

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Efecto Nematicida de Filtrados Bacterianos, sobre *Meloidogyne incognita* bajo Condiciones *in Vitro* e Invernadero en Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill).

Por:

PEDRO DE JESÚS TORRES HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Febrero de 2020.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Efecto Nematicida de Filtrados Bacterianos, sobre *Meloidogyne incognita* bajo
Condiciones *in Vitro* e Invernadero en Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).

Por:

PEDRO DE JESÚS TORRES HERNÁNDEZ

TESIS

Presentando como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

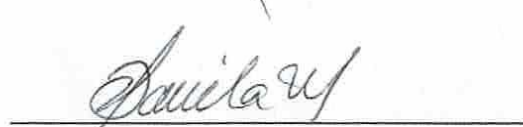
Aprobado por el Comité de Asesoría:



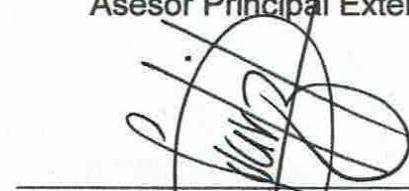
Dr. Melchor Cepeda Siller
Asesor Principal Interno



Dra. Fabiola Garrido Cruz
Asesor Principal Externo



Dra. Miriam Desiree Dávila Medina
Coasesor



Dr. Agustín Hernández Juárez
Coasesor



Dr. José Antonio González Fuentes
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Febrero de 2020.



AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios, por darme la oportunidad de vivir y darme unos padres que son únicos y por amarme tanto y regalarme estos cuatro años y medio que hoy reflejan el primer fruto, de muchos que vendrán, gracias a la vida porque cada día me demuestra lo hermosa que es y lo justa que puede llegar a ser.

Las infinitas gratitudes son para ustedes papás, por darme la vida, una maravillosa formación y todo el infinito amor para que pudiera salir adelante. Muchísimas gracias por creer en mí, por los valores inculcados. Este logro es gracias a ustedes, mil gracias papas que Dios siempre este en su camino y me los ilumine hoy, mañana y siempre.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por ser mi Alma Mater, por haberme permitido formarme como profesionista y darme las armas para llenar mi vida de éxitos en el ámbito laboral, gracias a todas las personas que fueron partícipes de este proceso, que el día de hoy se vería reflejado en la culminación de mi paso por la universidad.

Al Dr. Melchor Cepeda Siller por haberme permitido en darme la oportunidad de realizar el presente trabajo, por darme la confianza y apoyo brindado, muchas gracias por todo.

A la Dra. Fabiola Garrido Cruz que con sus conocimientos y apoyo incondicional logre la culminación de mi trabajo de titulación, gracias por su valioso tiempo y dedicación. Además como persona es invaluable, gracias la aprecio mucho, que su vida este llena de satisfacciones junto a sus seres queridos.

A la Dra. Miriam Desireé Dávila Medina que fue pieza clave en la elaboración de este trabajo, gracias por su tiempo y dedicación.

A mis compañeros y amigos, por todos los momentos buenos, el apoyo, el compañerismo, la amistad y la convivencia brindada durante estos años de

formación. A todas aquellas personas que me brindaron su apoyo cuando más los necesite, muchas gracias por todo.

DEDICATORIA

Agradecimiento a Dios Padre por el regalo de la vida:

Bendito sea tu nombre, Dios todo poderoso que has creado la vida para tu placer y tu gloria.

Para ti Mamá:

Araceli Hernández García

Gracias mamá por darme la vida, tus esfuerzos son impresionantes y tu amor es para mí invaluable, eres la razón de mi existencia. Junto con mi padre me has educado, me has proporcionado todo y cada cosa que he necesitado. Eres uno de los cimientos más importante en mi vida. Gracias mamá.

Papá:

Roque Torres Gómez

Por qué siempre has querido formar en mí un hombre de bien. Gracias por ser un buen ejemplo de vida para mí, papá eres el mejor hombre que he conocido, eres mi admiración, gracias a ti por no esperar nada de mí, aun que te lo debo todo. Las ayudas que me has brindado han formado bases de gran importancia, ahora soy consciente de eso, Gracias por ser mi padre.

A mis hermanos:

José Abel y Luis Armando, gracias por esos recuerdos bonitos de la infancia y cada momento compartido y hoy les doy gracias por estar pendiente de mí, en este logro más de mi vida, gracias por sus palabras de motivación. Gracias le doy a dios por tenerlos.

Para mi esposa:

Mi tesis le dedico con todo mi amor y cariño a mi esposa Yesenia G. Castellanos; gracias por el amor que me tienes, por apoyarme en los momentos difíciles. Gracias por compartir conmigo este camino lleno de retos y metas. Ahora quiero compartir, uno de mis otros logros contigo; gracias por llegar a mi vida, por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar para que en la vida nos espere un futuro mejor. Te amo mis pocitos.

A mis abuelos:**Lucefina García Gómez y Carmen Samuel Hernández Méndez**

Gracias por ser mis abuelitos, gracias a ustedes tengo a mi madre quien es una de las personas que mas amo en esta vida, gracias por cuidarla, gracias por los buenos consejos cuando mas los necesitaba, que dios los tenga en su santa gloria.

Patrocinia Gómez Liévano y Pedro Torres Sánchez

Gracias a ti abuelita por tus buenos consejos, por el apoyo incondicional que me dio cuando mas lo necesitaba, perdón por hacerla enojar en la niñez, gracias por su paciencia, hoy le doy gracias a dios por darme la mejor abuelita del mundo, se que esta en un lugar mejor donde no existe sufrimiento alguno, siempre la voy a extrañar, que dios la tenga en su santa gloria. La amo abuelita (Mi cachetona).

A ti abuelito, gracias por estar con nosotros, por apoyarme incondicionalmente, gracias por estar pendiente en cada etapa de mi vida, quiero que sepa que siempre estaré pendiente de usted, nunca me olvido de sus buenos consejos, lo quiero mucho abuelito..

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Pág. |
|--|------|
| AGRADECIMIENTO | ii |
| DEDICATORIA..... | iv |
| ÍNDICE DE CUADROS | viii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | ix |
| RESUMEN | xi |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| Justificación | 3 |
| Objetivo General | 3 |
| Objetivos Específicos..... | 3 |
| Hipótesis | 3 |
| REVISION DE LITERATURA..... | 4 |
| Tomate (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill)..... | 4 |
| Clasificación taxonómica del Tomate..... | 4 |
| Importancia del Tomate | 5 |
| Plagas y Enfermedades | 6 |
| Nematodos..... | 6 |
| Nematodos en el Cultivo de Tomate | 7 |
| <i>Meloidogyne</i> sp..... | 8 |
| Clasificación Taxonómica del Género <i>Meloidogyne</i> | 9 |
| Ciclo Biológico | 9 |
| Sintomatología | 10 |
| Manejo | 11 |
| Control Cultural | 11 |
| Barbecho | 11 |
| Rotación de cultivos | 12 |
| Solarización del suelo..... | 12 |
| Control Químico | 12 |
| Extractos de plantas | 14 |

| | |
|--|----|
| <i>Bacillus</i> spp. | 15 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 16 |
| Localización del Área de Estudio | 16 |
| Muestreo de Nematodos Fitoparásitos | 16 |
| Extracción de Nematodos por Medio del Embudo de Baermann..... | 17 |
| Identificación | 18 |
| Preparación de Tratamientos..... | 18 |
| Obtención de Extractos..... | 18 |
| Determinación de la actividad nematocida de extractos bacterianos | 19 |
| Diseño estadístico..... | 20 |
| Evaluación de los mejores tratamientos a nivel invernadero | 21 |
| Pasteurización de sustratos..... | 21 |
| Preparación de plántulas de tomate | 21 |
| Inoculación de Plantas..... | 23 |
| Evaluación de la actividad nematocida bajo condiciones de invernadero ... | 24 |
| Diseño estadístico..... | 24 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 25 |
| Identificación de nematodos | 25 |
| Evaluación de extractos bacterianos sobre juveniles de <i>Meloidogyne incognita</i> bajo condiciones de laboratorio. | 26 |
| Evaluación de extractos sobre juveniles de <i>Meloidogyne incognita</i> en plántulas de tomate bajo condiciones de invernadero. | 29 |
| Vigor de las plantas | 29 |
| Análisis del número de hojas en plantas de tomate | 29 |
| Altura de tallo..... | 30 |
| Diámetro del tallo..... | 30 |
| Longitud de la raíz | 31 |
| Evaluación de efectividad biológica de extractos bacterianos en el control de juveniles de <i>Meloidogyne incognita</i> en plantas de tomate. | 33 |
| Índice de agallamiento radicular | 34 |
| CONCLUSIÓN | 36 |
| LITERATURA CITADA..... | 37 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | Pág. |
|--|------|
| 1. Distribución de los tratamientos en bloques completos al azar | 20 |
| 2. Estimación del daño por escalas. | 24 |
| 3. Distribución de los tratamientos en bloques completamente al azar. | 24 |
| 4. Resultado de efectividad de extractos sobre J ₂ de <i>Meloidogyne</i> <i>incognita</i> a las 24 h, bajo condiciones de laboratorio. | 27 |
| 5. Resultado de efectividad de extractos sobre J ₂ de <i>Meloidogyne</i> <i>incognita</i> a las 48 h, bajo condiciones de laboratorio. | 27 |
| 6. Resultado de efectividad de extractos sobre J ₂ de <i>Meloidogyne</i> <i>incognita</i> a las 72 h, bajo condiciones de laboratorio. | 27 |
| 7. Comparación de medias en la evaluación del índice de agallamiento radicular con la aplicación de extractos de bacterias bacilares, en plantas de tomate (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill)..... | 34 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|------|
| 1. Ciclo de vida del Género <i>Meloidogyne</i> sp. | 10 |
| 2. Muestreo de nematodos..... | 16 |
| 3. Embudo de Baermann | 17 |
| 4. Fermentación de cepas bacterianas. | 18 |
| 5. Extracción de metabolitos. | 19 |
| 6. Tratamientos en cajas de cultivo celular. | 20 |
| 7. Pasteurización de sustrato | 21 |
| 8. Siembra de semillas en charolas..... | 21 |
| 9. Tamizado de raíces para extracción de huevecillos de nematodos <i>Meloidogyne incognita</i> | 23 |
| 10. Hembra <i>Meloidogyne incognita</i> extraída del nódulo radical..... | 25 |
| 11. Juvenil sano de <i>Meloidogyne incognita</i> | 25 |
| 12. Nematodo <i>Meloidogyne incognita</i> afectado por <i>Bacillus</i> sp. | 26 |
| 13. Nematodo <i>Meloidogyne incognita</i> afectado por M8. | 26 |
| 14. Nematodo <i>Meloidogyne incognita</i> afectado por M13. | 26 |
| 15. Medias en la evaluación del número de hojas de plantas de tomate <i>(Lycopersicum esculentum</i> Mill) en la UAAAN. | 29 |
| 16. Comparación de medias en la evaluación de la altura del tallo con la aplicación de extractos de bacterias bacilares. | 30 |

| | |
|---|----|
| 17. Comparación de medias en la evaluación del diámetro del tallo con la aplicación de extractos de bacterias bacilares. | 31 |
| 18. Medias en la evaluación de la longitud de la raíz con la aplicación de extractos de bacterias bacilares. | 31 |
| 19. Ausencia de agallas en raíces de plantas de tomate (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill) tratadas con extractos bacterianos..... | 33 |
| 20. Presencia de agallas en raíces de plantas de tomate (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill) no tratadas..... | 33 |
| 21. Medias en la evaluación del índice de agallamiento radicular con la aplicación de extractos de bacterias bacilares, en plantas de tomate (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill). | 34 |

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la efectividad biológica de los extractos bacterianos para el control de *Meloidogyne Incognita* en el cultivo de tomate, bajo condiciones *in vitro* e invernadero.

