico de los dos aislados fúngicos con el kit Quick-ADN Fungal/Bacteria Miniprep de Zymo Research, bajo las especificaciones del proveedor.

### **Cuantificación**

Se realizó la cuantificación del DNA extraído de cada una de las muestras por Nanodrop y se visualizó por electroforesis horizontal en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio, revelado en un transluminador BioRad Gel Doc EZ Imager, para comprobar la calidad y cantidad del ADN extraído.

### **PCR**

Se amplificó la región intergénica de la subunidad grande del ribosoma utilizando los oligonucleótidos ITS1-4 (espaciador del transcrito interno): ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATG-3'), mediante la

técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). El volumen final de la reacción de amplificación para cada muestra fue de 25  $\mu$ l.

El programa de PCR utilizado fue un ciclo de desnaturalización a 94°C por 5 minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 94°C 30 segundos, alineamiento a 54°C por 45 segundos y extensión a 72°C por 60 segundos, un ciclo de extensión final a 72°C por 5 minutos. La reacción de amplificación se hizo con la polimerasa de *Thermophilus aquaticus* (Taq polymerase, Thermo Scientific™), con la mezcla de reacción estandarizada ( 2.5 mM de MgCl<sub>2</sub> (stock 25 mM), 100  $\mu$ M de mezcla de dNTP'S (Stock de 2mM), Tampón específico para Taq Pol. 1X (Stock a 10 X), 0.4 uL de Taq pol (1U/ $\mu$ L ), 30 ng de DNAg molde, 1  $\mu$ L de cada oligo (stock a 10  $\mu$ M), y agua hasta volumen final de 25  $\mu$ L), en un termociclador ( mini16 thermal cycler, miniPCR®).

El producto de PCR se visualizó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio, y se observó en el transluminador BioRad Gel Doc EZ Imager.

### **Secuenciación**

Una vez comprobada la amplificación del marcador molecular ITS, los productos de PCR se purificaron por corte de banda y extracción en gel de agarosa al 1%, con ayuda del kit GeneJET Gel Extraction Kit (Thermo Scientific).

El ADN recuperado de la purificación se cuantificó por nanodrop y se preparó para su secuenciación bajo las especificaciones de la Unidad de Secuenciación del Instituto de

Biotecnología, UNAM. Se enviaron 100 ng de ADN puro para secuenciar en ambos sentidos, utilizando los oligos ITS 1 e ITS 4.

Posteriormente, se empleó la plataforma SeaView para derivar una filogenia (Gouy et al., 2010). Se amplificó la secuencia del marcador molecular según lo descrito anteriormente y se recuperaron secuencias homólogas de las bases de datos de secuencias de ARN de referencia del NCBI (refseq\_rna) y la colección de nucleótidos (nr/nt) utilizando Blastn. Las alineaciones se generaron con el programa ClustalW (<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>) y luego se curaron manualmente utilizando Gblocks (Talavera y Castresana, 2007) ([http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks\\_server.html](http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks_server.html)). Finalmente, se analizaron en conjunto para inferir la filogenia. En este caso, el mejor modelo predicho fue el Neighbor Joining, un método basado en distancias filogenéticas (Saitou & Nei, 1987). El árbol se procesó gráficamente para su visualización final utilizando la aplicación Java FigTree v1.4.4.

Este proceso de alineamiento de secuencias nos permitió identificar a los dos hongos, los cuales mostraron un 100% de identidad. Uno de ellos correspondía a la especie de *Fusarium oxysporum* y el otro a *Purpureocillium lilacinum*.

*F. oxysporum* ha sido ampliamente identificado como un patógeno vegetal. Aunque se reconocen cepas no patógenas, la asociación con esta especie genera dudas entre los agricultores. Considerando nuestras investigaciones futuras, este no sería un candidato ideal para la formulación de productos de biocontrol destinados a cultivos comerciales. Por lo tanto, en este estudio no se incluyó para análisis posteriores. No obstante, es importante destacar que *F. oxysporum* sigue siendo relevante para la investigación básica, ya que puede proporcionar información sobre nuevos

procesos o mecanismos de control de nematodos por hongos, como la producción de metabolitos letales o estructuras de atrapamiento.

### **7.3 Propagación de nematodos en plantas de tomate en condiciones de invernadero.**

#### **Muestra**

El Dr. Alejandro Salinas(CIMA, UV), nos proporcionó varias muestras de raíces infestadas con nematodos del género *Meloidogyne*. El presente trabajo reporta datos obtenidos a partir de nematodos aislados de raíces de acelga colectadas de un campo de cultivo en Cerro Gordo, municipio Emiliano Zapata, Veracruz, México, cuya población fue previamente propagada por el laboratorio del Dr. Salinas en plantas de tomate, y caracterizada morfológicamente.

En nuestro grupo de trabajo se confirmó la especie por técnicas moleculares, a partir de la amplificación por PCR y secuenciación de la región espaciadora de los transcritos internos del rRNA ITS1-5.8S-ITS2, utilizando los oligonucleótidos forward (sentido) TW81-GTT TCC GTA GGT GAA CCT GC y reverso AB28-ATA TGC TTA AGT TCA GCG G. Ambas identificaciones coinciden con la especie *M. enterolobii*, como lo reportó Salinas et al. en 2022.

#### **Aislamiento de masas de huevos**

Las masas de huevos se aislaron de las agallas de las raíces infestadas mediante la siguiente técnica: se colocaron trozos de raíces de tomate con agallas visibles en una caja de Petri con suficiente agua para cubrir las agallas, y se diseccionaron las raíces con la ayuda de un microscopio estereoscópico y dos agujas de jeringas de 5 ml. Una vez abierto el tejido vegetal, se identificaron y extrajeron las

masas de huevos con precaución para evitar su ruptura. Estas masas se separaron en tubos eppendorf de 1.5 ml y se les agregó 1 ml de agua destilada. Se almacenaron a temperatura ambiente hasta su utilización, en un periodo no mayor a cuatro días.

### **Propagación de nematodos en plantas de tomate.**

En cuanto a la propagación de los nematodos en plantas de tomate, se empleó como modelo vegetal *Solanum lycopersicum*, variedad CALAFIA F1 (susceptible al ataque por *Meloidogyne sp.*), marca certificada Harris Moran. Las plantas se obtuvieron a partir de semillas esterilizadas mediante varios lavados con agitación suave, con agua destilada estéril (5 minutos), solución de cloro comercial al 10% (3 minutos), seguido de tratamientos con etanol al 50 y 70 % respectivamente (3 minutos) y cinco lavados adicionales con agua destilada estéril. Tras la estratificación en oscuridad a 4°C durante 48 horas, las semillas se sembraron en placas de agar - agua al 0.8% y se dejaron germinar en oscuridad por 2 días. Las plántulas emergidas se trasladaron a almácigos con sustrato adecuado y se cultivaron en invernadero a una temperatura controlada de 22-25°C y fotoperiodo de 16 horas luz/ 8 horas oscuridad. Cuando alcanzaron unos 20 cm de altura, las plantas se trasladaron a macetas y se inocularon con las masas de huevos de *Meloidogyne*. Este proceso se repitió periódicamente para mantener la población de nematodos. Durante el periodo de enero a agosto de 2023, las plantas se mantuvieron en un invernadero con temperatura promedio de 21°C y humedad relativa del 70%.

#### 7.4 Ensayo de biocontrol planta-hongo

A pesar de los informes sobre los beneficios de *B. velezensis* y *P. lilacinum* en el crecimiento vegetal, se requiere evaluar su efecto en nuestro sistema experimental. Por lo tanto, se llevó a cabo una evaluación del impacto de la inoculación de estas cepas, tanto de manera individual como en consorcio, en plantas de tomate no infestadas con nematodos. Además, se investigó el posible efecto de *P. lilacinum* MTL01 y *B. velezensis* 83 sobre *M. enterolobii*, tratando con estas cepas plantas de tomate previamente infestadas con nemátodos.

**Tabla 1.** Tratamientos, Inoculaciones y Plantas por Experimento

El experimento cuenta con 8 repeticiones en dos temporadas: 8 charolas con diferentes tratamientos, cada una conteniendo plantas como unidades experimentales.

Tratamiento	Inoculación con <i>M. enterolobii</i>	No. de plantas
Sin microorganismos	Si	6
<i>P.lilacinum</i> MTL01	Si	6
<i>B. velezensis</i> 83	Si	6
MTL01+ <i>B. velezensis</i> 83	Si	6
Total		24
Sin microorganismos	No	6
<i>P.lilacinum</i> MTL01	No	6
<i>B. velezensis</i> 83	No	6
MTL01+ <i>B. velezensis</i> 83	No	6
Total		24

Las plantas utilizadas en nuestros experimentos provienen de semillas de tomate CALAFIA F1 (Harris Moran) esterilizadas por el método antes descrito.

#### Primera inoculación con *P.lilacinum* MTL01.

Se ha reportado que algunas de las cepas de *P.lilacinum* pueden establecerse endofíticamente en varias especies vegetales (Castillo-López, et al., 2014). Esperando que *P.lilacinum* MTL01 se endofitara en nuestras plantas desde la fase inicial, se trataron las semillas (previamente esterilizadas) con  $1 \times 10^6$  esporas.

Las esporas se recuperaron de un cultivo de *P.lilacinum* MTL01 crecido en medio sólido PDA, en una solución estéril de glicerol al 10% y se cuantificaron en un hemocitómetro para su posterior ajuste a la concentración deseada. Se colocaron 24 semillas en la suspensión de esporas durante 24 horas, en agitación suave y constante en un rotador de tubos (TubeRoller Benchmark) a temperatura ambiente (~25-30°C).

Las semillas que no se expusieron a las esporas se incubaron con una solución de glicerol al 10%, libre de esporas, con el mismo tiempo de incubación y agitación.

Posteriormente se colocaron en almácigos de germinación, sobre sustrato compuesto por Sunshine mezcla 3 fina especial, perlita y vermiculita en una proporción 3:1:1. Ahí se mantuvieron durante dos semanas para un posterior trasplante a macetas circulares de 15 cm de diámetro. Las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero en el periodo julio-octubre 2022 y febrero-junio 2023, desde el inicio de la germinación hasta la etapa final del experimento.

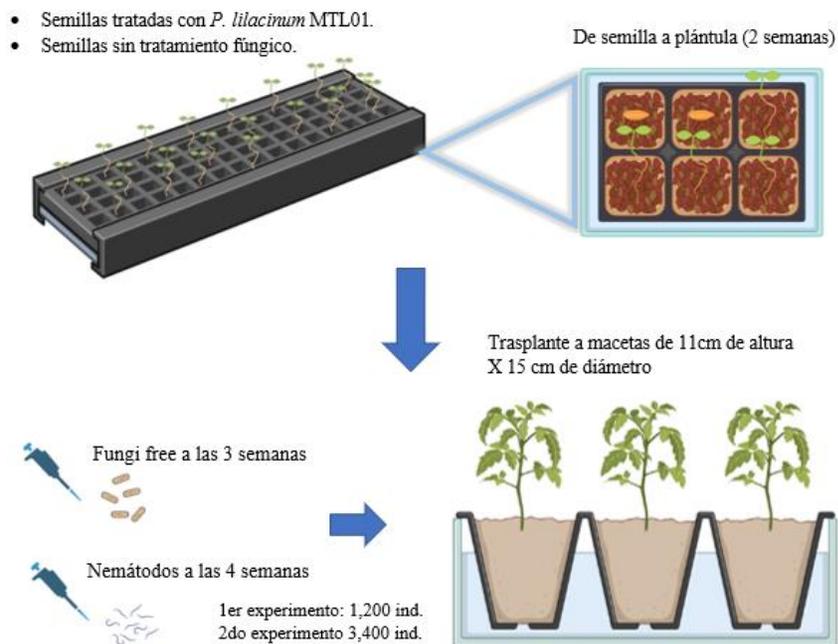
### **7.5 Tratamiento de plantas con *P. lilacinum* MTL01 y *B. velezensis* 83.**

Siguiendo la metodología de inoculación descrita en la sección anterior, la co-inoculación con *B. velezensis* 83 se hizo por aplicación directa del Fungifree AB® en suspensión, tomando como

referencia lo estipulado por el proveedor,  $1 \times 10^8$  UFC contenido en 1 g de producto; se suspendió a 1 g/ml de agua destilada estéril y se inoculó por maceta.