La primer etapa se desarrollo en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UA de C. La segunda etapa en el laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología y en el invernadero #2 de Fitotecnia, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Para la determinación de la efectividad de los extractos bacterianos bajo condiciones *in vitro*, se utilizaron cajas de cultivo celular de 24 pozos, se colocaron los extractos a dos concentraciones (50 y 100%) y una suspensión de nematodos *M. incognita* (alrededor de 15-20 J₂). Los extractos mostraron efectos sobre los nematodos en las concentraciones del 100%, a las 24 h se observó una mortalidad del 100% por lo tanto los resultados estadísticos no fueron significativos, mientras que en la concentración del 50% se evaluaron a las 24, 48 y 72 h de exposición. Se observó bajo el microscopio compuesto daños en la cutícula, gránulos internos y deformaciones. presentó mortalidad a partir de las 24 h, siendo los tratamientos M8 y M13 con 100 %, mientras que *Bacillus* sp. con un 27%, posteriormente incremento a un 90 % a las 72 h.

Los mismos fueron evaluados bajo condiciones de invernadero donde se inocularon las plantas con una suspensión de huevecillos *M. incognita*. Después de 10 días se procedió a la aplicación de extractos bacterianos Y 60 días después de la inoculación se determinaron diferentes valores agronómicos, aplicando el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey;

El análisis del número de hojas mostró diferencia numérica, mas no diferencia estadística, comparada con el testigo.

En la evaluación de la altura y diámetro del tallo se demostró que a pesar de no haber diferencia estadística, presentaron diferencias en las medias, en la altura el testigo presentó una media de 39.2 cm y *Bacillus* sp. fue el de menor tamaño con 30.8 cm, en el diámetro del tallo el testigo con media de 5.14 y *Bacillus* sp. fue el de menor tamaño con una media de 4.57.

La comparación de medias de longitud de la raíz demostró los resultados de *Bacillus* sp. con una media de 36.020000 cm, numéricamente resultó tener mayor valor de longitud, seguido por los tratamientos T3 con media de 32.939999 y T4 con media de 32.900002 y el T2 con menos valor numérico con media de 27.840000.

Se evaluó la actividad nematocida basándonos en la estimación del daño en las raíces, empleando la escala de 1 a 9. En los resultados se demostró que el tratamiento M13 fue el mejor, con una media de 4.2, seguido por el tratamiento M8 con media de 5.8 y *Bacillus* sp. con una media de 6.6, comparado con el testigo que mostró el mayor índice de agallamiento radicular.

Palabras claves:

Bacillus sp., *Meloidogyne incognita*, control biológico, *Lycopersicon esculentum* Mill.

INTRODUCCIÓN

El nematodo *Meloidogyne* sp. es la plaga más importante en el cultivo de tomate. Los nematodos se propagan fácilmente por movimiento de tierra o material vegetal infestado, así como los equipos de campo, el agua y los trasplantes infestados. Estos nematodos se alimentan de las raíces, ocasionando una absorción reducida de agua y nutrientes. Los síntomas de este parasitismo incluyen el desarrollo de áreas de raíces inflamadas, llamadas agallas de raíz. Presentan una forma esférica o largada y varían en tamaño dependiendo de las especies de *Meloidogyne* presentes (Jones *et al.*, 2014).

Esta situación se presenta en el ámbito internacional, donde *Meloidogyne* sp. se considera una limitante de las producciones de hortalizas bajo cultivo protegido (Greco y Esmeniaud, 2004; Verdejo, 2015).

La técnica de control principal implica el uso de nematicidas químicos; sin embargo, las consecuencias negativas de estos productos para el medio ambiente y su ineficiencia después del uso a largo plazo, han resultado en la prohibición o restricción de varias moléculas empleadas. Por lo tanto, existe un requisito cada vez mayor para desarrollar métodos alternativos no químicos para el manejo del nematodo de nudo de raíz (Huang *et al.*, 2016).

Se han realizado estudios de forma exitosa con diferentes antagonistas naturales de nemátodos, y revelando resultados prometedores como agentes de control biológico (Dallempole-Giaretta *et al.*, 2014).

El uso de microorganismos en el control biológico de patógenos causantes de enfermedades en los cultivos, constituye una alternativa eficiente y ecológica que contribuye al desarrollo de una agricultura sostenible, ya que disminuye los efectos inherentes al uso de productos químicos (Ruiz-Sánchez *et al.*, 2014).

Se ha demostrado que las bacterias del género *Bacillus* presentan un gran potencial como antagonistas, principalmente por la gran cantidad de enzimas líticas, antibióticos y otras sustancias con actividad biocida, que son capaces de producir efectos de control sobre varias especies de organismos fitopatógenos (Sosa *et al.*, 2005; Castillo-Reyes *et al.*, 2015).

Los metabolitos bacterianos pueden ser una alternativa a los nematocidas químicos. Actualmente, se investiga el uso de otras especies de bacterias y hongos eficaces para el control biológico (Liu *et al.*, 2014).

Justificación

Debido al impacto negativo del uso irracional de nematicidas químicos para el control de *Meloidogyne incognita* se evaluaron filtrados de extractos bacterianos, como una alternativa que no represente riesgo para la salud y al ecosistema.

Objetivo General

Evaluar el efecto nematicida de filtrados libres de extractos bacterianos, sobre juveniles de *Meloidogyne incognita* bajo condiciones *in vitro* e invernadero.

Objetivos Específicos

Extracción e identificación de *Meloidogyne incognita*.

Evaluación de filtrados bacterianos sobre juveniles de *Meloidogyne incognita* bajo condiciones *in vitro*.

Evaluación del efecto nematicida de los tratamientos de extractos bacterianos, en plántulas de tomate infectadas con *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de invernadero.

Evaluación de los efectos de los tratamientos sobre variables agronómicas en plántulas de tomate.

Hipótesis

Los extractos bacterianos presentaron una disminución en la población de *Meloidogyne incognita* a si como un efecto positivo en las variables agronómicas evaluadas.

REVISION DE LITERATURA

Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill)

El tomate es una de las hortalizas más difundidas en todo el mundo con alto valor económico, ya que representa 30% de la producción hortícola a nivel mundial. Su demanda aumenta considerablemente y con ella su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción en los últimos años, se debe principalmente al rendimiento e incremento de la superficie cultivada (Sánchez López *et al.*, 2012 citado por Valdepeña, 2017).

Clasificación taxonómica del Tomate

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Solanum*

Especie: *lycopersicum*

(Semillaria, 2015).

Importancia del Tomate

El tomate se encuentra distribuido por todo el mundo y es la segunda hortaliza, después de la papa, con mayor importancia económica a nivel mundial. El tomate no se comercializa únicamente para el mercado en fresco, también se usa en la industria para sopas, concentrados, jugos, salsas, etc. Es una fuente importante de nutrientes como licopeno, β -caroteno y vitamina C, los cuales tienen un impacto positivo en la salud humana y su producción al igual que su consumo va en incremento a medida que la población mundial aumenta (Bergougnoux, 2014).

En el ámbito nacional, el tomate es la hortaliza mayor sembrada y consumida, se caracteriza por ser un cultivo intensivo, realizado durante todo el año por pequeños y medianos productores y cuya producción se concentra en el Valle Central de México (López y Quirós, 2016).

La producción mundial de tomate está en constante crecimiento, no solo por el aumento de las áreas cultivadas, sino también porque los agricultores aplican tecnologías que les permiten elevar los rendimientos (Díaz, 2014).

El 90 % de la producción se realiza a campo abierto (época seca) o en un ambiente semiprotegido (época lluviosa), mientras que el 10 % restante se efectúa en un ambiente protegido (López, 2016).

En México, la producción de tomate rojo creció a una tasa promedio anual de 4.8 % entre 2006 y 2016, para ubicarse en un máximo histórico de 3.3 millones de toneladas. En 2016, el 56.3 % de la producción nacional de tomate se concentró en cinco entidades: Sinaloa (27.6 %), San Luis Potosí (9.2 %), Michoacán (7.0 %), Baja California (6.7 %), y Zacatecas (5.7 %). El tomate rojo mantiene su importancia y dinamismo en el comercio exterior agropecuario del país (FAO, 2017).

Plagas y Enfermedades

Uno de los problemas que más afecta la producción de tomate en México es el control de plagas y enfermedades. No solo por aumentar los costos del cultivo, sino que también ocurre cierta resistencia a los productos químicos por parte de las plagas cuando estas eran controladas aceptablemente con los mismos productos años atrás (Alarcón y Bolkan, 1994).

Algunos de los cultivares de tomate que se comercializan en el país son resistentes a varias enfermedades, como la marchitez por *Verticillium* sp, *Fusarium* raza 1 y 2, el virus del mosaico del tabaco, el virus del mosaico del tomate (ToMV), *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne javanica*, cáncer del tallo por *Alternaria* sp, *Stemphyllium* sp, *Cladosporium fulvum* y el virus de la cuchara (TYLCV), aunque son susceptibles a *Ralstonia solanacearum*, *Fusarium oxysporum* (Fernández, 2016).

Existen muchos microorganismos (bacterias, hongos y virus) asociados con el tomate, algunos son beneficiosos, mientras que muchos representan agentes patógenos de la planta (Kliot *et al.*, 2014).

Nematodos

Los nematodos son microorganismos pluricelulares con cuerpo vermiforme (forma de gusano), semitransparentes, carecen de sistema circulatorio y respiratorio, y tienen una cutícula hialina con marcas o estrías, la cual muda en cada etapa larvaria. Estos organismos son redondeados, miden de 300 a 1000 μm de largo y de 15 a 35 μm de ancho, cuentan con cavidad oral y de acuerdo con el género presentan un estile hueco coloquialmente llamado lanza, mientras que otros géneros tienen el estilete sólido modificado. El estilete es una estructura de los nematodos que les permite perforar las células de la planta y extraer los nutrientes, causando enfermedades en diversos cultivos (Flores *et al.*, 2010; Guzmán *et al.*, 2013).