La aplicación se hizo una semana después del trasplante a macetas, con aplicación de tres refuerzos cada 20 días, colocados sobre la rizosfera de las plantas de tomate.

Entre los 25 a 30 días después de la segunda inoculación con Fungifree AB® se realizó un refuerzo del tratamiento con *P. lilacinum* MTL01, inoculando 1 ml de suspensión de esporas con una concentración de  $1 \times 10^6$  esporas/ml en la rizosfera de las plantas, en las 24 plantas correspondientes a este tratamiento (Figura 12).



**Figura 12.** Esquema de los tratamientos aplicados  
En un experimento con diseño completamente aleatorio (DCA).

## **7.6 Inoculación con nematodos y evaluaciones de la actividad nematocida del consorcio *P.lilacinum* MTL01-*B. velezensis* 83**

### **Inoculación en plantas**

Tres semanas después de trasplantarse a las macetas, las plantas se infestaron con nematodos J2 obtenidos de las masas de huevos de plantas de propagación, como se detalla en la [sección 7.2](#). Se llevaron a cabo dos experimentos con algunas variaciones en el método de infestación y las condiciones de cultivo en invernadero. En el primer experimento, se infestaron las plantas con aproximadamente 1,200 J2 por planta, sin aplicación de fertilizante, y se mantuvieron en condiciones de temperatura ambiental reguladas en el invernadero. En el segundo experimento, se inoculó un número mayor de nematodos, alrededor de 3,400 J2 por planta, y se aplicó 1 gramo de fertilizante triple 17 de liberación lenta. Las condiciones del invernadero se mantuvieron con una temperatura promedio de 21°C tanto de día como de noche, y una humedad relativa superior al 70%. Las plantas fueron monitoreadas y se mantuvieron en el invernadero durante 8-9 semanas, hasta alcanzar la tercera fase fenológica, la fase reproductiva.

### **7.7 Cuantificación y evaluación de los tratamientos aplicados**

Al término del experimento, se midieron los siguientes parámetros: longitud total, peso fresco y seco de la parte aérea, número de flores y frutos, peso fresco de la zona radicular, y número de agallas.

#### ***Registro de medidas de la parte aérea***

Las plantas se cortaron a nivel del borde superior de la maceta para poder tomar por separado los datos de la parte aérea y radicular. Posteriormente, se colocaron en bolsas de polipropileno y se etiquetaron de manera individual. Se registró el peso fresco total de cada planta, también se contaron los botones florales, las flores abiertas y los frutos en formación. Subsecuentemente, se partieron los tallos en trozos pequeños, se envolvieron junto a las hojas en papel absorbente y fueron colocadas en un horno de 50°C durante una semana hasta que se deshidrataron por completo, para poder tomar el registro del peso seco.

### *Conteo de agallas*

Se lavó el área radicular con agua para eliminar la mayor cantidad de sustrato posible. Una vez que las raíces estuvieron limpias, se eliminó el exceso de agua y se pesaron en fresco. Posteriormente, las raíces se envolvieron en papel absorbente húmedo y se almacenaron en bolsas de polipropileno refrigeradas a 4°C. Se pesó 1 gramo de raíz fresca de la misma zona en cada planta (raíces periféricas). Estas muestras se sometieron a un conteo de agallas visibles y se les asignó un índice de agallamiento (IA) según la escala de Taylor y Sasser (1978) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Escala de agallamiento (Taylor y Sasser, 1978)

No. de agallas	Índice de agallamiento
0	0
1-2	1
3-10	2
11-30	3
31-100	4
>100	5

### *Análisis estadístico*

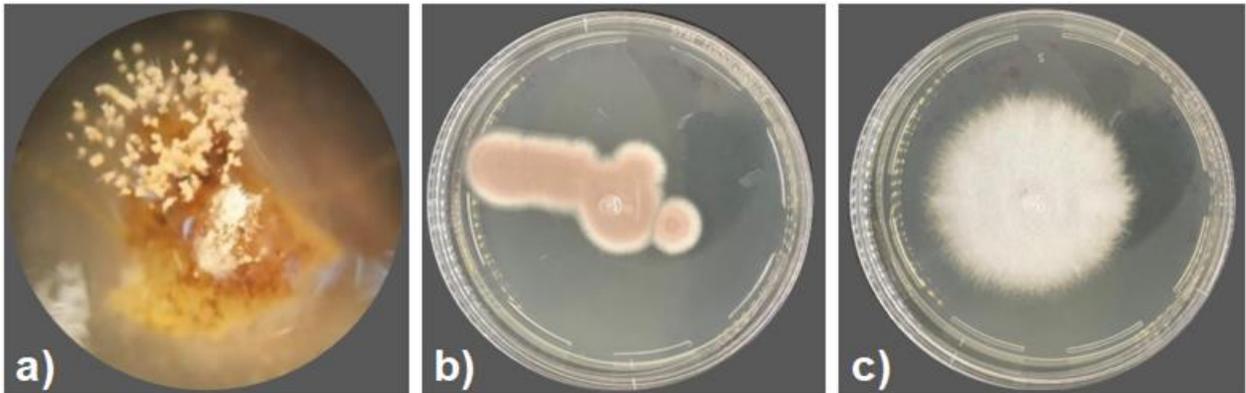
Se llevaron a cabo análisis estadísticos utilizando análisis de varianza de una vía (ANOVA) con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $P < 0.05$ ) mediante el software OriginPro 2023. Esta metodología se utilizó para examinar las diferencias significativas entre los grupos en diversas variables. Para el número de flores y el número de agallas se realizó una transformación logarítmica para normalizar los datos antes de realizar el ANOVA.

Es importante destacar que la transformación logarítmica se aplicó para mejorar la distribución de los datos y cumplir con los supuestos del ANOVA. Todos los datos analizados, que incluyen longitud, peso seco aéreo, peso fresco aéreo y peso radicular fresco, se presentan de manera estándar, utilizando la media más la desviación estándar para representar la dispersión de los valores dentro de cada grupo.

## 8 RESULTADOS

### 8.1 Obtención de cepas fúngicas.

Los hongos que crecieron sobre las masas de huevos de *Meloidogyne paranaensis* y que inhibieron la eclosión de los huevos y permitieron la supervivencia de la plántula de tomate, ver ([Sección 7.1](#)), se aislaron de manera independiente tras varios pases de resiembra en medio de cultivo PDA, suplementado con antibióticos (Figura 13).



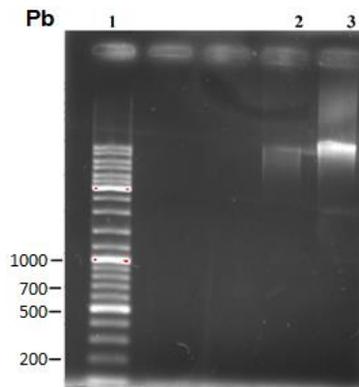
**Figura 13.** Hongos observados sobre la masa de huevos

a)Masa de huevos con crecimiento micelar, b)Aislado 1 en medio PDA, c)Aislado 2 en medio PDA.

### 8.2 Identificación de hongos nematófagos

#### Aislamiento de ADN genómico

Una vez que se logró tener a los hongos independientes, libres de contaminación, se extrajo ADN genómico a partir del micelio de ambas cepas ([Sección 7.2](#)). El ADN se visualizó en un gel de agarosa al 1% y se observaron bandas superiores a 10,000 pb, confirmando así la integridad del ADN genómico extraído (Figura 14).

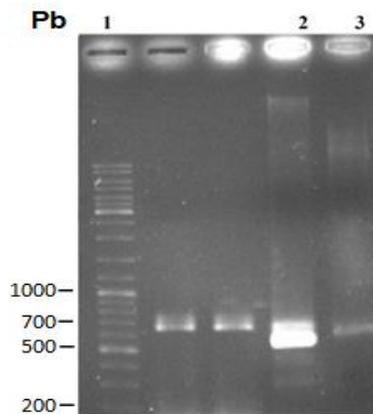


**Figura 14.** DNA genómico de los dos hongos aislados

Gel de agarosa al 1%, carril 1: marcador molecular, carril 2: DNA genómico extraído del Aislado 1, carril 3: DNA genómico extraído del Aislado 2.

### **Amplificación de la región intergénica de la subunidad grande del ribosoma (ITS) por PCR**

A partir del DNA extraído, se realizó una amplificación de la región intergénica de los ARN ribosomal ITS 1 y 2, con un producto esperado de aproximadamente 700 pb (Figura 15).



**Figura 15.** Amplificación de la región ITS 1-2 de los dos hongos aislados

Gel de agarosa al 1% , carril 1: marcador molecular, carril 2: DNA genómico amplificado del Aislado 1, carril 3: DNA genómico amplificado del Aislado 2.

## Secuenciación

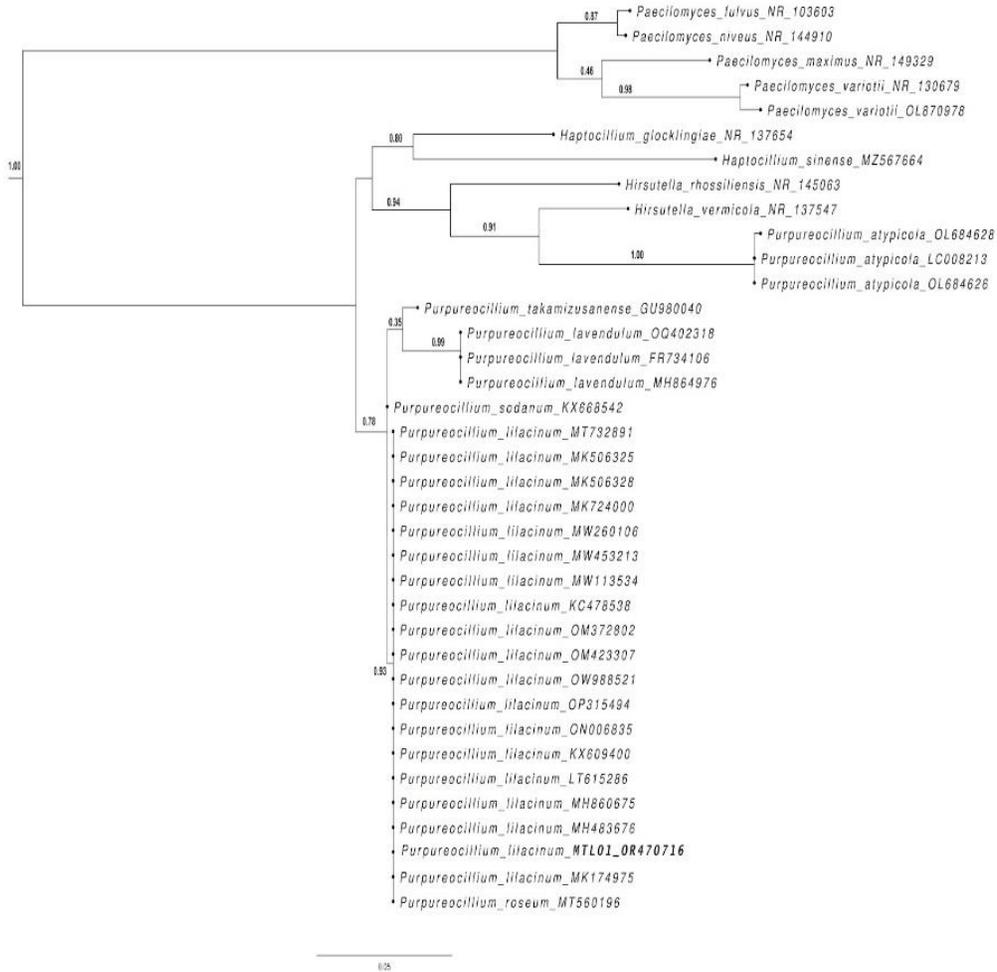
El producto de la amplificación por PCR se purificó y se envió a secuenciar en la Unidad de Secuenciación del Instituto de Biotecnología-UNAM.

El electroferograma proporcionado por la unidad de secuenciación nos permitió validar la calidad de la secuencia obtenida. Se utilizaron las secuencias (Figura 16) de las regiones amplificadas de *P. lilacinum* MTL01, así como secuencias representativas de otras especies de *Purpureocillium* para reconstruir la filogenia. Como grupo externo se compararon estas secuencias con las del género *Paecilomyces*, que pertenece a un orden diferente. (Figura 17).

```
>1893 HMFw
CTGTGAACCTTACCTCAGTTGCCTCGGCGGGAAACGCCCGGCCCTGCCCGCGCCGG
CGCCGGACCCAGGCGCCCGCCGAGGGACCCAACTCTTTGCATTACGCCAGCGGGC
GGAATTTCTTCTCTGAGTTGCACAAGCAAAAACAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGA
TCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCA
GAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGC
ATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCGAGCCCCCGGGGGCCTCGGTGTTGGGGGA
CGGCACACCAGCCGCCCCGAAATGCAGTGGCGACCCCGCCGAGCCTCCCCTGCGTAGT
AGCACACACCTCgCACCGGAGCGGGAGGGGTACGCCGTAACGCCCCAACTTTCTTA
gAGTTGACCTCGGATCAgGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGG
AA
```

**Figura 16.** Secuencia obtenida de la cepa MTL01 de *P. lilacinum*

Las identidades resultantes corresponden a *P. lilacinum* y *F. oxysporum*, ambos con 100% de identidad con secuencias de estas especies. En este trabajo solo se utilizó la cepa de *P. lilacinum*, a la que llamamos MTL01, la secuencia fue depositada en la base de datos del NCBI Gene Bank con el número de acceso OR470716.



**Figura 17.** Filogenia de *P. lilacinum* cepa MTL01

La longitud de las ramas del filograma indica la proximidad de las secuencias analizadas. Las ramas más cortas indican una tasa más baja de cambio de las secuencias nucleotídicas de referencia.

### 8.3 Propagación de nematodos en plantas de tomate en condiciones de invernadero.-

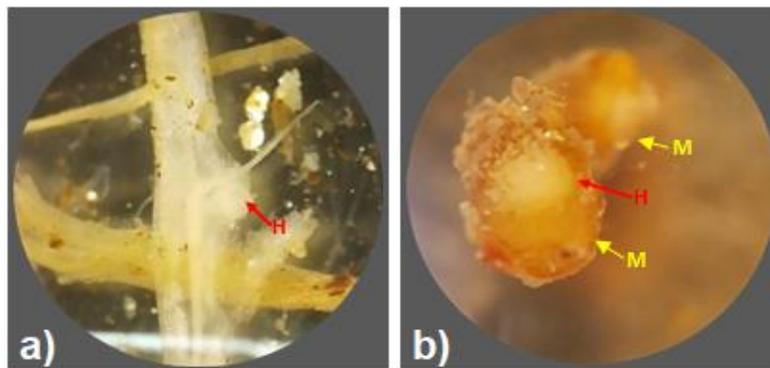
El establecimiento de la población de nematodos de *M. enterolobii* se logró al inocular las masas de huevos provenientes de raíces infestadas con *M. enterolobii*.

Las plantas presentaron agallas visibles en las raíces periféricas 90 días después de la inoculación.

Al ser diseccionadas, en las agallas se observaron hembras adultas y masas de huevos abundantes,

con aproximadamente 120 huevos por masa. Los huevos mostraron una alta viabilidad al eclosionar 48 horas después de ser incubados en agua, a temperatura ambiente (25°).

Para confirmar la identidad de los nematodos establecidos en nuestras plantas, en condiciones de invernadero, se hizo la identificación molecular, utilizando los oligonucleótidos forward (sentido) TW81-GTT TCC GTA GGT GAA CCT GC y reverso AB28-ATA TGC TTA AGT TCA GCG G.



**Figura 18.** Agallas diseccionadas de plantas inoculadas con *M. enterlobii*.  
a) Agalla con hembra adulta expuesta, b) Dos masas de huevos con hembra adherida.  
(H=hembra, M=masa de huevos)

Las secuencias obtenidas se analizaron con el programa Chromas 2.6.6 (Technelysium Pty Ltd, South Brisbane Australia), se pasaron a formato FASTA (Figura 19).

```
>153
CTATAGTCACTTGAATATTGTTGATGATGCAGGTCGTACAATCTAAACA
TATCTAACAATCAAATTAACATAAAGAAGCCTAAAATATATTATTTA
ATACTTTTTTTTTTTGAAGAGATGACCC TGAACCAGACATAGAAAAGG
GTTTGACCCCTATGCGGCAATATGCGTTCAAAC TTTTATGCTCAAGGC
TGCTGCAGTTCTCAAAAATTATCGCAGTTTGTGCGTTCTTCATCGATC
CACGAGCCTAGTGATCCACCGAAAGGCTAGGAATTTTGTTTTTTTTTTA
AATATAAAAAAAAAAGAGCGGGGGTCCCCACTTAAAAGGGGCATTTAATC
TTAAACTCATTATATGCCTAACCTGTCACCACCTCTACCGCCCCGGACG
GTCTCAACTGTATCAACCCCCCTAGACACCCGCGACAGCCGTTACTACT
ACATTTATTTTATTGCGATTCAAATTTGAACATCACATAATATAATGAT
CCAAGTTCACGGTCAGCAACAGAAACAAAAC
```

**Figura 19.** Secuencia obtenida de los nematodos propagados.

Por último, se realizó un alineamiento local de secuencias (BLAST®, NCBI) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para conocer la identidad (Figura 20).

Sequences producing significant alignments									
Download Select columns Show 100									
select all 100 sequences selected									
GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer									
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
Meloidogyne enterolobii isolate CN48 small subunit ribosomal RNA gene, partial seq...	Meloidogyne...	905	905	92%	0.0	97.90%	554	MT490925.1	
Meloidogyne enterolobii isolate ZA02 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequ...	Meloidogyne...	905	905	92%	0.0	97.90%	765	MT209955.1	
Meloidogyne enterolobii isolate ZZZP01 small subunit ribosomal RNA gene, partial se...	Meloidogyne...	905	905	92%	0.0	97.90%	763	MT159695.1	
Meloidogyne enterolobii isolate FJQZGS03 small subunit ribosomal RNA gene, partia...	Meloidogyne...	900	900	92%	0.0	97.71%	765	MT406251.1	
Meloidogyne enterolobii isolate FJQZGS02 small subunit ribosomal RNA gene, partia...	Meloidogyne...	900	900	92%	0.0	97.71%	765	MT406250.1	
Meloidogyne enterolobii isolate FJQZGS01 small subunit ribosomal RNA gene, partia...	Meloidogyne...	900	900	92%	0.0	97.71%	765	MT406249.1	

Figura 20. Porcentaje de identidad de nematodos (*M. enterolobii*) establecidos en condiciones de invernadero

Este protocolo se repitió en la segunda generación de propagación, coincidiendo en la especie de nematodos establecidos, *M. enterolobii*.

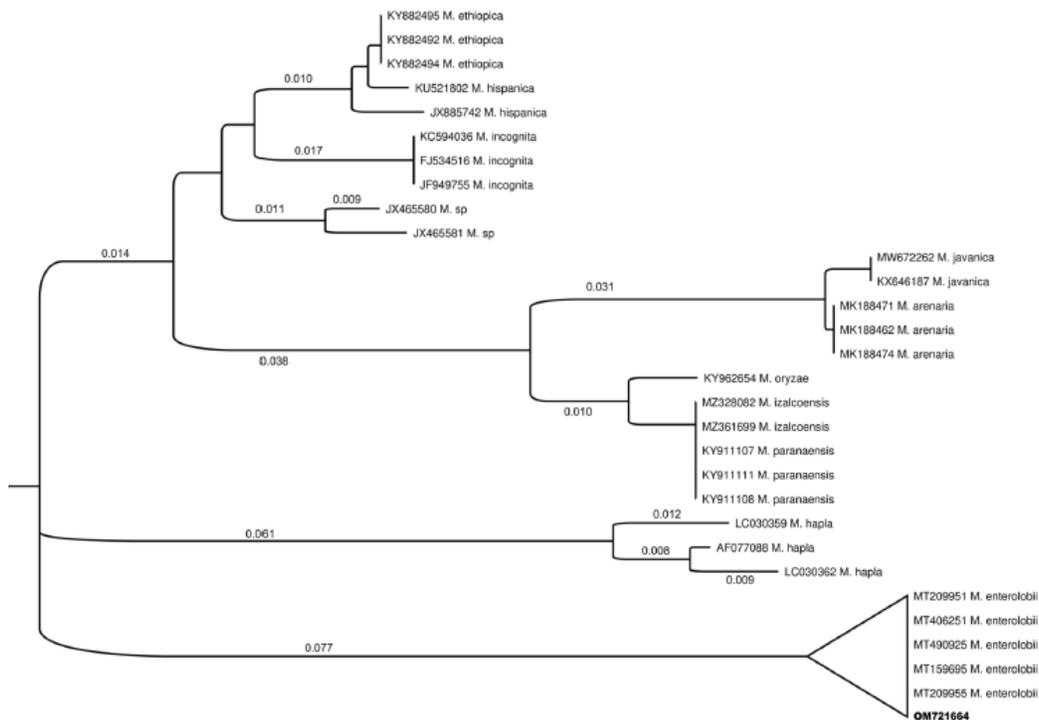


Figura 21. Filogenia de *Meloidogyne enterolobii*.

La secuencia se depositó en la base de datos del NCBI Gene Bank con el número de acceso SUB11094155 CIMA-123 OM721664

### **Evaluación de la inoculación de *P. lilacinum* MTL01, *B. velezensis* 83 independientes y en combinación, en el desarrollo de plantas de tomate**

Las plantas provenientes de semillas tratadas con esporas de *P. lilacinum* MTL01 no mostraron diferencias fenotípicas observables a simple vista respecto a las que no tenían inoculación fúngica, durante el estadio de plántula, lo que indica que el tratamiento de semillas con esporas de este hongo no representa un riesgo para el desarrollo vegetal, pero tampoco promovió el crecimiento hasta el momento de la medición. Inoculación con nematodos y evaluaciones de la actividad nematicida del consorcio *P.lilacinum* MTL01- *B. velezensis* 83

#### **8.3.1 Actividad de los microorganismos inoculados sobre las plantas de tomate**

Cuando las plantas alcanzaron la fase reproductiva, se evaluó su crecimiento aéreo y radicular para detectar posibles efectos de promoción o inhibición causados por los microorganismos inoculados. Se llevaron a cabo dos experimentos con algunas variaciones entre ellos, con el propósito de comparar las plantas tratadas con microorganismos y las plantas control sin inoculantes microbianos. Aunque se observaron diferencias estadísticamente significativas en algunos parámetros evaluados en cada experimento, estas diferencias no fueron consistentes en el segundo experimento, lo que impide llegar a conclusiones definitivas sobre la actividad de promoción o inhibición del crecimiento vegetal por parte de los microorganismos. No obstante, es importante

destacar que no se observaron diferencias visibles entre los tratamientos; las plantas tratadas mostraron características similares a las plantas control en ambos casos (ver Tabla 3).

**Tabla 3. Efecto de la inoculación en tomates con los microorganismos de control**

Evaluación del impacto de *P. lilacinum* MTL01, *B. velezensis* 83 y la combinación entre ambos en plantas de tomate. Medias ( $\pm$  D.E. n=6). Las letras diferentes indican que difieren significativamente (Tukey,  $P < 0.05$ ).