Los nematodos comprenden uno de los grupos más ricos en especies del reino animal y, en términos de biomasa, constituyen uno de los grupos más numerosos, pues pueden encontrarse hasta 20, 000, 000 de individuos por metro cuadrado (INTAGRI, 2017).

Estos organismos se ubican en todo el mundo, pero con mayor frecuencia y abundancia en regiones con clima cálido e inviernos cortos y moderados (Castillo, 2014).

Los nematodos fitoparásitos son organismos microscópicos que se alimentan y logran desarrollarse en las raíces de las plantas, logrando reducir de una manera significativa el rendimiento en los cultivos (Chiluiza, 2017).

Los problemas de producción de cultivos inducidos por nematodos, generalmente ocurren como resultado de una disfunción de la raíz, reduciendo el volumen de enraizamiento y la eficiencia de forrajeo y utilización del agua y los nutrientes (Noling, 2016).

Nematodos en el Cultivo de Tomate

Según Fernández y Quesada (2014), el cultivo del tomate se encuentra asociado con las especies de *Criconemella*, *Helicotylenchus*, *Hemicycliophora*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Pratylenchus*, *Trichodorus*, entre otros.

Una de las principales e importantes plagas en el cultivo de tomate son los nematodos del Género *Meloidogyne* spp., (Ibrahim *et al.*, 2014). A nivel mundial, se estimó que el nematodo agallador causó pérdidas de rendimiento de tomate en un 27% (Sharma y Sharma, 2015).

En los últimos años se han presenciado brotes de la enfermedad por *Meloidogyne* sp., causando un impacto considerable en el rendimiento y la calidad de los cultivos de tomate, y es un problema creciente en la producción mundial (Seid A, *et al.*, 2015).

La capacidad de causar daño de estos nematodos, se ve favorecida por factores edafoclimáticos y agronómicos como, monocultivos (Chen y Tsay, 2006), altas precipitaciones (Masse *et al.*, 2004) y suelos arenosos (Starr *et al.*, 1993).

***Meloidogyne* sp.**

El Género de nematodos fitopatógenos más importante es *Meloidogyne* spp., por la capacidad de adaptación en climas fríos y cálidos. Las especies de este género pueden soportar temperaturas entre los 0 a 35 °C. A nivel mundial se han encontrado más de 70 especies de *Meloidogyne* spp., las cuales afectan a una gran variedad de cultivos y provocan una reducción considerable en la producción, y sin un adecuado manejo del cultivo son difíciles de controlar (López y Quesada, 1997; Dagatti *et al.*, 2014).

Estos nematodos en etapas juveniles miden de 346 a 500 µm de largo, y en estado adulto pueden medir entre 1.3 a 1.8 mm si es macho, y la hembra entre 3.5 a 4.6 mm. Cuentan con un estomatoestilete corto y hueco que coloquialmente es llamado lanza, el cual puede extenderse al momento de alimentarse, también tienen una cola filiforme. La población de nematodos se concentra principalmente a una profundidad de 10-25 cm, pero se han encontrado casos de su presencia a más de 5 m (Salmerón y Cabello, 1989; Guzmán *et al.*, 2013).

Clasificación Taxonómica del Género *Meloidogyne*

Phylum: Nematoda

Clase: Secernentea

Subclase: Diplogasteria

Orden: *Tylenchida*

Suborden: Tylenchina

Superfamilia: Tylenchoidea

Familia: Heteroderidae

Subfamilia: Meloidogyninae

Género: *Meloidogyne* (Cepeda, 1996).

Ciclo Biológico

Los nematodos del Género *Meloidogyne* incuban los huevos en las raíces de la planta; cuentan con cuatro etapas juveniles y cuatro mudas. El primer estadio juvenil se produce dentro del huevecillo, para posteriormente salir e infectar a la planta. La etapa infectiva de este género es el juvenil dos "J₂", cuya apariencia es similar al nematodo macho adulto, pero de menor tamaño. En la última muda, los nematodos se diferencian en hembras y machos adultos. El nematodo macho es vermiforme, móvil y no se alimenta, mientras que la hembra tiene forma globosa y se vuelve sedentaria al momento de establecerse en la planta para así mantener una relación parásito-hospedero. Los nutrientes que obtiene el nematodo hembra de la alimentación son destinados principalmente para la reproducción. Una característica de los nematodos hembra de este género es que pueden reproducirse sin la necesidad de fecundación, es decir, mediante la patogénesis (Carrillo *et al.*, 2000; Miranda *et al.*, 2016).

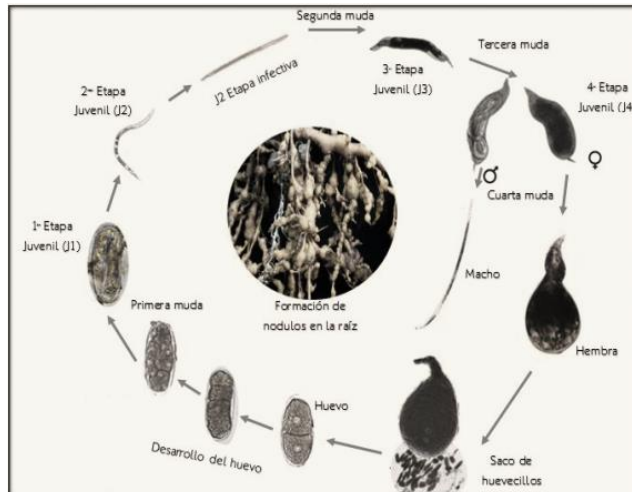


Figura 1. Ciclo de vida del Género *Meloidogyne* sp.

Fuente: Traducida y modificada de Haque, Z. 2017. Life Cycle of Root-knot Nematode (*Meloidogyne* sp.). Aligarh Muslim University.

Sintomatología

El síntoma principal causado por *Meloidogyne* sp. en las plantas, es la generación de numerosas agallas en las raíces, impidiendo la absorción y transporte de agua y nutrientes hacia el follaje, lo que se traduce en amarillamiento de hojas, retraso en el crecimiento y posteriormente la muerte de la planta, generando pérdidas en la producción de 20-50% (Zeng *et al.*, 2017).

Los daños de los nematodos del Género *Meloidogyne*, ocurren principalmente en el área radical, debido a que en esta área existe mayor disponibilidad de alimento y su reproducción es más eficiente. Los estados juveniles causan mayores daños, los cuales son ocasionados durante la alimentación del nematodo debido a las secreciones salivares que los nematodos liberan al alimentarse, generando nódulos en los tejidos radiculares. La severidad de los daños varía de acuerdo al grado de infestación del nematodo, la especie de este y la planta a la que parasita (Guzmán *et al.* 2013; Dagatti *et al.*, 2014).

Algunos otros síntomas causados por este género son: achaparramiento, falta de vigor, deficiencias nutricionales, marchitamiento, necrosis en hojas, reducción del sistema de raíces y la muerte de las plantas (Zaqui *et al.*, 2000, citado por Salazar y Guzmán, 2014).

Manejo

Durante los últimos años el control de los nematodos a nivel mundial se ha realizado mayormente por medio de nematicidas químicos. Sin embargo, estos productos son ineficaces en altas poblaciones además de eliminar la biodiversidad del ecosistema del suelo y generar resistencia en la plaga a largo plazo, por lo tanto se deben de considerar algunos otros tipos de manejo como son el control cultural, físico, biológico, entre otros (Castro *et al.*, 2011).

Control Cultural

Las prácticas culturales adicionales que han demostrado ser efectivas para reducir las poblaciones de *Meloidogyne* sp. y las pérdidas de rendimiento incluyen la adición de enmiendas orgánicas del suelo mediante el uso de cultivos de cobertura y abonos verdes, solarización del suelo, inundación del suelo, evitando el uso de zanjas y agua de estanques para el riego, y promover la descomposición rápida de los restos de la raíz de la planta mediante la separación de los campos poco después de la cosecha (Jones *et al.*, 2014).

Barbecho

El barbecho es probablemente la medida de control cultural más importante y efectiva disponible para los nematodos. Cuando las fuentes de alimentos ya no están disponibles, las densidades de nematodos en la población del suelo disminuyen gradualmente con la muerte como resultado de la inanición, debido a la amplia gama de hospedadores, las malezas y los cultivos voluntarios deben controlarse durante el período de barbecho. Cuando la erosión del suelo es un problema potencialmente grave, se deben considerar otras medidas (Noling, 2016).

Rotación de cultivos

Los nematodos *Meloidogyne* spp., requieren la presencia de una planta huésped susceptible para alimentarse y reproducirse, por lo que la rotación a cultivos no hospedantes puede reducir las poblaciones en algunas situaciones. El manejo cuidadoso de las malezas durante la rotación también es importante, ya que muchas especies de malezas son huéspedes susceptibles a estos nematodos (Noling, 2016).

Estudios confirman que las densidades de nematodos pueden disminuir al utilizar gramíneas en las rotaciones de cultivo (Johnson, 1985).

Control Físico

Solarización del suelo

La solarización del suelo es una técnica no química en la que se colocan lonas de polietileno transparente sobre suelo húmedo durante un período de 6 a 12 semanas para calentar los suelos no recortados a temperaturas letales para los nematodos y otros patógenos transmitidos por el suelo. Las temperaturas del suelo aumentan debido al atrapamiento de la radiación solar entrante debajo de los paneles transparentes de polietileno (UF, 2016).

Control Químico

Los agricultores manejan nematicidas para proteger a las plantas susceptibles de ataques de nematodos, incrementando el rendimiento y calidad de las cosechas (Llerena y Llerena, 2010).

Solano (2012) menciona que en los últimos años se ha utilizado el control químico con sustancias activas como, el Carbofurán (Furadán), Fenamiphos (Nemacur), Oxamyl (Carbamato), Terbufos (Organofosforado), Ethoprofos (Organofosforado), Dazomet (Basamid), Azadirachtina, Bromuro de Metilo (BM).

Los nematicidas se pueden agrupar en dos categorías generales, fumigantes y no fumigantes. Los fumigantes son sustancias químicas que se convierten en gases volátiles cuando se aplican al suelo. Se pueden aplicar en todo el campo, pero es más común utilizar los fumigantes debajo del acolchado plástico. Son más efectivos cuando se aplican a suelos bien drenados en condiciones de semillero a temperaturas superiores a 60 ° F. Todos los fumigantes son fitotóxicos, Por lo tanto, es importante permitir un período de recuperación de la planta de dos a cuatro semanas entre la aplicación y la plantación. Los productos fumigantes que se recomiendan para controlar los nematodos en el tomate incluyen aquellos que contienen los ingredientes activos metam sodio o 1,3-dicloropropeno (1,3-D).

No hay muchos nematicidas no fumigantes registrados para el cultivo de tomate, y es posible que no proporcionen un control que sea tan efectivo como los nematicidas fumigantes. Oxamyl (DuPont™ Vydate® L Insecticide/Nematicide) se puede aplicar como tratamiento antes y después de la planta en el cultivo de tomate a través del tratamiento del suelo, pulverizaciones foliares y sistemas de riego por goteo (Noling, 2016).

Las consecuencias negativas de estos productos para el medio ambiente y su ineficiencia después del uso a largo plazo han resultado en la prohibición o restricción de varias moléculas empleadas. Por lo tanto, existe un requisito cada vez mayor para desarrollar métodos alternativos no químicos para el manejo del nematodo *Meloidogyne* sp. (Huang *et al.*, 2016).

En la actualidad, existe una enorme presión en el uso de productos químicos, ya que cada vez son más los consumidores que demandan alimentos libres de agroquímicos y se generan políticas internacionales para reducir las fuentes de contaminación ambiental (Pakeerathan *et al.*, 2009, citados por Castro *et al.*, 2011).

Control Biológico

Teixeira *et al.* (2013) definen el control biológico como una estrategia ecológica cuyo objetivo es disminuir las poblaciones parasitarias a un nivel aceptable, buscando mantenerlas en un nivel no perjudicial basado en el comportamiento y acción de antagonistas naturales. Algunas investigaciones se han enfocado en la búsqueda de microorganismos nativos que actúen bajo las condiciones ambientales de cada región y puedan usarse para restablecer las interacciones de la microbiota del suelo, al punto que sean empleados como biofertilizantes y/o biocontroladores (bioinsumos), que mitiguen el impacto ambiental de los agroquímicos y reduzcan los costos de producción (Orberá *et al.*, 2014).

La utilización de microorganismos en el control biológico de patógenos causantes de enfermedades en los cultivos, constituye una alternativa eficiente y ecológica que contribuye al desarrollo de una agricultura sostenible, ya que disminuye los efectos inherentes al uso de plaguicidas y productos químicos (Ruiz *et al.*, 2014).

Una alternativa beneficiosa que está ganando popularidad en el control de nematodos es el control biológico, que utiliza predominantemente los grupos de microorganismos como los hongos y las bacterias ya presentes en la biota del suelo (Crawford & Clardy, 2011).

Extractos de plantas

Actualmente, una alternativa agrícola ha sido el uso de nematocidas botánicos (extractos vegetales), los cuales tienen varias sustancias nematocidas como triglicéridos, sesquiterpenos, alcaloides, esteroides, diterpenos, flavonoides y saponinas, útil en sistemas de producción orgánica y ayudan a prescindir el uso de nematocidas químicos en agricultura convencional (Javed *et al.*, 2007; Oka, 2010; Ibrahim *et al.*, 2014); la mayoría de los extractos vegetales pueden ser elaborados por el mismo productor.

Los productos de plantas superiores son seguros, económicos y tendrían una gran demanda en el mercado mundial de pesticidas debido a su modo diverso de aplicación (Dubey *et al.*, 2011).

Se han estudiado que los extractos de plantas medicinales como albahaca, hierba de San José, tilo, menta, presentan efectos nematocidas (Becerra y Gonzaga, 2016). También se han encontrado efecto alelopático de extractos de arroz, cebada, avena, centeno, trigo, que controlan nematodos, hongos y bacterias fitopatógenas. Existen otros estudios que evaluaron la eficacia de las plantas de Neem, algodón de seda, tabaco, cempazuchitl (Arshad y colaboradores, 2011).

Bacillus spp.

Se ha demostrado que las bacterias del género *Bacillus* presentan un gran potencial como antagonistas, principalmente por la gran cantidad de enzimas líticas, antibióticos y otras sustancias con actividad biocida, que son capaces de producir efectos de control sobre varias especies de organismos fitopatógenos (Sosa *et al.*, 2005; Castillo *et al.*, 2015).

Bacillus tiene la capacidad de competir eficientemente por la colonización de la rizosfera. Disminuyendo la posibilidad de que el patógeno pueda interactuar con las raíces de las planta. Provoca una significativa reducción de la incidencia y severidad de varias enfermedades sobre una gran cantidad de hospedadores vegetales. Este género es secretor de proteínas y metabolitos eficientes para el control de plagas y enfermedades, promueve el crecimiento vegetal a través de la solubilización de fósforo y la producción de reguladores de crecimiento como el ácido indolacético; así mismo participa en la fijación de nitrógeno cuando hace parte de consorcios microbianos (Calvo *et al.*, 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Área de Estudio

La primer etapa se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UA de C.

La segunda etapa en el laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología y en el invernadero #2 de Fitotecnia, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Muestreo de Nematodos Fitoparásitos

El muestreo de suelo se obtuvo del cultivo de tomate del ejido Norias del Refugio Municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí. Donde se presentaban síntomas parecidos a los causados por el nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. En el citado cultivo se estableció un diseño de muestreo tipo zigzag debido a la distribución. para la obtención del suelo, se utilizó un talache pala y pico a una excavación de 0-30 cm de profundidad (Figura 2), se obtuvo 1.0 kg de suelo, se colocó en una bolsa plástica negra, tomando un total de 25 submuestras de la misma forma mencionada, las cuales se mezclaron para obtener una muestra homogénea y representativa de 2.0 kg, la cual se trasladó al laboratorio de Nematología, de la UAAAN.



Figura 2. Muestreo de nematodos

Extracción de Nematodos por Medio del Embudo de Baermann

Para la extracción de nematodos, se utilizó el método del embudo de Baermann, que está compuesto de un embudo de plástico, varilla, aro soporte metálico, una manguera de hule y una pinza de presión, de las muestras representativas se obtuvieron 100g de suelo, los cuales fueron colocados sobre un papel marca Kleenex. La muestra a la vez se colocó sobre una malla de tela mosquitera, del mismo tamaño del papel Kleenex, a la vez en el embudó de Baermann se depositaron 200 ml de agua destilada para colocar la muestra dentro del embudo para que permanezca húmeda, procurando presionar la manguera para sacar el aire, se dejó reposar 24 horas (Figura 3).



Figura 3. Embudo de Baermann

una vez transcurridas las 24 horas se tomó la manguera plástica, se abrió la válvula de paso y se recogió el sedimento en un tubo de ensaye, se obtuvo 2 ml de agua más nematodos. Las muestras obtenidas que se encontraban reposadas en el tubo de ensaye fueron analizadas, colocados en un vidrio de reloj bajo el microscopio estéreo para observar y por medio de agujas de bambú se procedió a obtener la captura de nematodos, el cual fue colocado en un portaobjeto que contiene en la parte media una gota de Lactofenol, posteriormente se colocó un cubreobjetos sobre la gota de agua y en seguida se procedió a sellarla con esmalte, pasándose al microscopio compuesto para su identificación taxonómica (Cepeda, 1996).

Identificación

La identificación se llevó a cabo, con base en la clave pictórica y morfométrica para Géneros de nematodos fitoparásitos (Mai *et al.*, 1996).

Preparación de Tratamientos

Las cepas (*Bacillus* sp., M8 y M13 aisladas a partir de suelo y pertenecientes al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UA de C), se inocularon en matraces Erlenmeyer de 500 ml, en 100 ml de caldo papa enriquecido con sacarosa, malta y levadura. Se incubaron a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ en un agitador rotatorio a 140 rpm por 3 días (Figura 4).



Figura 4. Fermentación de cepas bacterianas.

Obtención de Extractos

Para el filtrado de los caldos bacterianos se utilizó una bomba de vacío y papel filtro estéril, así como filtros estériles de polipropileno con membrana de nylon, de 30 mm de diámetro, y un poro de 0.45 micras (Figura 5).



Figura 5. Extracción de metabolitos.

Determinación de la actividad nematocida de extractos bacterianos

Se utilizaron cajas plásticas de cultivo celular de 24 pozos de acuerdo al método estándar de Prasad *et al.*, (1972). Para la prueba del 100% se colocó 1 ml de cada tratamiento (cultivo) y se agregó 200 μ l de una suspensión de nematodos J₂ (alrededor de 15-20 J₂) en cada pozo (Figura 6), fue incubado a temperatura ambiente. También se realizó una prueba del 50%, aplicando 500 μ l de cada tratamiento (*Bacillus* sp., M8,M13) diluido con 500 μ l de agua destilada (Cuadro1). Para los testigos se utilizó agua destilada con nematodos, todos los tratamientos tuvieron 4 repeticiones. Para el conteo de juveniles muertos se observó cada tratamiento, bajo el microscopio estereoscópico y a si determinar el porcentaje de mortalidad a las 24, 48 y 72 horas.



Figura 6. Tratamientos en cajas de cultivo celular.

Cuadro 1. Distribución de tratamientos en bloques al azar.

| B 1 | B 2 | B 3 | B 4 | B 5 |
|------------|------------|------------|------------|------------|
| T1 | T1 | T2 | T3 | T4 |
| T2 | T2 | T3 | T4 | T1 |
| T3 | T3 | T4 | T1 | T2 |
| T4 | T4 | T1 | T2 | T3 |

Diseño estadístico

Para la evaluación bajo condiciones *in vitro* se llevó a cabo bajo un diseño en bloques al azar (Cuadro 1), se evaluaron 4 tratamientos (*Bacillus* sp., M8, M13 y el testigo) con 4 repeticiones. Se evaluaron dos concentraciones, al 100% y 50%, observando el efecto a las 24, 48 y 72 horas. La unidad experimental fue cada cavidad de la placa plástica. A los datos obtenidos, se les realizó un análisis de varianza y prueba de diferenciación de medias de Tukey, en base al programa estadístico SAS, Versión 9.1. %.

Evaluación de los mejores tratamientos a nivel invernadero

Pasteurización de sustratos

Se realizó la pasteurización del sustrato con una autoclave de vapor del laboratorio de Fitopatología con el fin de eliminar, de forma confiable los microorganismos (Figura 7). A los 20 días después, se realizó el trasplante a vasos térmicos con el sustrato pasteurizado.



Figura 7. Pasteurización de sustrato

Preparación de plántulas de tomate

Se sembró semilla certificada de tomate variedad “Pony Express F1”, en charolas con sustrato estéril de Peat moss-perlita, en proporción 3:1 e hidratado con agua destilada (Figura 8).

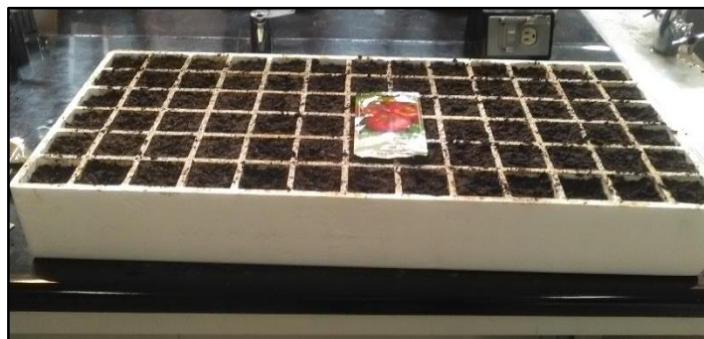


Figura 8. Siembra de semillas en charolas

El experimento se realizó bajo condiciones controladas a temperatura de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $60 \pm 10\%$ y ventilación automatizada para reducir el calor y renovar el suministro de bióxido de carbono. Los riegos se realizaron cada tercer día con base en los requerimientos de la planta.