Tratamiento	Longitud	Peso fresco aéreo	Peso seco aéreo	Peso fresco de raíces
<b>Experimento julio-noviembre 2022</b>				
Control	103.83( $\pm$ 5.91) <sup>b</sup>	38.70( $\pm$ 4.97) <sup>a</sup>	5.04( $\pm$ 0.60) <sup>ab</sup>	17.64( $\pm$ 5.36) <sup>a</sup>
MTL01	114.50( $\pm$ 10.29) <sup>ab</sup>	32.33( $\pm$ 6.14) <sup>a</sup>	4.34( $\pm$ 0.70) <sup>b</sup>	12.54( $\pm$ 2.23) <sup>a</sup>
<i>B.velezensis</i> 83	105.00( $\pm$ 8.27) <sup>b</sup>	27.43( $\pm$ 8.09) <sup>a</sup>	4.00( $\pm$ 1.23) <sup>b</sup>	15.58( $\pm$ 4.69) <sup>a</sup>
MTL01+ <i>B.velezensis</i> 83	120.66( $\pm$ 11.29) <sup>a</sup>	39.14( $\pm$ 12.31) <sup>a</sup>	6.15( $\pm$ 1.60) <sup>a</sup>	14.18( $\pm$ 2.25) <sup>a</sup>
<b>Experimento febrero-junio 2023</b>				
Control	104.90( $\pm$ 7.54) <sup>a</sup>	36.59( $\pm$ 2.38) <sup>a</sup>	7.25( $\pm$ 1.02) <sup>a</sup>	18.51( $\pm$ 1.07) <sup>ab</sup>
<i>P.lilacinum</i> MTL01	108.83( $\pm$ 4.42) <sup>a</sup>	31.15( $\pm$ 2.98) <sup>ab</sup>	5.02( $\pm$ 0.88) <sup>b</sup>	16.23( $\pm$ 4.20) <sup>b</sup>
<i>B.velezensis</i> 83	108.41( $\pm$ 3.80) <sup>a</sup>	32.93( $\pm$ 3.96) <sup>ab</sup>	6.05( $\pm$ 1.48) <sup>ab</sup>	22.83( $\pm$ 4.58) <sup>a</sup>
MTL01+ <i>B.velezensis</i> 83	104.5( $\pm$ 7.89) <sup>a</sup>	27.45( $\pm$ 3.93) <sup>b</sup>	4.30( $\pm$ 0.86) <sup>b</sup>	16.25( $\pm$ 2.33) <sup>b</sup>

### Actividad de los microorganismos frente al ataque de nematodos y los daños causados en plantas.

Cuando las plantas se trataron con microorganismos y luego se infestaron con nematodos, los resultados respecto a la longitud, peso fresco aéreo y radicular, así como al peso seco aéreo, mostraron inconsistencias entre ambos experimentos. Sin embargo, se observó una tendencia marcada en cuanto a la producción de flores y la cantidad de agallas, con una clara diferencia entre las plantas tratadas con microorganismos y las plantas control. La mejor producción de flores se alcanzó en las plantas inoculadas con la combinación de los microorganismos (MTL01+ *B.velezensis* 83), que superaron más del doble la producción de flores de las plantas control. En

segundo lugar, se encontraron las plantas tratadas con *B. velezensis* 83, seguidas de las plantas inoculadas con *P. lilacinum* MTL01, que también mostraron una mayor producción de flores en comparación con las plantas no tratadas.

**Tabla 4. Efecto de la infestación de nematodos en el crecimiento de plantas de tomate**

Impacto de *M. enterolobii* en plantas de tomate inoculadas con los tratamientos: *P. lilacinum* MTL01, *B. velezensis* 83 y el consorcio entre ambos y un grupo control. Medias ( $\pm$  D.E. n=6). Las letras diferentes indican que difieren significativamente (Tukey,  $P < 0.05$ ).

Tratamiento	Longitud aérea	Peso fresco aéreo	Peso seco aéreo	Peso fresco de raíz
<b>Experimento julio-noviembre 2022</b>				
Control	118.33( $\pm$ 12.65) <sup>a</sup>	27.95( $\pm$ 7.75) <sup>b</sup>	3.71( $\pm$ 0.99) <sup>b</sup>	22.82( $\pm$ 8.36) <sup>a</sup>
<i>P.lilacinum</i> MTL01	104.83( $\pm$ 8.51) <sup>ab</sup>	30.61( $\pm$ 7.78) <sup>ab</sup>	4.02( $\pm$ 0.93) <sup>ab</sup>	24.48( $\pm$ 6.85) <sup>a</sup>
<i>B.velezensis</i> 83	116.83( $\pm$ 8.06) <sup>ab</sup>	36.30( $\pm$ 5.85) <sup>ab</sup>	5.35( $\pm$ 0.84) <sup>a</sup>	19.04( $\pm$ 3.68) <sup>a</sup>
MTL01+ <i>B.velezensis</i> 83	108.50( $\pm$ 3.88) <sup>ab</sup>	39.063( $\pm$ 5.77) <sup>a</sup>	5.39( $\pm$ 0.77) <sup>a</sup>	23.00( $\pm$ 3.62) <sup>a</sup>
<b>Experimento febrero-junio 2023</b>				
Control	106.66( $\pm$ 4.45) <sup>a</sup>	36.20( $\pm$ 4.23) <sup>ab</sup>	5.90( $\pm$ 1.27) <sup>ab</sup>	18.62( $\pm$ 4.57) <sup>a</sup>
<i>P.lilacinum</i> MTL01	107.00( $\pm$ 7.98) <sup>a</sup>	36.72( $\pm$ 3.72) <sup>a</sup>	5.43( $\pm$ 0.44) <sup>bc</sup>	13.56( $\pm$ 1.19) <sup>b</sup>
<i>B.velezensis</i> 83	95.25( $\pm$ 6.17) <sup>b</sup>	30.96( $\pm$ 2.07) <sup>bc</sup>	5.34( $\pm$ 0.36) <sup>bc</sup>	13.60( $\pm$ 1.53) <sup>b</sup>
MTL01+ <i>B.velezensis</i> 83	104.08( $\pm$ 5.96) <sup>ab</sup>	28.89( $\pm$ 2.52) <sup>c</sup>	4.24( $\pm$ 0.69) <sup>c</sup>	11.58( $\pm$ 2.11) <sup>b</sup>

**Tabla 5. Efecto de la infestación de nematodos en la producción de flores de tomate**

Efecto de la infestación de nematodos en la producción de flores de plantas de tomate inoculadas con los tratamientos: *P. lilacinum* MTL01, *B. velezensis* 83 y el consorcio entre ambos y un grupo control. Medias ( $\pm$  D.E. n=6). Las letras diferentes indican que difieren significativamente (Tukey,  $P < 0.05$ ).

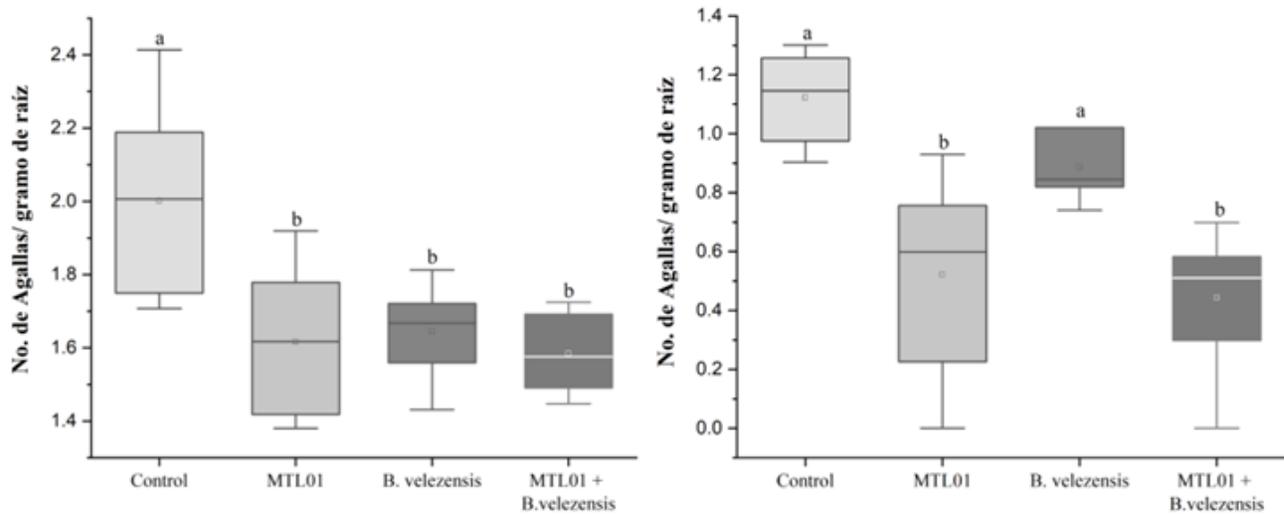
Tratamiento	No. de flores/planta	
	Experimento 1	Experimento 2
Control (sin nematodos)	0.82 ( $\pm$ 0.09) <sup>ab</sup>	0.61 ( $\pm$ 0.09) <sup>a</sup>
Control + <i>M. enterolobii</i>	0.62 ( $\pm$ 0.27) <sup>b</sup>	0.43 ( $\pm$ 0.11) <sup>b</sup>
MTL01 + <i>M. enterolobii</i>	0.62 ( $\pm$ 0.04) <sup>b</sup>	0.67 ( $\pm$ 0.06) <sup>a</sup>
<i>B.velezensis</i> 83 + <i>M. enterolobii</i>	0.87 ( $\pm$ 0.07) <sup>ab</sup>	0.67 ( $\pm$ 0.10) <sup>a</sup>
MTL01+ <i>B.velezensis</i> 83+ <i>M. enterolobii</i>	0.96 ( $\pm$ 0.12) <sup>a</sup>	0.73( $\pm$ 0.08) <sup>a</sup>

La cuantificación de agallas proporciona una estimación del grado de infestación que pueden alcanzar las plantas cuando los nematodos logran establecerse para completar su ciclo de vida. Si los nematodos son atacados en algún estadio de su ciclo, las poblaciones se verán reducidas y la cantidad de agallas será menor. Por esta razón, se llevó a cabo el conteo de agallas presentes en un gramo de raíz tomado de las raíces periféricas de cada planta, evitando tomar porciones de la raíz principal. Se observó un mayor establecimiento de los nematodos y una mayor cantidad de agallas en el experimento 1 en comparación con el 2; sin embargo, en ambos experimentos se mantuvo la tendencia de reducción del número de agallas en las plantas tratadas con los microorganismos. Se calculó el porcentaje de reducción de agallas entre los tratamientos, considerando el número de agallas presente en las plantas control como 100% (Figura 22, Tabla 6). En el primer experimento, se registró una reducción del 66%, 68% y 61% para los tratamientos con el consorcio, *P. lilacinum* MTL01 y *B. velezensis* 83 respectivamente, mientras que, en el segundo experimento, el porcentaje de reducción fue del 78%, 71% y 43% respectivamente.

**Tabla 6. Formación de agallas en raíces de tomate**

Efecto de la infestación de nematodos en las raíces de plantas de tomate inoculadas con los tratamientos *P. lilacinum* MTL01, *B. velezensis* 83 y la combinación entre ambos y un grupo control. Medias ( $\pm$  Desviación estándar de 6 repeticiones en cada experimento por tratamiento). Medias con letras diferentes indican que difieren significativamente (Tukey,  $P < 0.05$ ).

Tratamiento	Julio - noviembre 2022			Febrero - junio 2023		
	Agallas/gr de raíz	Índice de agallamiento	% de inhibición	Agallas/gr de raíz	Índice de agallamiento	% de inhibición
Control	2.00 ( $\pm 0.25$ ) <sup>a</sup>	5	0	1.12 ( $\pm 0.14$ ) <sup>a</sup>	3	0
MTL01	1.61 ( $\pm 0.20$ ) <sup>b</sup>	4	68	0.52 ( $\pm 0.32$ ) <sup>b</sup>	2	71
<i>B.velezensis</i> 83	1.64 ( $\pm 0.12$ ) <sup>b</sup>	4	61	0.88 ( $\pm 0.11$ ) <sup>a</sup>	2	43
MTL01+ <i>B.velezensis</i> 83	1.58 ( $\pm 0.11$ ) <sup>b</sup>	4	66	0.44 ( $\pm 0.23$ ) <sup>b</sup>	2	78



**Figura 22.** Efecto de los tratamientos en la formación de agallas en raíces, respecto al grupo control. Comparación entre tratamientos del número de agallas en las raíces, tomando como referencia las plantas del grupo control que no contaban con un tratamiento de inhibición de nematodos. Las líneas de dispersión muestran un intervalo de confianza del 95%. Las cajas representan la media de 6 repeticiones en cada experimento. Medias con letras diferentes indican que difieren significativamente (Tukey,  $P < 0.05$ ).