Preparación del inóculo de *Meloidogyne incognita*.

Los huevecillos se obtuvieron a partir de raíces de tomate infestadas con *Meloidogyne incognita*, se realizó en base a la metodología de macerado, centrifugado y flotación en azúcar, la cual consistió en los siguientes pasos:

Las raíces con agallas se cortaron en trozos de dos a tres cm de longitud y se colocaron dentro de una licuadora. Se agregó 100 ml de agua y se licuó a velocidad baja 10 s y velocidad alta 10 s. Los huevos y juveniles recién eclosionados se recuperaron con la ayuda de dos cribas (100 y 400 mallas). Los residuos retenidos en el Tamiz de 400 mallas se transfirieron a tubos de centrifuga de 50 ml. Se procedió a llenar los frascos con agua con el cuidado de que éstos una vez colocados en la centrifuga quedaran balanceados. Se centrifugó cinco minutos alrededor de 3000 R.P.M. luego se desechó el líquido. El tejido vegetal presente en fondo del frasco se le agregó una solución de sacarosa (290 g azúcar morena en 500 ml H_2O), se agitó posteriormente y se centrifugó a 3000 R.P.M. durante cinco min. El sobrenadante que contiene los nematodos fue vertido sobre un Tamiz de 400 mallas (Figura 9), el exceso de azúcar adherida a los nematodos, es removido lavando con suficiente agua (Jenkins, 1964). Por último se transfirió a un recipiente o tubo de ensayo, para proceder el conteo bajo un estereoscopio.



Figura 9. Tamizado de raíces para extracción de huevecillos de nematodos *Meloidogyne incognita*.

Inoculación de Plantas

Cinco días después del trasplante al invernadero, se realizó la inoculación de *Meloidogyne incognita* alrededor de cada planta y aproximadamente a 1 cm del tallo se le adicionó una suspensión de 3 ml de agua con huevecillos de nematodos *Meloidogyne incognita* que contenía 350 huevecillos. Las plantas mantuvieron su crecimiento en condiciones del invernadero alrededor de 60 días después de la inoculación, los vasos se distribuyeron al azar, con distancia entre vasos de 10 cm.

A los 10 días después del trasplante, con una micropipeta se aplicó 1 ml de los tratamientos (*Bacillus* sp., M8 y M13) en la base del tallo, cerca de la raíz.

Evaluación de la actividad nematocida bajo condiciones de invernadero

Se evaluó visualmente la actividad nematocida basándonos en la estimación del daño en las raíces causada por los nematodos *Meloidogyne incognita* empleando para ello la escala de 1 a 9 descrita por Castaño (1989) (Cuadro 2). Se llevó a cabo a los 60 días después de haber establecido el ensayo, que corresponde a un ciclo biológico normal de *M. incognita*.

Se determinaron diferentes valores agronómicos, como el conteo de las hojas, el tamaño del tallo y el diámetro, la longitud de las raíces.

Cuadro 2. Estimación del daño por escalas.

| ESCALAS | ESTIMACIÓN DEL DAÑO |
|---------|-------------------------|
| 1 | AUSENCIA DE NUDOS |
| 3 | 1-2 NUDOS/PLANTAS |
| 5 | 3-10 NUDOS/PLANTAS |
| 7 | 11-30 NUDOS/PLANTAS |
| 9 | MAS DE 30 NUDOS/PLANTAS |

Diseño estadístico

Para la evaluación bajo condiciones invernadero se llevó a cabo bajo un diseño en bloques completos al azar, Se evaluaron 4 tratamientos y se colocaron 5 repeticiones para cada uno (Cuadro 3). La unidad experimental fue cada planta de tomate, obteniendo 20 unidades experimentales.

Cuadro 3. Distribución de los tratamientos en bloques completos al azar.

| B 1 | B 2 | B 3 | B 4 | B 5 |
|-----|-----|-----|-----|-----|
| T1 | T2 | T3 | T4 | T2 |
| T2 | T3 | T4 | T3 | T4 |
| T3 | T4 | T1 | T2 | T1 |
| T4 | T1 | T2 | T1 | T3 |

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de nematodos

Las agallas observadas en las raíces fueron características a las de *Meloidogyne incognita*, dentro de estos nódulos se observaron hembras y masas de huevecillos como los descritos por Perry y Moens (2009) (Figura 10).



Figura 10. Hembra *Meloidogyne incognita* extraída del nódulo radical.

Al eclosionar los huevecillos, se observaron los juveniles del segundo estadio que mostraron las características del genero *Meloidogyne incognita* (Figura 11) como lo descrito con Jepson (1987).

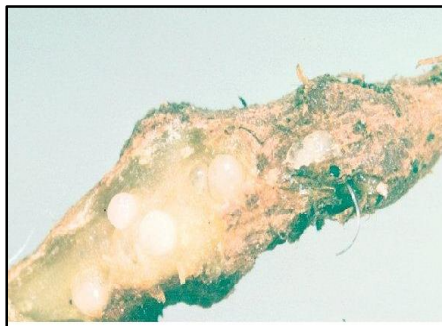


Figura 11. Juvenil sano de *Meloidogyne incognita*.

Evaluación de extractos bacterianos sobre juveniles de *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de laboratorio.

Los diferentes extractos evaluados *in vitro*, mostraron efectos sobre los nematodos juveniles de *M. incognita*, en las concentraciones del 100% a las 24 h se observó una mortalidad del 100% por lo tanto los resultados estadísticos no fueron significativos, mientras que en la concentración del 50% se evaluaron 24, 48 y 72 h. Se observó bajo el microscopio compuesto un daño en la cutícula, gránulos en el interior del nematodo a si como deformaciones (Figura 12, 13 y 14) y la muerte de estos, ya que al estimular su movimiento con un pescador de nematodos, ya se observaba la falta de movimiento.



Figura 12. Nematodo *Meloidogyne incognita* afectado por *Bacillus* sp.



Figura 13. Nematodo *Meloidogyne incognita* afectado por M8.



Figura 14. Nematodo *Meloidogyne incognita* afectado por M13.

En la concentración del 50% se presentó mortalidad a partir de las 24 h, siendo los tratamientos M8 y M13 las que presentaron el 100% de mortalidad. *Bacillus* sp., tuvo un 27% de mortalidad en este determinado tiempo (Cuadro 4).

Después de 48 h, se observó que *Bacillus* sp. se mantuvo el 27% de mortalidad (Cuadro 5), para posteriormente incrementar la mortalidad al 90% a las 72 h (Cuadro 6).

Cuadro 4. Resultado de efectividad de extractos sobre J₂ de *Meloidogyne incognita* a las 24 h, bajo condiciones de laboratorio.

| | Tratamiento | Concentración | % de Mortalidad | Comparación estadística |
|---|---------------------|---------------|-----------------|-------------------------|
| 2 | M8 | 50% | 100.0000 | A |
| 3 | M13 | 50% | 100.0000 | A |
| 1 | <i>Bacillus</i> sp. | 50% | 27.0833 | B |
| 4 | TESTIGO | 0% | 6.6667 | C |

Cuadro 5. Resultado de efectividad de extractos sobre J₂ de *Meloidogyne incognita* a las 48 h, bajo condiciones de laboratorio.

| | Tratamiento | Concentración | % de Mortalidad | Comparación estadística |
|---|---------------------|---------------|-----------------|-------------------------|
| 2 | M8 | 50% | 100.0000 | A |
| 3 | M13 | 50% | 100.0000 | A |
| 1 | <i>Bacillus</i> sp. | 50% | 27.0835 | B |
| 4 | TESTIGO | 0% | 6.6667 | C |

Cuadro 6. Resultado de efectividad de extractos sobre J₂ de *Meloidogyne incognita* a las 72 h, bajo condiciones de laboratorio.

| | Clave | Concentración | % de Mortalidad | Comparación estadística |
|---|---------------------|---------------|-----------------|-------------------------|
| 2 | M8 | 50% | 100.0000 | A |
| 3 | M13 | 50% | 100.0000 | A |
| 1 | <i>Bacillus</i> sp. | 50% | 90.0000 | B |
| 4 | TESTIGO | 0% | 6.6667 | C |

El ambiente limitado de condiciones *in vitro* usando placas multipocillos, conduce a identificar si algunas cepas bacterianas producen compuestos que afectan directamente con la viabilidad de juveniles de *M. javanica*, promoviendo el ahorro de costos, tiempo y espacio sobre la selección de bacterias biocontroladoras en comparación con las pruebas en invernadero y campo por su modo de acción (Li *et al.*, 2015).

En estos resultados se demuestra que *Bacillus* sp., es un importante nematocida biológico comparado con estudios realizados por Noel (1990), quien realizo pruebas de forma exitosa mediante metabolitos, se atribuyen efectos nematostáticos sobre *M. incognita* y *Heterodera glycines*, a causa de la b-exotoxina.

El equipo de El-Hadad *et al.*, 2010, registraron alta mortalidad en J₂ usando cultivos bacterianos a diluciones de 1/10, a partir de *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium* y *Bacillus circulans*, demostrando una alta producción de enzimas como proteasas, quitinasas y gelatinasas respectivamente frente a *Meloidogyne incognita*.

Así mismo, Xia *et al.* 2011, identificaron el gen *purL* de *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* asociado con actividad nematocida contra *Aphelenchoides besseyi*, *Ditylenchus destructor*, *Bursaphelenchus xylophilus* y *Meloidogyne javanica*. Sin embargo, a pesar de los avances en la identificación de compuestos nematocidas secretados por bacterias, los caracteres específicos del modo de acción sobre la mortalidad de nematodos es pobremente entendido (Castaneda & Aballay, 2016).

Evaluación de extractos sobre juveniles de *Meloidogyne incognita* en plántulas de tomate bajo condiciones de invernadero.

Considerando que las plantas de tomate se desarrollaron bajo condiciones de un invernadero y con la inoculación de nematodos del Género *Meloidogyne incognita* a si como los tratamientos de extractos bacterianos al sustrato se obtuvieron los siguientes resultados:

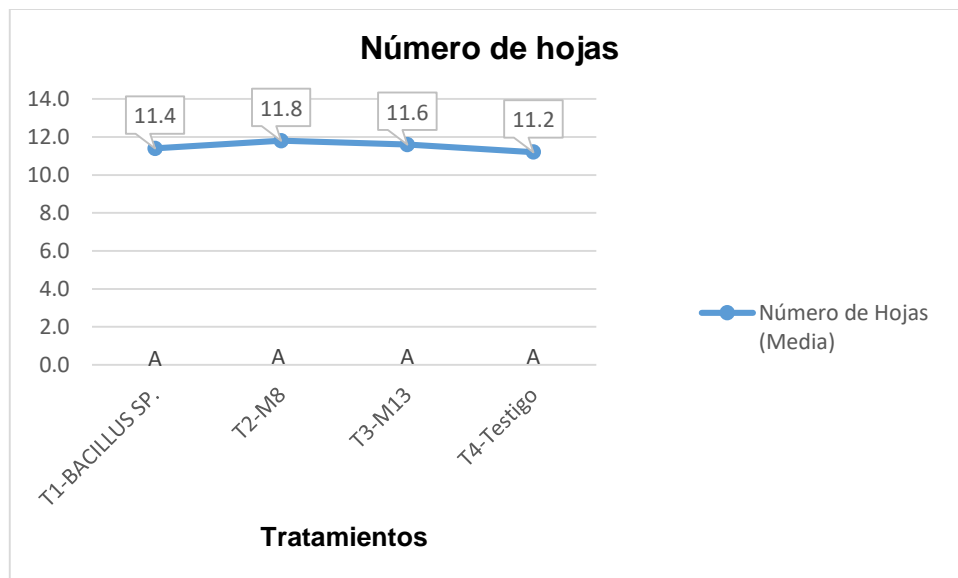
Vigor de las plantas

Para evaluar y determinar el número hojas, altura y diámetro de la base del tallo, longitud e índice de agallamiento en los diversos tratamientos, se les aplicó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey así como también la escala propuesta por Castaño (1989) para estimar los daños causados por el nematodo del nudo radical *Meloidogyne incognita*.

Análisis del número de hojas en plantas de tomate

Se mostró diferencia numérica en la cantidad de hojas de las plantas, mas no diferencia estadística, comparada con el testigo (Figura 15).

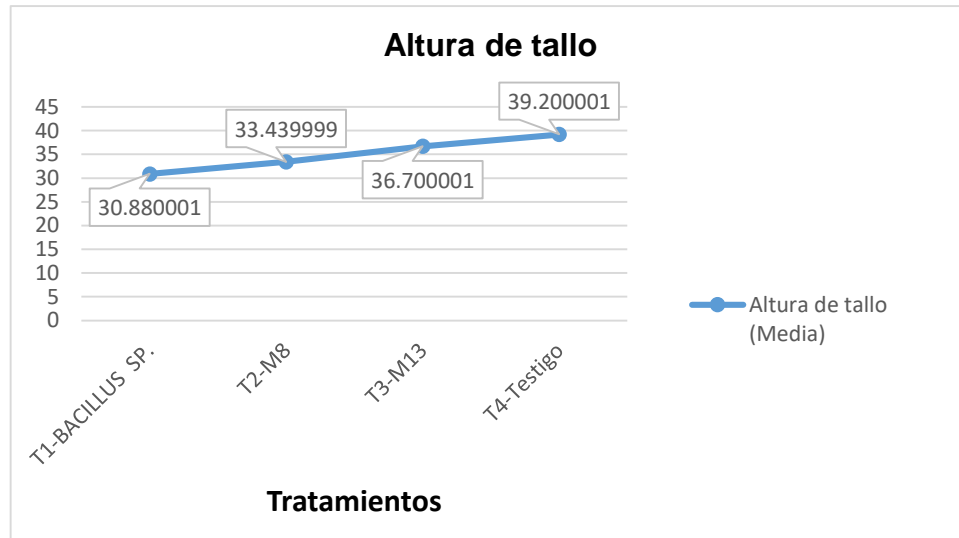
Figura 15. Medias en la evaluación del número de hojas de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en la UAAAN.



Altura de tallo

En la medición de la altura del tallo, a pesar de no haber diferencia estadística se presentó una diferencia en las medias, donde el testigo presentó una media de 39.2 cm y en donde *Bacillus sp.* fue el de menor tamaño con 30.8 cm (Figura 16).

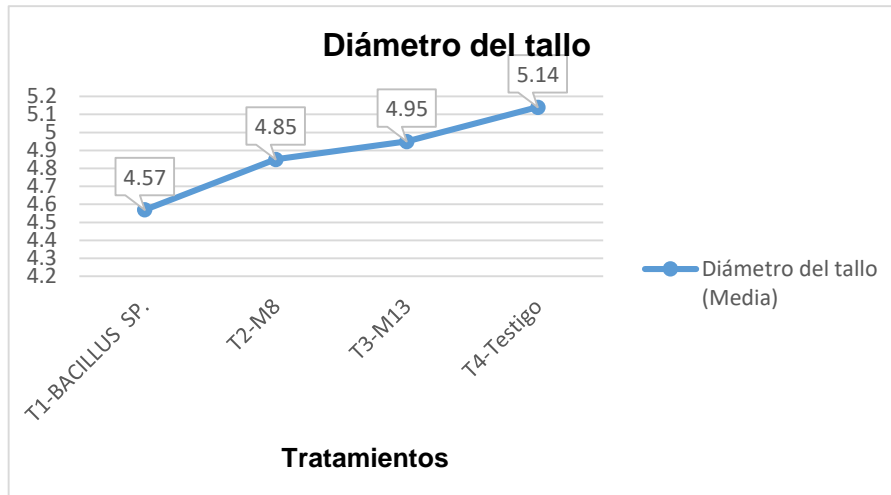
Figura 16. Comparación de medias en la evaluación de la altura del tallo con la aplicación de extractos de bacterias bacilares.



Diámetro del tallo

Evaluación del diámetro del tallo de las plantas de tomate de acuerdo a las medias, se demostró que los resultados de los tratamientos a pesar de no haber diferencia estadística se presentó una diferencia en las medias, donde el testigo presento una media de 5.14 y en donde *Bacillus sp.* fue el de menor tamaño con una media de 4.57 (Figura 17).

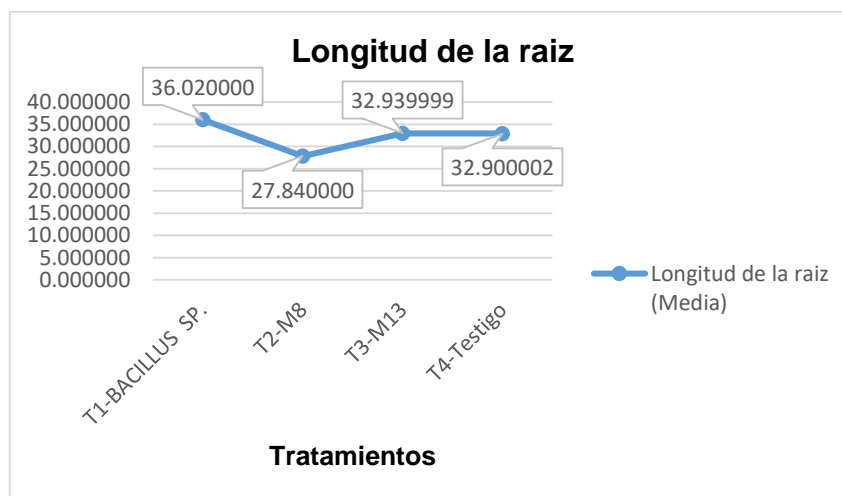
Figura 17. Comparación de medias en la evaluación del diámetro del tallo con la aplicación de extractos de bacterias bacilares.



Longitud de la raíz

La comparación de medias de la longitud de la raíz de las plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), demuestra que los resultados del tratamiento T1 (*Bacillus* sp), con una media de 36.020000 cm, numéricamente resultó tener mayor valor de longitud de la raíz, seguidos por los tratamientos T3 (M13) con una media de 32.939999 y T4 (Testigo) con la media de 32.900002 y por ultimo el tratamiento de menos valor numérico, tratamiento 2 (M8) con una media de 27.840000 (Figura 18).

Figura 18. Medias en la evaluación de la longitud de la raíz con la aplicación de extractos de bacterias bacilares.



De estos géneros, *Bacillus* spp. ha sido estudiado ampliamente para la promoción de crecimiento y biocontrol de hortalizas como el tomate (Murphy *et al.*, 2003; Serrano *et al.*, 2013; Xiao *et al.*, 2015). En este trabajo, no se observó el crecimiento de tallo, pero si el de la raíz, pues mostró valor mayor a la media.

En otros cultivos de interés hortícola se ha reportado que las células vegetativas del genero *Bacillus* en concentraciones de aplicación altas (alrededor de 10⁸ - 10¹¹ UFC/mL) son beneficiosas para la promoción del crecimiento (Domenech *et al.*, 2006; Orhan *et al.*, 2006; Turan *et al.*, 2014).

Chowdappa en 2013, encontró que al inocular las células vegetativas de la cepa *B.subtilis* OTPB1 en una concentración 10⁸ UFC/mL las variables longitud radicular, longitud aérea, peso seco aéreo y peso seco radicular incrementaron en un 28, 17, 16 y 29% respectivamente (Chowdappa *et al.*, 2013).

Turan y colaboradores, reportaron en 2014 los experimentos realizados en cultivos de 56 repollos a nivel de invernadero con microorganismo *B. megaterium* TV-91C y *B.subtilis* TV17°C, estos resultados concluyeron que al inocular ambos cultivos en la estructura vegetativa y una concentración de 10⁸ UFC/mL se incrementaron los pesos secos y frescos tanto aéreos como radicales del cultivo, sin embargo la cepa TV-91C arrojó mejores resultados con incrementos del 32.9%, 22.6%, 16.0%, y 35.69%, respectivamente (Turan *et al.*, 2014).

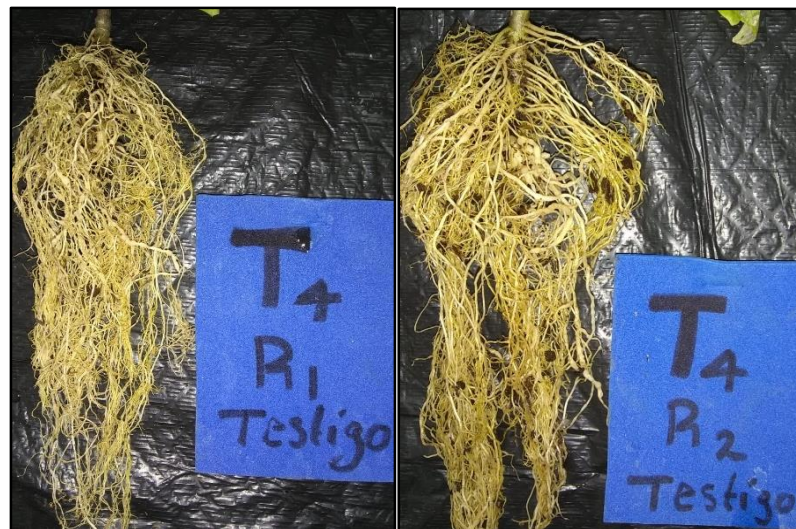
Evaluación de efectividad biológica de extractos bacterianos en el control de juveniles de *Meloidogyne incognita* en plantas de tomate.