## 9 DISCUSIÓN

Durante el desarrollo de este proyecto, se llevó a cabo un experimento duplicado con el fin de evaluar la efectividad de la cepa *P. lilacinum* MTL01, tanto de manera individual como en combinación con la cepa *B. velezensis* 83 en su formulación comercial Fungifree AB®, para controlar la infestación y los daños causados por los nematodos *M. enterolobii* en plantas de tomate. Aunque se procuró mantener condiciones similares entre los experimentos, fue necesario realizar cambios significativos en cada uno, incluyendo la estación del año, la aplicación de fertilizante triple 17, la variación en la cantidad de J2 inoculados en las plantas y la viabilidad de los nematodos utilizados en la inoculación. Además, factores no controlables, como modificaciones en el invernadero (temperatura, regulación de la iluminación y aumento en la humedad relativa), podrían haber influenciado en los resultados, lo cual es esencial considerar al analizar los datos obtenidos en el estudio (Taylor & Sasser, 1978, 1983; Swe et al., 2011; Gallego-Velásquez et al., 2014; Acosta et al., 2021; Quevedo et al., 2022).

Respecto a las diferencias entre los experimentos, se observaron disparidades en la cantidad de nematodos inoculados. Aunque en el segundo experimento se aplicó aproximadamente tres veces más nematodos que en el primero, se registró un menor número de agallas en todo el experimento. La viabilidad de los nematodos jugó un papel crucial debido a problemas encontrados en las plantas utilizadas para la propagación de estos. Estas plantas se contaminaron con un organismo desconocido que generó mal olor en las raíces y el sustrato. Ante la falta de una cantidad suficiente de nematodos viables para llevar a cabo una inoculación inicial similar al primer experimento, se optó por utilizar raíces infestadas almacenadas durante aproximadamente seis meses a una

temperatura de 4°C. No obstante, los J2 obtenidos de la eclosión de las masas de huevos de estas raíces eran viables al momento de la inoculación, la prolongada exposición al frío pudo haber resultado en una reducción en la viabilidad de los huevos y los nematodos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los nematodos, a pesar de ser tolerantes al frío, esta condición podría afectar su viabilidad a largo plazo, como indican en el trabajo Shi et al. (2022).

Aunque los experimentos no son directamente comparables entre sí, se puede observar una tendencia clara en el crecimiento y desarrollo de las plantas, que fue similar entre todos los tratamientos tanto en el Experimento 1 como en el Experimento 2. Los parámetros medidos con resultados destacables y diferencias significativas fueron la floración y la reducción de agallas, tanto en uno como en otro experimento. Esto arroja un resultado prometedor con implicaciones significativas para la industria agrícola. El tratamiento con la mezcla de *P. lilacinum* MTL01 y *B. velezensis* 83 disminuye la presencia de nematodos y tiene un incremento en la floración, respecto a las plantas control no infestadas con nematodos.

*P. lilacinum* MTL01 se muestra como un agente de biocontrol de nematodos altamente efectivo. Los resultados de nuestro proyecto concuerdan con informes anteriores, como el de Aminuzzaman et al. (2012), quienes destacan la efectividad de una combinación similar de dos cepas de *P. lilacinum* con una reducción del 66.7% en el agallamiento de *M. incognita* en raíces de plantas de tomate tratadas con pellets de alginato con un 1.6% de conidios del hongo. Además, señalan que no se encontraron diferencias significativas en el peso fresco aéreo, altura y peso fresco de las raíces en comparación con el control negativo y el control vacío. Otros estudios relevantes incluyen los de Kiewnick et al. (2011), los que reportan una disminución del 45% en el agallamiento del

nematodo *M. incognita* en plantas de tomate tratadas con *P. lilacinus* cepa 251, así como una mejora del 31% en el rendimiento de frutos. Khan y Tanaka (2023) también reportan la eficacia de *P. lilacinum* con una reducción del 62% en el número de agallas en berenjenas con *M. incognita*, además de promover el crecimiento y la acumulación de pigmentos fotosintéticos. Por otro lado, Silva et al. (2017) evaluaron a *P. lilacinum* para el control de *M. enterolobii* y obtuvieron resultados favorables en experimentos *in vitro*, donde el parasitismo de huevos fue del 69 al 73%. Sin embargo, en condiciones de invernadero en plantas de tomate y plátano, observaron una disminución baja-moderada del agallamiento, sugiriendo un manejo integrado utilizando los hongos en lugar de utilizarlos de manera individual.

Es crucial destacar que *P. lilacinum* MTL01 mostró una actividad nematocida sólida; sin embargo, la producción de flores no se vio tan favorecida cuando el hongo se aplicó de manera independiente. No obstante, al aplicar el consorcio de *P. lilacinum* MTL01 y *B. velezensis* 83, se observó una mayor reducción en la incidencia de agallas y una floración superior en comparación con las plantas de control. En este contexto, Nesha y A. Siddiqui (2017) realizaron una evaluación de *Paecilomyces lilacinus* y *Aspergillus niger*, tanto de forma individual como en combinación, sobre plantas de zanahoria. Los resultados mostraron una reducción significativa en el número de agallas en las plantas tratadas con la combinación de *P. lilacinus* y *A. niger* en comparación con los tratamientos individuales. Esto respalda nuevamente la idea de que *P. lilacinum* contribuye a mantener las plantas en mejor estado cuando están bajo ataque de patógenos, y este efecto se potencia cuando se combina adecuadamente con otros organismos.

La efectividad del uso de bacterias para el control de nematodos fitoparásitos es buena, prueba de ello es la actividad de las enzimas líticas de bacterias del género *Chitinophaga* que indujo la mortalidad del 85% de *M. incognita* en el estadio J2, o los compuestos volátiles de cepas de *Bacillus sp.*, *Paenibacillus sp.* y *Xanthomonas sp.* que tuvieron un 99% de efectividad en la reducción de nematodos después de tres días de exposición a cada una de las cepas. (Gamalero & Glick , 2020)

Particularmente, el género *Bacillus* se destaca como un agente de control biológico ampliamente utilizado en agricultura. En el caso de los nematodos, diversos estudios respaldan su eficacia. Por ejemplo, Wei et al. (2014) evaluaron *B. subtilis* sobre plantas de tomate infestadas con *M. incognita*, observando una reducción de agallas del 48-69%. Diaz-Manzano et al. (2022) informan que *B. cereus* cepa Jdm1 logró una efectividad del 43% en la reducción de agallas de *M. incognita* en plantas de tomate. Cao et al. (2019) encontraron que *B. subtilis* cepa Bs-1 fue eficaz en un 64.2% en la reducción de agallas en plantas de tomate en condiciones de invernadero. En plantas de pepino, Bs-1 suprimió eficazmente a *M. incognita* y promovió el rendimiento en un 53.1% en ensayos de campo. Asaturova et al. (2022) evaluaron dos cepas de *B. velezensis* en plantas de pepino en invernadero y observaron una reducción del agallamiento por *M. incognita* de hasta un 76.4%. Tian et al. (2022) evaluaron la eficacia de la bacteria *B. velezensis* Bv25 sobre plantas de pepino, mostrando una reducción de agallas del 73.8% en macetas y del 61.6% en el campo, junto con un aumento en el rendimiento de frutos del 36.5% y un incremento en la altura de las plantas del 14.4%. Kamalanathan et al. (2032) demostraron que la cepa de *B. velezensis* VB7 inhibió eficazmente la eclosión de huevos de *M. incognita* en un 97.50% y promovió la mortalidad en J2 con un 87.65% de efectividad después de 96 horas. Thanh Tam et al. (2023) evaluaron cepas de *B. velezensis*, destacando las cepas TL7, S1, S2 y HD5 que redujeron un 65% del número de nudos

en las raíces de plantas de tomate infestadas con *Meloidogyne sp.*, con S1 y TL7 mostrando una mayor eficacia en la prevención de agallas en plantas de pimienta negra y café; mostraron un impacto más significativo en la prevención de la formación de agallas cuando se aplicaron antes de la exposición a la infección por nematodos. Además, demostraron ser las más eficientes al suprimir la infección por *F. oxysporum* en el suelo de la rizosfera de plantas de café y pimienta negra, tanto en invernadero como en campo.

Aunque no observamos una promoción general del crecimiento en las plantas tratadas con *B. velezensis* 83, como se ha informado con actividad promotora de crecimiento en plantas de tomate (Balderas-Ruíz et al., 2021), sí notamos un aumento en el número de flores producidas por planta cuando *B. velezensis* 83 se combina con el tratamiento de *P. lilacinum*. Según informes anteriores, *B. velezensis* ha demostrado incrementar el rendimiento en cultivos como pimienta negra y café, tanto en invernadero como en campo, cuando se aplican las cepas S1 y TL7, resultando en un aumento del 20% en la cosecha en comparación con las plantas no tratadas. La promoción del crecimiento y el aumento del rendimiento de la cosecha están directamente vinculados a la capacidad de las cepas TL7 y S1 de *B. velezensis* para reducir la incidencia de enfermedades en cafetos y plantas de pimienta negra infestadas por patógenos (Thanh Tam et al., 2023). Además, Asaturova et al. (2021) informaron mejoras significativas en el rendimiento con las cepas de *B. velezensis* BZR 86 y BZR 277 en comparación con el control, con aumentos del 21.4% y 5.2%, respectivamente, en 2016, y aumentos del 17.8% y 45.8%, respectivamente, en 2017. En el caso de *P. lilacinum*, Hernández-Leal et al. (2016) observaron una estimulación en la producción de semillas, aunque no se observó una promoción general del crecimiento de la planta.

En resumen, este proyecto ha proporcionado resultados prometedores para el control de nematodos en plantas de tomate mediante la combinación de *P. lilacinum* MTL01 y *B. velezensis* 83. La evaluación de los diferentes tratamientos y la observación de parámetros como la floración y la reducción de agallas respaldan la efectividad de este enfoque de control biológico. Además, los resultados obtenidos coinciden con investigaciones previas que resaltan la eficacia de *P. lilacinum* y diversas cepas de *Bacillus* en la supresión de nematodos en diferentes cultivos. Este enfoque integrado podría ofrecer una alternativa sostenible y efectiva para el control de nematodos en la agricultura, contribuyendo a la salud de las plantas y al rendimiento de los cultivos.

## 10 CONCLUSIÓN

En las plantas libres de nemátodos, no se observaron efectos adversos en el crecimiento con ninguno de los tratamientos evaluados. Aunque no se registró una promoción del crecimiento vegetal, tampoco se evidenció una disminución en el desarrollo de las plantas. Además, la floración se mantuvo constante en los tres tratamientos comparados entre sí y con las plantas de control, lo que indica que no se compromete la producción agrícola al aplicar los tratamientos.

En cuanto a los resultados del consorcio formado por los microorganismos, se destacó su notable capacidad para contrarrestar el daño causado por la infestación de nemátodos en las plantas de tomate. Si bien compartió resultados similares con el uso exclusivo de *P. lilacinum* en términos de reducción del agallamiento de las raíces, las plantas tratadas con el consorcio mostraron una mejora significativa en la producción de flores en comparación con los demás tratamientos. Esto lo convierte en una opción ideal para combatir los efectos de los nemátodos agalladores y, al mismo tiempo, estimular y aumentar la producción de flores que eventualmente se convertirán en frutos.

En conclusión, los tratamientos no tuvieron un impacto negativo en el desarrollo de las plantas libres de nemátodos, lo que garantiza la seguridad de la producción agrícola. El consorcio de microorganismos se destaca como una estrategia efectiva para contrarrestar el daño de los nemátodos y promover una mayor producción de flores en las plantas de tomate.

## 11 PERSPECTIVAS

La medición de la viabilidad de nematodos y huevos, particularmente aquellos que se reproducen en las plantas bajo los tratamientos de *P. lilacinum* MTL01, *B. velezensis* 83 y el consorcio entre ambos, representa un paso fundamental para comprender el impacto de estos tratamientos en el control de nematodos fitoparásitos. Esta evaluación proporcionará información crucial sobre la efectividad de cada tratamiento en la supresión de la población de nematodos y la viabilidad de sus huevos, lo que contribuirá significativamente al desarrollo de estrategias de manejo integrado de plagas.

La reproducción del experimento para consolidar los resultados obtenidos hasta el momento. Al repetir el estudio, se podrá verificar la consistencia de los efectos observados bajo diferentes condiciones experimentales y contextos ambientales. Además, la reproducción permitirá confirmar la reproducibilidad de los hallazgos y fortalecer la robustez de las conclusiones obtenidas. Esto no solo aumentará la confianza en los resultados del estudio, sino que también proporcionará una base sólida para futuras investigaciones y aplicaciones prácticas en el campo del manejo de nematodos fitoparásitos.

# 12 ANEXOS

## Anexo A. BLAST de *P.lilacinum* MTL01

Resultado de un análisis de BLAST, muestra la similitud entre la secuencia de *P. lilacinum* MTL01 (número de acceso OR470716.) y las secuencias encontradas en la base de datos.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum isolate DSM100329_DF58_RLCS20 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequenc...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	1186	<a href="#">MT453285.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum isolate R38 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene a...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	584	<a href="#">MT420635.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum isolate R26 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed sp...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	598	<a href="#">MT420625.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum isolate PU253 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	600	<a href="#">MT279298.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum isolate PU16Z12577 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal trans...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	626	<a href="#">MT254824.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum isolate CNUFC-RD55 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal R...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	950	<a href="#">MK390498.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium sp. WC-2018a isolate A15693 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RN...</a>	<a href="#">Purpureocillium s...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	572	<a href="#">MF787284.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum culture BCC&lt;THA&gt;:86507 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	972	<a href="#">MH430168.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum culture CBS:226.73B strain CBS 226.73B small subunit ribosomal RNA gene, partial se...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	940	<a href="#">MH860675.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Purpureocillium lilacinum isolate SR64 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...</a>	<a href="#">Purpureocillium li...</a>	1002	1002	100%	0.0	100.00%	554	<a href="#">MF996814.1</a>

## Anexo B. Alineamiento de *P. lilacinum* MTL01

Alineamiento realizado con el programa MUSCLE, muestra la comparación de secuencias genéticas o proteicas entre *P. lilacinum* MTL01 y la cepa con la que tiene mayor identidad *P. lilacinum* DSM100329\_DF58\_RLCS20

CLUSTAL multiple sequence alignment by MUSCLE (3.8)

OR470716.1 MT453285.1	----- CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACACGGAGG	OR470716.1 MT453285.1	AGTGGCGACCCCGCCGAGCCTCCCTGCGTAGTAGCACACACTCGCACCGGAGCGCGG AGTGGCGACCCCGCCGAGCCTCCCTGCGTAGTAGCACACACTCGCACCGGAGCGCGG *****
OR470716.1 MT453285.1	-----CTGTGAACCTTACCTCAGTTGCCTCGG GATCATTACGAGTTATAACAACCTCCAAACCCACTGTGAACCTTACTCAGTTGCCTCGG	OR470716.1 MT453285.1	AGGCGGTCACGCCGTAACGCCCCAAGCTTTCTAGAGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAAT AGGCGGTCACGCCGTAACGCCCCAAGCTTTCTAGAGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAAT *****
OR470716.1 MT453285.1	CGGGAACGCCCGCCGCTGCCCGCCGCGCGGACCGAGGCGCCCGCAGGG CGGGAACG-CCGCGCGCTGCCCGCCGCGCGGACCGAGGCGCCCGCAGGG	OR470716.1 MT453285.1	ACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA----- ACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAGAAACAAACAGGGATGCC *****
OR470716.1 MT453285.1	ACCCCAAACCTCTTGCATTACGCCAGCGGGGGAATTTCTTCTGAGTTGCACAAGC ACCCCAAACCTCTTGCATTACGCCAGCGGGGGAATTTCTTCTGAGTTGCACAAGC	OR470716.1 MT453285.1	----- AGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCCCAGGGCCGAGT
OR470716.1 MT453285.1	AAAAACAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA AAAAACAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA	OR470716.1 MT453285.1	----- TGTAAATTTGCAGAGGATGCTTTTGGGCGGTGCTTCCGAGTTCCTTGGAAAGGGACGC
OR470716.1 MT453285.1	CGCAGCGAAATGCATAAGTAAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA CGCAGCGAAATGCATAAGTAAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA	OR470716.1 MT453285.1	----- CATAGAGGTTGAGAGCCGCTGCTGGTCGGACGCTAGCCTGTGTAAGCTCCTTGACGAG
OR470716.1 MT453285.1	ACGCACATTGCGCCCGCAGCATTTGCGGGGATGCTGTTGAGCGTCATTTCAACCC ACGCACATTGCGCCCGCAGCATTTGCGGGGATGCTGTTGAGCGTCATTTCAACCC	OR470716.1 MT453285.1	----- TCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTATATGCTTCTAAAGCTAAATACC
OR470716.1 MT453285.1	TCGAG-CCCCCGGGGCTCGGTGTTGGGGGACGGCACACAGCCGCCCCGAAATGC TCGAGCCCCCGGGGCTCGGTGTTGGGGGACGGCACACAGCCGCCCCGAAATGC	OR470716.1 MT453285.1	----- GGCCAGAGACCGATAGCGCACAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAGACATTTGAAAGA

## 13 REFERENCIAS

- Abad, P., Favery, B., Rosso, M.-N., & Castagnone-Sereno, P. (2003). Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), 217-224. doi:doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00170.x
- Acosta, I., Ávila, L., Rodríguez, A., Cárdenas, J., Martínez, V., & Pacheco, N. (2021). Producción de inulinasas extracelulares por el hongo *Purpureocillium lilacinum*. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 12(3), 31-43. ISSN: 0718-8706
- Agrios, G. (2005). Fitopatología. LIMUSA.
- Alcasio-Rangel, S., Ramírez-Suárez, A., Rosas-Hernández, L., & Morales, O. (2014). Distribución preliminar del nematodo agallador *Meloidogyne enterolobii* en México. *Rev. Mex. Fitopatol*, 32,(Supl.), R-53/ p. S-109. doi:ISSN-2007-8080
- Aminuzzaman, F., Xie, H., Duan, W., Sol, B., & Liu, X. (2012). Isolation of nematophagous fungi from eggs and females of *Meloidogyne spp.* and evaluation of their biological control potential. *Biocontrol Science and Technology*, 23(2), 170-182. doi:doi.org/10.1080/09583157.2012.745484
- Andrés, M. F. (2002). Estrategias en el control y manejo de nematodos fitoparasitarios. *Ciencia y Medio Ambiente*, 221-227. doi:ISSN:84-699-7972-8

- Asaturova, A., Bugaeva, L., Homyak, A., Slobodyanyuk, G., Kashutina, E., Yasyuk, L., Garkovenko, A. (2022). *Bacillus velezensis* Strains for Protecting Cucumber Plants from Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* in a Greenhouse. *Plants*, 11(3), 275. doi:10.3390/plants11030275
- Balderas-Ruíz, K., Bustos, P., Santamaria, R., González, V., Cristiano-Farjado, S., Barrera-Ortíz, S., Serrano-Carreón, L. (2020). *Bacillus velezensis* 83 a bacterial strain from mango phyllosphere, useful for biological control and plant growth promotion. *AMB Express*, 10(1). doi:10.1186/s13568-020-01101-8.
- Balderas-Ruíz, K., Gómez-Guerrero, C., Trujillo-Roldán, M., Valdez-Cruz, N., Aranda-Ocampo, S., M. Juárez, A. Serrano-Carreón, L. (2021). *Bacillus velezensis* 83 increases productivity and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Pre and postharvest assessment. *Current Research in Microbial Sciences*, 2. doi:doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100076
- Bernal, R. (2010). Enfermedades de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) en invernadero en las zonas de Salto y Bella Union. *INIA*.
- Blancard, D., Laterrot, H., Marchoux, G., & Candresse, T. (2011). Enfermedades del tomate: Identificar, conocer, controlar. *Madrid: Mundi-Prensa*.
- Bolaños Herrera, A. (2001). Introducción a la Olericultura (2da ed.). San Jose, Costa Rica: *EUNED*.

- Cano, E., Carballo , M., Chaput, P., Fernández, O., Gonzáles, L., Gruber, A., Carlos, D. (2004). Control biológico de plagas agrícolas (1a ed., Vol. 53). *Bib. Orton IICA / CATIE*.
- Cao, H., Jiao, Y., Yin, N., Li, Y., Ling, J., Mao, Z., Xie, B. (2019). Analysis of the activity and biological control efficacy of the *Bacillus subtilis* strain Bs-1 against *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*, 122, 125-135. doi:doi.org/10.1016/j.cropro.2019.04.021
- Carrión, G., & Desgarenes, D. (2012). Effect of *Paecilomyces lilacinus* in Free-Living Nematodes to the Rhizosphere Associates Potatoes Grown in the Cofre of Perote Region, Veracruz, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 30(1), 86-90.
- Centro de Estudio Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2020). El comportamiento del sector agropecuario (primario) durante 2019. Obtenido de [http://www.cedrssa.gob.mx/post\\_el\\_comportamiento\\_del\\_n-sector\\_agropecuario\\_primario-n\\_durante\\_2019.html](http://www.cedrssa.gob.mx/post_el_comportamiento_del_n-sector_agropecuario_primario-n_durante_2019.html)
- Chen , X., Koumoutsis, A., Scholz, R., Eisenreich, A., Schneider, K., Heinemeyer, I., Borriss, R. (2007). Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *nature biotechnology*, 25, 1007-1014. doi:https://doi.org/10.1038/nbt1325
- Chun-Ling, X., Chun-Wei, J., Lu, Y., Hui, X., Dong-Wei, W., Yu, L., & Xi, C. (2015). Establishment of new monoxenic culture systems for root-knot. *Nematology*, 17, 725-732. doi:10.1163/15685411-00002905

Cid del Prado-Vera, I., Franco-Navarro, F., & Godinez-Vidal, D. (2018). Plant Parasitic Nematodes and Management Strategies of Major Crops in Mexico. En *Plant Parasitic Nematodes in Sustainable Agriculture of North America* (Vols. 1- Canada, Mexico and Western USA, págs. 31-68).

Cid del Prado-Vera, I., Tovar Soto, A., & Hernandez, J. (2001). Distribución de Especies y Razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(1), 32-39. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219105>

Contreras Arias, L., & Bustillo Pardey, A. (2019). Caracterización morfológica de cepas de hongos entomopatógenos de *Beauveria bassiana*, *Cordyceps spp.*, *Metarhizium spp.* y *Purpureocillium lilacinum*. *Cenipalma*.