Los extractos evaluados mostraron una eficiente actividad nematicida, ya que se observó la ausencia de agallas en las raíces de las plantas con tratamientos a comparación de los testigos con presencia de agallas (Figuras 19 y 20).

Figura 19. Ausencia de agallas en raíces de plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) tratadas con extractos de bacterianos.



Figura 20. Presencia de agallas en raíces de plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) no tratadas.



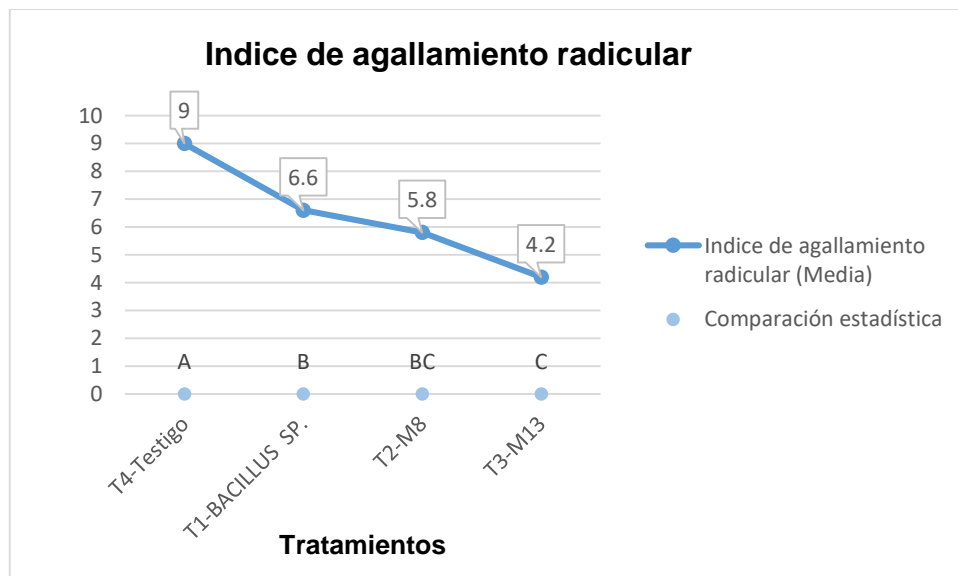
Índice de agallamiento radicular

En los resultados observados se demostró que el tratamiento, M13 fue el mejor, ya que su índice de agallamiento fue el menor, con una media de 4.2, seguido por el tratamiento M8 que mostro una media de 5.8 y *Bacillus* sp., presento una media de 6.6, comparado con el testigo que mostro el mayor índice de agallamiento en las raíces de las plantas inoculadas con juveniles del nematodo *Meloidogyne incognita* con una media de 9.0 (Cuadro 7 y Figura 21).

Cuadro 7. Comparación de medias en la evaluación del índice de agallamiento radicular con la aplicación de extractos de bacterias bacilares, en plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill).

| | Tratamiento | Media aritmética | Comparación estadística |
|---|---------------------|------------------|-------------------------|
| 4 | TESTIGO | 9.0000 | A |
| 1 | <i>Bacillus</i> sp. | 6.6000 | B |
| 2 | M8 | 5.8000 | BC |
| 3 | M13 | 4.2000 | C |

Figura 21. Medias en la evaluación del índice de agallamiento radicular con la aplicación de extractos de bacterias bacilares, en plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill).



La especie *B. subtilis* con diversos estudios acerca de los mecanismos de biocontrol y promoción de crecimiento vegetal, tales como: la producción de péptidos antibióticos contra *Fusarium oxysporum* (Reddy, et al., 2013); producción de rizotocina fosfono-oligopeptida que tiene actividad antifúngica y nematicida (Borisova et al., 2010), etc. Por estos motivos se han formulado numerosos productos a base de *B. subtilis* y otros *Bacillus*, hasta el año 2011 se han reportado 20 productos (Cawoy, et al., 2011) para el control biológico de nemátodos, entre ellos *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Pratylenchus brachyurus* y *Pratylenchus coffeae*.

Salazar et al. (2014) quienes evaluaron extractos vegetales de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. alcanzando hasta 89% de mortalidad.

Los resultados observados en el presente estudio demuestran que el control por *Bacillus* spp. representa una alternativa dentro de un sistema de manejo integrado de nematodos parásitos de plantas, coincidiendo con la investigación de Siddiqui et al., (2001) donde se reporta, que; plantas tratadas con *B. subtilis* redujeron el agallamiento y multiplicación del nematodo *M. incognita*.

De Araujo et al. (2009), reportaron que las endotoxinas producidas por bacterias bacilares, intervienen con el ciclo reproductivo de Nematodos, en el estadio de ovulación y eclosión de juveniles, considerando a *B. subtilis*, como supresor del nematodo formador de agallas en cultivo de tomate.

CONCLUSIÓN

En el presente trabajo, se observaron que todos los tratamientos de extractos bacterianos, para el control de *Meloidogyne incognita* en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), actúan como agentes nematicidas, reduciendo la población de nematodos, tomando en cuenta que el tratamiento T4 (testigo) se mantuvo la población *in vitro*, mientras que en invernadero hubo un aumento en la población afectando considerablemente la parte radicular de las plantas, mientras tanto el tratamiento T3 (M13), fue el extracto con mayor potencial, tanto en *in vitro* como en condiciones de invernadero;

De los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

1. *In vitro*: En la concentración del 50% (500 µl de extracto de Bacilos + 500 µl de agua destilada) se presentó mortalidad a las 24 h, siendo los Tratamientos M8 y M13, que presentaron el 100% de mortalidad.

2. Invernadero: La evaluación del índice de agallamiento radicular con la aplicación de extractos bacterianos, demostró que el tratamiento M13 fue el mejor, con un resultado de 4.2, seguido por el tratamiento M8 con un índice de agallamiento radicular del 5.8.

Estos estudios ayudan a comprender que los extractos libres de células están realizando la acción nematicida, ya que los metabolitos causaron una eficiente mortalidad *in vitro* e invernadero. De esta manera, esta herramienta tecnológica logra ser una alternativa de control para el desarrollo de formulación comercial para la venta del biocontrolador.

LITERATURA CITADA

- Alarcón, M. S.; Bolkan, H., 1994. Situación y perspectiva del tomate en México. Campbell's Sinalopasta S.A. de C.V. Guasave, Sinaloa, México. Informe interno. 18-35 pp.
- Arshad y colaboradores 2011. Efficacy evaluation of *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* and *Tagetes erecta* against root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. Pak. J. Bot. 43:197-204.
- Becerra y Gonzaga 2016. Action of medicinal plant extracts on juveniles of *Meloidogyne incognita* race 2. Revista ciencia agronómica 47(1):135-142.
- Bergougnoux V. 2014. The history of tomato: from domestication to biopharming. Biotechnol Advances. 32 (1): 170-189.
- Borisova, S. A.; B. T. Circello; J. K. Zhang; W. A. van der Donk & W. W. Metcalf. 2010. Biosynthesis of rhizotocins, antifungal phosphonate oligopeptides produced by *Bacillus subtilis* ATCC6633. Chemistry & biology 17, no. 1: 28-37.
- Calvo P., y D. Zúñiga. 2010. Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizosfera de papa (*Solanum tuberosum*). Ecología. Aplicada. 9: 31-39.
- Carrillo, F. J. A.; García, E. R. S.; Allende, M. R.; Márquez, Z. I. y Cruz, O. J. E. 2000. Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp.) en hortalizas en Sinaloa, México. Rev. Mexicana. Fitopatología. 18(2):115-119.
- Castaneda, C. & E. Aballay. 2016. *Rhizobacteria* with nematicide aptitude: enzymes and compounds associated. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 32(12): 203.
- Castaña-Zapata, J., 1989.- Estandarización de la estimación de daños causados por hongos, bacterias y nematodos en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Fitopatología Colombiana, 13 (1): 9-19.
- Castaña-Zapata, J., 1989.- Estandarización de la estimación de daños causados por hongos, bacterias y nematodos en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Fitopatología Colombiana, 13 (1): 9-19.

- Castillo J. 2014. Identificación de especies de *Meloidogyne* spp. Presentes en el municipio de Patzicía, Chimaltenango. Tesis. Ing. Agrónomo Universidad Rafael Landívar, Facultad Ciencias Ambientales y Agrícolas. Chimaltenango, Guatemala.
- Castillo-Reyes, F., Hernández-Castillo, F.D., Gallegos-Morales, G., Flores-Olivas, A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. (2015). Efectividad *in vitro* de *Bacillus* y polifenoles de plantas nativas de México sobre *Rhizoctonia-Solani*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 549-562.
- Castro, L. Flores, L. Uribe, L. 2011. Efecto del vermicompost y quitina sobre el control de *Meloidogyne incognita* en tomate a nivel de invernadero. Agronomía Costarricense. Consultado el 29 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43622356002>.
- Cawoy, H.; W. Bettiol; P. Fickers & M. Ongena. 2011. *Bacillus*-based biological control of plant diseases. Pesticides in the modern world— pesticides use and management. InTech, Rijeka. 273-302.
- Cepeda, S. M. 1996. Prácticas de Nematología Agrícola. 1a edición. Ed. Trillas, México. UAAAN. 105 p.
- Cepeda, S.M. 1996. Nematología Agrícola. Ed. Trillas. México. Pp. 53 - 54, 105 - 108 y 132 – 136.
- Chen, P; Tsay, T.T. 2006. Effect of crop rotation on *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus* spp. populations in strawberry fields in Taiwan. Journal of Nematology 38(3):339-344.
- Chiluiza B. 2017. Efecto de la biofumigación con *Brassica carinata* y de la solarización sobre nematodos (*Meloidogyne incognita*) en el cultivo de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*) [Tesis]. Universidad Técnica Ambato, Ecuador. 73 p.
- Chowdappa, P., Kumar, S.P.M., Lakshmi, M.J., Upreti, K.K., 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. Biological Control 65, 109-117.