Del Puerto Rodriguez, A., Suarez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Effects of pesticides on health and the environment. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3). ISSN 1561-3003

Díaz-Manzano, F., Amora, D., Martínez-Gómez, Á., Moelbak, L., & Escobar, C. (2022). Biocontrol of *Meloidogyne spp.* in *Solanum lycopersicum* using a dual combination of *Bacillus* strains. *Front Plant Sci.*, 13. doi:doi.org/10.3389/fpls.2022.1077062

Duddington, C. (1955). Fungi that attack microscopic animals. *The Botanical Review*, 21, 377-439. doi:doi.org/10.1007/BF02872434

- Ebone, L., Kovaleski, M., & Cardoso Deuner, C. (2019). Nematicides: history, mode, and mechanism action. *Plant Science Today*, 6(2). doi:doi.org/10.14719/pst.2019.6.2.468
- Eilenberg, J., Hajek, A., & Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology. *Kluwer Academic Publishers*, 387-400.
- Elling, A. (2013). Major Emerging Problems with Minor *Meloidogyne* Species. *Phytopathology*, 103(11), 92-102. doi:10.1094/PHYTO-01-13-0019-RVW
- Fawole, B., & Mai, W. F. (1979). Influence of Plant Age, Light Intensity, Nematode Inoculum Level, and Their Interactions on Tomato Growth and Reproduction of *Meloidogyne hapla*. *Journal of Nematology*, 11(2), 199-201.
- Galindo, E., Serrano-Carreón, L., Gutiérrez, C., Balderas-Ruíz, K., Muñoz-Celaya, A., Mezo-Villalobos, M., & Arooyo-Colín, J. (2015). Desarrollo histórico y los retos tecnológicos y legales para comercializar fungifree AB®, el primer biofungicida 100% mexicano. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 18(1), 52-60.
- Galindo, E., Serrano-Carreón, L., Roberto Gutiérrez, C., Allende, R., Balderas, K., Patiño, M., Jurado, C. (2013). The challenges of introducing a new biofungicide to the market: A case study. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(3). doi:10.2225/vol16-issue3-fulltext-6
- Gallego-Velásquez, J., Cardona-Bustos, N., & Restrepo-Betancur, F. (2014). Compatibilidad del hongo entomopatógeno *Purpureocillium* sp. cepa UdeA0106 con biocontroladores y productos fitosanitarios utilizados en cultivos de crisantemo. *Actualidades Biológicas*,

36(101), 173-187. Obtenido de  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0304-35842014000200008&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-35842014000200008&lng=en&tlng=es)

Gamalero , E., & Glick , B. (2020). The Use of Plant Growth-Promoting Bacteria to Prevent Nematode Damage to Plants. *Biology*, 9(11), 381. doi:10.3390/biology9110381

Garcia Corredor, D., Pulido Medellin, M., & Diaz Anaya, A. (2016). Uso de hongos nematófagos en el control biológico de nematodos gastrointestinales en ovinos. *Logos, Ciencia & Tecnología*, 7(2), 40-49. doi:doi.org/10.22335/rlct.v7i2.236

Gouy, M., Guindon, S., & Gascuel, O. (2010). SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular biology and evolution*, 27(2), 221-224. doi:<https://doi.org/10.1093/molbev/msp259>

Guzman Piedrabita, O. A., Castaño Zapata, J., & Villegas Estrada, B. (2012). Principales nematodos fitoparasitos y sintomas ocasionados en cultivos de importancia economica. *Agron*, 20(1), 38-50.

Hernández-Leal, T., López-Lima, D., & Carrión, G. (2016). Efecto de la aplicación del hongo nematófago *Purpureocillium lilacinum* sobre la disponibilidad de nutrimentos en un suelo agrícola y el rendimiento de *Avena sativa*. *Revista De La Facultad De Ciencias Agrarias UNCuyo*, 48(2), 1-12. Obtenido de  
<https://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/RFCa/article/view/3154>

Hugot, J.-P., Baujard, P., & Morand, S. (2001). Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study; an overview. *Nematology*, 3(3), 199-208.

Infoagro. (2018). *México: principal proveedor de alimentos en el mundo*. Obtenido de <https://mexico.infoagro.com/mexico-principal-proveedor-de-alimentos-en-el-mundo/>

Jimenez M., E. (2009). Metodos de control de plagas. *Nicaragua: Universidad Nacional Agraria* .

Jimenez Quintero, C., Pantoja Estada, A., & Ferey Leonel, H. (2016). Riesgos en la salud de agricultores por uso y manejo de plaguicidas, microcuenca “La Pila”. *Universidad y Salud*, 18(3), 417-431. doi:doi.org/10.22267/rus.161803.48

Jones, J., Haegerman, A., Danchin , E., H, Gaur , H., Helder, J., Perry, R. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 14(9), 946-961. doi:10.1111/mpp.12057

Kamalanathan, V., Sevugapperumal, N., & Nallusamy, S. (2023). Antagonistic Bacteria *Bacillus velezensis* VB7 Possess Nematicidal Action and Induce an Immune Response to Suppress the Infection of Root-Knot Nematode (RKN) in Tomato. *Genes*, 14(7). doi:10.3390/genes14071335

Khan, M., & Tanaka, K. (2023). *Purpureocillium lilacinum* for plant growth promotion and biocontrol against root-knot nematodes infecting eggplant. *PLOS ONE*, 18(3). doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283550

- Kiewnick, S., Karssen, G., Brito J, A., Oggenfuss, M., & Frey J, E. (2008). First Report of Root-Knot Nematode *Meloidogyne enterolobii* on Tomato and Cucumber in Switzerland. *Plant disease*, 92(9), 1370. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-92-9-1370A>
- Kiewnick, S., Neumann, S., Sikora, R., & Frey, J. (2011). Effect of *Meloidogyne incognita* inoculum density and application rate of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 on biocontrol efficacy and colonization of egg masses analyzed by real-time quantitative PCR. *Phytopathology*, 101(1), 105-12. doi:10.1094/PHYTO-03-10-0090
- López, D., & A.Espada, G. (27 de octubre de 2015). The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). *Biological Control*, 89, 53-60. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.010>
- Luangsa-ard, J., Houbraken, J., Van Doorn, T., Seung-Beom, H., Borman, A. M., Hywel-Jones, N., & Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Letters*, 321(2), 141-149. doi:[doi:doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x)
- Martínez Gallardo, J., Díaz Valdés, T., Allende Molar, R., García Estrada, R., & Carrillo Fasio, J. (2015). Primer reporte de *Meloidogyne enterolobii* parasitando tomate en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(spe11), 2165-2168. doi:<https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.786>

Martínez-Gallardo, J., Díaz-Valdés, T., Allende-Molar, R., Retes-Manjarrez<sup>3</sup>, J., & Carrillo-Fasio, J. (2019). Identificación y distribución de *Meloidogyne spp.* en tomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(2), 453-459.

Maughan, H., & Van Der Auwera, G. (2011). *Bacillus* taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(5), 789-797. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.02.001>

Mendoza de Gives, P., & Valero Coss, R. (2009). Uso de Hongos Nematófitos: Una herramienta biotecnológica para el control de nematodos parásitos del ganado. (1ra ed.). *Morelos*.

Moens, M., Perry, R., & Starr, J. (2009). *Meloidogyne* Species-a diverse group of novel and important plant parasites. En *Root-knot Nematodes* (págs. 1-15). Cabi.

Muñoz , A., Nasamuez, D., Prado, M., Florido, L., Suárez, J., Holguín, C., Laverde, A. (2021). Plagas y enfermedades de la guayaba (*Psidium guajava*) en Colombia. (Diego Perez Medina ed.). Colombia: *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia)*. doi:[doi.org/10.21930/agrosavia.investigation.7404579](https://doi.org/10.21930/agrosavia.investigation.7404579)

National Human Genome Research Institute (NHGRI). (s.f.). *Educational Resources*. Obtenido de Evolución: <https://www.genome.gov/>

Nesha, R., & A.Siddiqui, Z. (2017). Effects of *Paecilomyces lilacinus* and *Aspergillus niger* alone and in combination on the growth, chlorophyll contents and soft rot disease complex of

carrot. *Scientia Horticulturae*, 218, 258-264.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.027>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2001). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. *Colección FAO:Agricultura*.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2022). *El periplo del tomate: de ser una curiosidad venenosa a un ingrediente universal*. Obtenido de <https://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1479579/>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2020). *FAOSTAT*. Obtenido de <https://www.fao.org/faostat/es/#data>

Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la Agricultura. (2020). Glosario de terminos fitosanitarios.

Organizacion Mundial del Comercio. (1995). Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias.

Philbrick, A., Adhikari, T., Louws, F., & Gorny, A. (2020). *Meloidogyne enterolobii*, a Major Threat to Tomato Production: Current Status and Future Prospects for Its Management. *Frontiers* . doi:[doi.org/10.3389/fpls.2020.606395](https://doi.org/10.3389/fpls.2020.606395)

Procuraduría Federal del Consumidor. (2020). *Jitomate, versátil y nutritivo*. Obtenido de <https://www.gob.mx/profeco/articulos/jitomate-versatil-y-nutritivo?state=published>

- Quevedo, A., Magdama, F., Castro, J., & Vera-Morales, M. (2022). Interacciones ecológicas de los hongos nematófagos y su potencial uso en cultivos tropicales. *Scientia Agropecuaria*, 13(1), 97-108. doi:<https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.009>
- Rabbee, M., Ali, M., Choi, J., Hwang, B., Jeong, S., & Baek, K. (2019). *Bacillus velezensis*: A Valuable Member of Bioactive Molecules within Plant Microbiomes. *Molecules*, 24(6). doi:<https://doi.org/10.3390/molecules24061046>
- Ramírez-Suárez, A., Rosas-Hernández, L., Alcasio-Rangel, S., & Powers T, O. (2014). First Report of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne enterolobii* Parasitizing Watermelon from Veracruz, Mexico. *lant disease*, 98(3), 428. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-06-13-0636-PDN>
- Reza Moosavi, M., & Zare, R. (2012). Fungi as Biological Control Agents of Plant-Parasitic Nematodes. En J. Merillon, & K. Gopal Ramawat, *Plant Defence: Biological Control* (Vol. 12, págs. 67-80). Springer Science. doi:10.1007/978-94-007-1933-0
- Romero Bastidas, M., Macías Curiel, M., Carrillo Fasio, A., Rojas Contreras, M., Hernández Rubio, J., & Duarte Osuna, J. (2019). Identificación y distribución de especies de *Meloidogyne* en Baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(1), 337-349.
- Ruiz-Garcia, C., Bejar, V., Martínez-Checa, F., Llamas , I., & Quesada, E. (2005). *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Vélez in

Málaga, southern Spain. *Int J Syst Evol Microbiol*, 55(Pt 1), 191-195.  
doi:10.1099/ijms.0.63310-0

Sagües, M., Purslow, P., Fernandez, S., Fusé, L., Iglesias, L., & Saumell, C. (2011). Hongos nematófagos utilizados para el control biológico de nematodos gastrointestinales en el ganado y sus formas de administración. *Revista Iberoamericana de Micología*, 28(4), 143-147. doi:10.1016/j.riam.2011.06.009

Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.  
doi:<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>

Salinas-Castro, A., Navarro de la Fuente, L., Tapia-Vázquez, I., & López-Lima, D. (2022). First report of *Meloidogyne enterolobii* on chard (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) and carrot (*Daucus carota*) in México. *J Plant Dis Prot*, 129, 1263-1268.  
doi:<https://doi.org/10.1007/s41348-022-00636-1>

Sanchez Protillo, J., Lugo Garcia, G., Mundo Ocampo, M., Reyes Olivas, A., de Ley Tandingan, I., & Ole Becker, J. (2016). Search and isolation of nematophagous fungi vs *Meloidogyne* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(12), 1829-1839. Obtenido de ISSN 2007-0934

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020). *México y sus exportaciones*. Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/mexico-y-sus-exportaciones>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2022). *México, referente mundial en el cultivo y exportación de jitomate: Agricultura*. Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/mexico-referente-mundial-en-el-cultivo-y-exportacion-de-jitomate-agricultura>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2024). *Rompen récord exportaciones agroalimentarias en 2023, superan los 51 mil mdd: Agricultura*. Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/rompen-record-exportaciones-agroalimentarias-en-2023-superan-los-51-mil-mdd-agricultura>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2017). *Tomate rojo o jitomate: ¿cómo lo llaman donde radicas?* Obtenido de <https://www.gob.mx/siap/articulos/tomate-rojo-o-jitomate-como-lo-llaman-donde-radicas#:~:text=Es%20originario%20de%20los%20bajos,nombres%3A%20tomate%20rojo%20y%20jitomate>.

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2019). *Manual para el Buen Uso y Manejo de Plaguicidas en Campo*. Obtenido de <https://www.gob.mx/senasica/documentos/manual-para-el-buen-uso-y-manejo-de-plaguicidas-en-campo?state=published>

Shi, H., Zhang, C., Zhao, J., Li, Y., Li, J., Zeng, Z., & Gao, L. (2022). Cold stress reduces lifespan and mobility of *C. elegans* by mediating lipid metabolism disorder and abnormal stress. *PubMed*, 42(8), 1159-1165. doi:10.12122/j.issn.1673-4254.2022.08.07. PMID: 36073214

- Silva, S. D., Carneiro, R. M., Faria, M., Souza, D. A., Monnerat, R. G., & Lopes, R. B. (2017). Evaluation of *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* for Suppression of *Meloidogyne enterolobii* on Tomato and Banana. *Revista de Nematología*, 49(1), 77-85. doi:10.21307/jofnem-2017-047
- Singh, S., Singh, B., & Singh, A. (2015). Nematodes: A Threat to Sustainability of Agriculture. *Procedia Environmental Sciences*, 29, 215-216. doi:<https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.07.270>
- Su , H., Hao, Y., Mo, M., & Zhang, K. (2007). The ecology of nematode-trapping hyphomycetes in cattle dung from three plateau pastures. *Veterinary Parasitology*, 144(3), 293-298. doi:[doi:doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.10.012](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.10.012)
- Swe, A., Li, J., Zhang, K., Pointing, S., Jeewon, R., & Hyde, K. (2011). Nematode-Trapping Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 1(1), 1-26. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/230757306\\_Nematode-Trapping\\_Fungi](https://www.researchgate.net/publication/230757306_Nematode-Trapping_Fungi)
- Talavera Rubia, M. (2003). Manual de nematología agrícola (Introducción al análisis y al control nematológico para agricultor y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal). Institut de Recerca i Formació agrària i pesquera.
- Talavera Rubia, M., & Verdejo Lucas, S. (2015). Gestion de nematodos fitoparasitos.

- Talavera, G., & Castresana, J. (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic biology*, 56(4), 564-577. doi:<https://doi.org/10.1080/10635150701472164>
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular biology and evolution*, 10(3), 512-526. doi:<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
- Tapia-Vázquez, I., Montoya-Martínez, A., De Los Santos-Villalobos, S., Ek-Ramos, M., Montesinos-Matias, R., & Martínez-Anaya, C. (2022). Root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*) a threat to agriculture in Mexico: biology, current control strategies, and perspectives. *World J Microbiol Biotechnol*, 38(2). doi:10.1007/s11274-021-03211-2.
- Taylor, A. L., & Sasser, J. N. (1978). Biology, identification and control of rootknot nematodes (*Meloidogyne species*). North Carolina State University, USAID, NC Graphics, Raleigh.
- Taylor, A. L., & Sasser, J. N. (1983). Biología, identificación y control de los nemátodos de nódulo de la raíz. Raleigh, USA, Universidad del Estado de Carolina del Norte.
- Thanh Tam, L. T., Jähne, J., Luong, P. T., Phuong Thao, L. T., Nhat, L. M., Blumenscheit, C., Borriss, R. (2023). Two plant-associated *Bacillus velezensis* strains selected after genome analysis, metabolite profiling, and with proved biocontrol potential, were enhancing harvest yield of coffee and black pepper in large field trials. *Frontiers in Plant Science*, 14(1194887). doi:10.3389/fpls.2023.1194887

- Tian, X., Zhao, X., Zhao, S., Zhao, J., & Mao, Z. (2022). The Biocontrol Functions of *Bacillus velezensis* Strain Bv-25 Against *Meloidogyne incognita*. *Front Microbiol*, 13. doi:10.3389/fmicb.2022.843041
- Trudgill, D., & Blok, V. (2001). Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual review of phytopathology*, 39, 53-77. doi:10.1146/annurev.phyto.39.1.53
- Van den Hoogen, J., Geisen, S., & Routh, D. (2019). Oil nematode abundance and functional group composition at a global scale. *Nature*, 572, 194-198. doi:doi.org/10.1038/s41586-019-1418-6
- Van Driesche, R., Hoddle, M., & Center, T. (2007). Control de plagas y malezas por enemigos naturales. *FHTET*.
- Villar-Luna, E., Gómez-Rodríguez, O., Rojas-Martínez, R., & Zavaleta-Mejía, E. (2016). Presence of *Meloidogyne enterolobii* on Jalapeño pepper (*Capsicum annuum* L.) in Sinaloa, Mexico. *Helminthologia*, 53(2), 155-160. doi:10.1515/helmin-2016-0001
- Wang , C., Zhao, D., Qi, G., Mao, Z., Hu, X., Du, B., Ding, Y. (10 de junio de 2020). Effects of *Bacillus velezensis* FKM10 for Promoting the Growth of *Malus hupehensis* Rehd. and Inhibiting *Fusarium verticillioides*. *Front Microbiol*, 10. doi://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02889

- Wei, L., Shao, Y., Wan, J., Feng, H., Zhu, H., Huang, H., & Zhou, Y. (2014). Isolation and Characterization of a Rhizobacterial Antagonist of Root-Knot Nematodes. *PloS one*, 9(1). doi:doi.org/10.1371/journal.pone.0085988
- Wu, W., Zeng, Y., Yan, X., Wang, Z., Guo, L., Zhu, Y., & He, X. (2023). Volatile Organic Compounds of *Bacillus velezensis* GJ-7 against *Meloidogyne hapla* through Multiple Prevention and Control Modes. *Molecules.*, 28(7). doi:10.3390/molecules28073182. PMID: 37049944
- Yang, J., Tian, B., Liang, L., & Zhang, K.-Q. (2007). Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75, 21-31. doi:doi.org/10.1007/s00253-007-0881-4
- Ye W, M., Koenning S, R., Zhuo, K., & Liao J, L. (2013). First Report of *Meloidogyne enterolobii* on Cotton and Soybean in North Carolina, United States. *Plant disease*, 97(9), 1262. doi:https://doi.org/10.1094/PDIS-03-13-0228-PDN
- Zelaya-Molina, L., Chávez-Díaz, I., De los Santos-Villalobos, S., Cruz-Cárdenas, C., Ruíz-Ramírez, S., & Rojas-Anaya, E. (2022). Control biológico de plagas en la agricultura mexicana. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(spe27), 69-79. doi:https://doi.org/10.29312/remexca.v13i27.3251
- Zepeda-Jazo, I. (2018). Manejo sustentable de plagas agrícolas en México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 15(1), 99-108. Obtenido de

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-54722018000100099&lng=es&tlng=es.](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722018000100099&lng=es&tlng=es)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD  
DE CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
Licenciatura en Biología, Programa Educativo de Calidad.

Cuernavaca, Mor., 03 de mayo del 2024

**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: **C. LUZ ELENA LUGO GARCÍA**, con el título del trabajo: **BIOCONTROL DE NEMATODOS AGALLADORES *Meloidogyne enterolobii*, POR UN CONSORCIO MICROBIANO.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*

**JURADO REVISOR**

**FIRMA**

PRESIDENTE: DR. JORGE LUIS FOLCH MALLOL

SECRETARIO: DRA. MARIA DEL RAYO SÁNCHEZ CARBENTE

VOCAL: DRA. IRÁN TAPIA VÁZQUEZ

SUPLENTE: DR. VICTOR MANUEL HERNÁNDEZ VELAZQUEZ

SUPLENTE: DR. ALEJANDRO SALINAS CASTRO

---

---

---

---

---



Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209, Unidad Biomédica,  
Tel. (777) 329 7047, 329 7000, Ext. 3527 / titulaciones.biologia@uaem.mx

**UAEM**  
RECTORÍA  
2023-2029



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

**VICTOR MANUEL HERNANDEZ VELAZQUEZ | Fecha:2024-05-03 11:45:24 | FIRMANTE**

jFhOo2VJz49Bq28Gi/UUBuWvq5yFu+ifHhV5uvFNtpL5SPLg3QkliWrilUVqg3mm7/zHN9Vof4GclDyKKNT0N8CjL8jETkCeEL4SuwkwUKGwupLSU2Yi02Tv/A7cVBjutg55SYgPUIx2WZfovVf8OHrIAyIOtbuCnUSJt4fcT7W/d6U/vlv9E7+T9RID8ofMa2KpO2qX/qTE0mlg/Y9wAuxaxVWA8xBjIKnckesfUsDWD5WrW8WffOF4wmV3eJz1Mfn+/xt1e/twQCwCEBNfefG38uWnp74YS/Sj42g09bCFdOPXOeqeumK84RAkzEyHMKd7DQFhbJ5ol+S0YJrtg==

**JORGE LUIS FOLCH MALLOL | Fecha:2024-05-03 14:03:02 | FIRMANTE**

Gey2ZcWo/jKQH0kFE0vXKVHuG8knl+Vq1OrS72Ev7clZra5dRnK0Y5kNSq6hyYJMR9oEyuVmE+PZpzV5ZfZ7NyGIR27bGISGWutMKfN7PWFkah1Q7+2aVDc7i75HK9a9+p07+0qQ6z2DQ+p+Cgd13pNYT350lbCcai0xmMB4hoRntlfRn1Zdp2yT+8PEOP7YdsBkqy/9yyr/7nt7EHUdBFkioR0RA0J2K04Yml75EPr9GJQBfWq8VY5F8O1pcur1B6+iyiq6Kq9GFghvNhu/9s7CVU/HoFg2HOR3aC0j3v92pg8Ve0wQOtqOeyChD6G/+OrBdDP8/DsWTLQrfXw==

**MARIA DEL RAYO SANCHEZ CARBENTE | Fecha:2024-05-05 13:14:42 | FIRMANTE**

FyWxIMDYndjHt2FoteU/ei1adOdoiV5ZLGsNGfc1oAbmPRXJ5m+Y9CQMJSxYR+rMB4BV9Q8LXeR5fjLCP1VhCuJbvQyQM3mn33c79SDXzsWNkfe34KpBOIK6e918+q5B6qfz/Ubjmc+0dUnx7XfOY2Vvef+Zr0q9rMiEZGtBQmsl+IrmagujZpbOZv2B3wTjKAbI0rzy5UvkDvNc9QzN3TwwFuV4hHhbkL3RKvZCPXpgOqq3TAuk5BrN2BDw0NRq92m3Buyfbc17hrb+FbW+/WNynQoA0q3xs+hLgZGalTnZrXIOIzICy2iy87TwhHwW/FsBf2cFpDrbf0AC/A==

**ALEJANDRO SALINAS CASTRO | Fecha:2024-05-05 16:42:09 | FIRMANTE**

QRcRA9HiLhVQU0WmvWdPW97G3PjWtQXX+dadTwmDLPFKFLag9ippyUNM+p8mjByofR5w9msAsJyijYNsVRvwoRD/P8hiwWTWgkjlWJQtE892/r23dcY4359E2qsBOEMqdp15l/cWPkKUYxfk6AUZ6jld1SBArjq18gr9h8MgCeGWJ+KPalgCkvEOBpyKdx35H0wuFBB0iS7xFXVyoE10AZ6l7eVM+JZesMaxFTcEk9SPdHTTyVBUh3n/A1tUJPT/LqdzSZxuVGt4PhxALxK4+KfiApT+K/H6tk4jkqCpb3R/bmytj+n2E0qUu7fdqJ6jQFCqv2+JPXKsSLmNr2Fg==

**IRAN TAPIA VAZQUEZ | Fecha:2024-05-06 19:08:44 | FIRMANTE**

ENoB1CxI/e7Nuz1gykeXf8JU0YaDFFDrdcSvNeP+rm/inhy10K6Qipi4ZE+0fifMsKhVx3qzghioUvFpMERa9aGJAahmaj9TW0k+6680RsD8nie2SEISDaHiC6CtN1p1XVeKsYXPEC+FmwXwWbhOXpQs+3f/0h7CNMayVdzOXZmEO5+g2agc2s1li3QxyHB/vbmTqX7rXUX6PyRH7YDyC8r4RCY39Bdj7FT6u3D0Zj+B4E5cAfMch9yFL0q/L4HP3gi3lcPDWghv8ON+FowfdBOKf572D6iTDhOv+OSejvoELiTi8I5kd6WnrGWIGJS5HDILNi6emro28+L/onXq==

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



**MEed2zVas**

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/fpUto8Vvcqo8RcQDhzW0n59st9Qdcx9a>



UAEM  
RECTORÍA  
2023-2029