- Crawford, J. M; Clardy, J. 2011. Simbiontes bacterianos y productos naturales. *Chemical Communications*, Cambridge, v.47, n.27, p.7559-7566. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3174269/> >. Acceso: 16 de agosto de 2016. doi: 10.1039 / c1cc11574j. [Enlaces]
- Dagatti B., C. V., C. B. Violeta y M. E. Herrera. 2014. Caracterización de daños producidos por *Meloidogyne* spp. (Nemata: *Tylenchida*) en la vid en Mendoza, Argentina. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 31(2): 51 – 62.
- Dallemole- Giaretta, R. *et al.* 2014. Enmienda del suelo con sustrato que contiene micelio y conidios de *Pochonia chlamydosporia* para el manejo de *Meloidogyne javanica*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.44, n.4, p.629-633. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782014000400009> >. Accedido: 15 de septiembre de 2016. doi: 10.1590 / S0103-84782014000400009. [Enlaces]
- De Araujo Fernando, F. y Gabriel Victor Poletto Marchesi. 2009. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da Meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. *Cienc. Rural* Vol.39 N°.5.
- Díaz, V. 2014. Perfil comercial tomate (en línea). Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Guatemala. 11 p. Consultado 21 feb. 2015. Disponible en <http://web.maga.gob.gt/download/Perfil%20tomate.pdf>.
- Domenech, J., Reddy, M.S., Kloepper, J.W., Ramos, B., Gutierrez-Manero, J., 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or 93 *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. *Biocontrol* 51, 245-258.
- Dubey, N. K., *Et al.* 2011. "Escenario global sobre la aplicación de productos naturales en programas integrados de manejo de plagas. En: Dubey NK. Ed. Productos naturales en el manejo de plagas de plantas. Londres, Reino Unido". CAB International: 1-20.
- El-Hadad, M. E.; M. I. Mustafa; S. M. Selim; A. E. Mahgoob; T. S. El-Tayeb & N. H. A. Aziz. 2010. *In vitro* evaluation of some bacterial isolates as biofertilizers and biocontrol

agents against the second stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 26(12), 2249-2256.

FAO. 2017. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). FAOSTAT. Incluye tomate rojo y tomate verde. 2 p.

Fernández, JB. 2016. Generalidades de semillas comerciales de tomate. Informe técnico. San José, Costa Rica. OFINASE. 6 p.

Flores L. Y., B. Rivera O., E. B. Arias T. y E. P. Delgado Q. 2010. Nemátodos Asociados al Cultivo del Olivo (*Olea europaea* L.). INVURNUS. 5(1): 23- 27.

Greco, N.; D, 2004. Esmenjaud: «Management strategies for nemátodo control in Europe. En: R. Cook, R. and D.J.Hunt (Eds). Nematology Monographs and Perspectives 2.Proceedings of the Fourth International Congress on Nematology, 2002. Tenerife, Spain. Leiden.The Netherlands.Brill. pp: 33-43.

Guzmán H., T., I. Varela B., S. Hernández V., J. Durán M., W. Montero C. 2013. Principales Géneros de nematodos fitoparásitos asociados a plátano y piña en las regiones Huetar Norte y Huetar Atlántica de Costa Rica. Tecnología en Marcha. 27(1): 85-92.

Huang, W.-K. et al. 2016. La prueba de varios agentes de control biológico contra el nematodo del nudo de la raíz (*Meloidogyne incognita*) en plantas de pepino identifica una combinación de *Syncephalastrum racemosum* y *Paecilomyces lilacinus* como la más efectiva. Control biológico, Orlando, v.92, p.31-37. Disponible en:<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.09.008> >. Acceso: 20 de octubre de 2016. doi: 10.1016 / j.biocontrol.2015.09.008.

Ibrahim, H.S., Hamouda, S.E.S., El-kady, A.M.A., y Abd-Alla, H.I. 2014. Study the nematicidal efficiency of *Corchorus olitorius*, *Cinnamomum camphora*, *Portulaca oleraceae* and Lantana camara extracted saponins and their formulations on rootknot nematodes *Meloidogyne* spp. Nature and Science. 12(11): 40-45.

INTAGRI. 2017. Control de Nematodos desde una Perspectiva Integral. Serie Fitosanidad Núm. 91. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 5 p.

- Javed, N., Gowen, S.R., Inam-ul-Haq, M., Abdullah, K. y Shahina, F. 2007. Systemic and persistent effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations against root-knot nematodes, *Meloidogyne javanica* and their storage life. *Crop Protection*. 26(7): 911-916.
- Jenkins, W. R. 1964. 'A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil', *Plant Disease Reporter*, vol. 48, no 9, pp. 662–665.
- Jepson, S. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). C.A.B. International United Kingdom. Londres, p.265.
- Johnson, A.W. 1985. Specific crop rotation effects combined with cultural practices and nematodes. In Sasser, JN; Carter, CC. eds. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Volume I. Raleigh, NC: North Carolina State University Graphics. USA. p. 283-301.
- Jones, J., Zitter, T., Momol, T. y Miller, S. 2014. Compendio de enfermedades y plagas del tomate, segunda edición. Sociedad Americana de Fitopatología, St. Paul, MN.
- Kliot *et al.* (2014), "Implication of the Bacterial Endosymbiont *Rickettsia* spp. in Interaction with the Whitefly *Bemisia tabaci* with Tomato yellow leaf curl virus", *Journal of Virology*, Vol. 88(10), pp. 5652-5660.
- Li, J.; C. Zou; J. Xu; X. Ji; X. Niu; J. Yang; ... & K. Q. Zhang. 2015. Molecular mechanisms of nematode- nematophagous microbe interactions: basis for biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual review of phytopathology*, 53, 67-95.
- Liu, HX, Li, SM, Luo, LX, Luo, YM, Li, JQ y Guo, JH (2014). Control biológico del marchitamiento por *Ralstonia*, el tizón de *Phytophthora*, el nudo de la raíz de *Meloidogyne* en el pimiento por la combinación de *Bacillus subtilis* AR12, *Bacillus subtilis* SM21 y *Chryseobacterium* sp. R89. *European Journal of Plant Pathology*, 139 (1), 107-116. doi: 10.1007 / s10658-013-0369-2.
- Llerena B.S. y Llerena S.P. 2010. Control del nematodo *Meloidogyne* sp. en tomate riñón (*Lycopersicon esculentum*) híbrido nemoneta con tres dosis de Intercept y Nemasol en la Parroquia Yaruquí, Provincia Pichincha. Tesis de Grado. Universidad de Bolívar, Ecuador. 166 pp.

- López, L. 2016. Rendición de cuentas de la agrocadena de tomate (Power point). (San José, Costa Rica). Programa Nacional Sectorial de tomate. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 16 p.
- López, L; Quirós, Y. 2016. Estadísticas de áreas de siembra y rendimientos por región para tomate período 2015-2016. Comisión estadísticas de tomate. San José, Costa Rica. MAG. 9 p.
- López, R. y M. Quesada. 1997. Reproducción de *Meloidogyne incognita* en varias malezas presentes en Costa Rica. Agronomía Mesoamericana. 8(2): 112-115.
- López, R. y M. Quesada. 2014. Reproducción de *Meloidogyne incognita* en varias malezas presentes en Costa Rica. Agronomía Mesoamericana. 8(2): 112-115.
- Mai, W .; Mullin, P .; y Lyon, H. 1996. Nematodos parásitos de plantas. Una clave pictórica para los Géneros. Quinta edición. Asociados Editoriales de Comstock. Una División de Cornell University Press. 277 p.
- Masse, D; Manlay, RJ; Diatta, M; Pontanier, R; Chotte, JL. 2004. Soil organic matter dynamic and nutrients balance in a short-term fallows with different types of vegetation experiments in Senegal. Soil Use Manage 20:92-95.
- Miranda C., I., D. Hernández O., Y. Hernández A., B. Martínez C. y M. G. Rodríguez H. 2016. Modelación de la interacción *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg en garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Rev. Protección Vegetal. 31(3): 194-200.
- Murphy, J.F., Reddy, M.S., Ryu, C.M., Kloepper, J.W., Li, R.H., 2003. Rhizobacteria-mediated growth promotion of tomato leads to protection against Cucumber mosaic virus. Phytopathology 93, 1301-1307.
- Noel, G. R. 1990. «Evaluation of thuringiensin of *H. glycines* on Soybean», J. Nematol., 22(4s):763-766.
- Noling, J. 2016. Manejo de nematodos en tomates, pimientos y berenjenas. Extensión IFAS de la Universidad de Florida, ENY-032.

- Noling. 2016. Departamento de Entomología y Nematología, Centro de Educación e Investigación de Cítricos de Extensión UF / IFAS, Lake Alfred, FL 33850.
- O. Fernández y A. Quesada, «<https://www.sfe.go.cr>,» Servicio Fitosanitario del Estado, 2014. [En línea]. Available: [https://www.sfe.go.cr/tramites/Nematodos asociados a los Cultivos de Costa Rica.pdf](https://www.sfe.go.cr/tramites/Nematodos%20asociados%20a%20los%20Cultivos%20de%20Costa%20Rica.pdf). [Último acceso: 20 febrero 2014].
- Oka, Y. 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments—a review. *Applied Soil Ecology*. 44(2): 101-115.
- Orberá, T., Serrat, M., & Ortega, E. 2014. Potencialidades de la cepa SR/B-16 de *Bacillus subtilis* para el control de enfermedades causadas por hongos en cultivos de interés agrícola. *Biotecnología Aplicada*. 31: 7-12.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M., Sahin, F., 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Scientia Horticulturae* 111, 38-43.
- Parada, R. Y. y Guzmán, R. F. Evaluación de extractos botánicos contra el nematodo *Meloidogyne incognita* en frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Agron. Mesoam*. 8(1):108-114.
- Perry, R. y Moens, M. 2009. *Root-Knot Nematodes*. First edition. CABI. London, United Kingdom. 483 p.
- Prasad, B.N.K (1972) *in vitro* effect of drugs pathogenic and nonpathogenic free-liv-ing amoebae and on anaerobic amoebae. *Indian J. Exp. Biol*. 10:43-45.
- Reddy, M. S.; R. I. Ilao; P. S. Faylon; W. D. Dar; R. Sayyed; H. Sudini; K. V. K. Kumar & A. Armanda. 2013. “Recent advances in biofertilizers and biofungicides (PGPR) for sustainable agriculture. Proceedings of 3rd Asian Conference on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and other Microbials, Manila, Philippines, 21-24 April, 2013.” In Recent advances in biofertilizers and biofungicides (PGPR) for sustainable agriculture. Proceedings of 3rd Asian Conference on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and other Microbials, Manila, Philippines, 21-24.

- Ruiz-Sánchez, E., Mejía-Bautista, M., Cristóbal-Alejo, J., Valencia-Botín, A., & Reyes-Ramírez, A. 2014. Actividad antagónica de filtrados de *Bacillus subtilis* contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 5 (7): 1325-1332.
- Salazar, A. W. and Guzmán, H. T. 2014. Efecto nematocida de extractos de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp., asociado al tomate en Nicaragua. *Agron. Mesoamericana*. 25(1):111-119.
- Salmerón, T. y T. Cabello. 1989. Incidencia de *Meloidogyne incognita* en cultivos de tabaco de la Vega de Granada (SE. de España). *Bol. San. Veg. Plagas*. 4(1): 307-314.
- Seid A, Fininsa C, Mekete T, Decraemer W, Wesemael WM. 2015. Tomate (*Solanum lycopersicum*) y nematodos del nudo de la raíz (*Meloidogyne* spp.), una batalla de un siglo de antigüedad . *Nematología*; 17 (9): 995–1009.
- Semillaria. 2015. Clasificación taxonómica de tomate (en línea). s.p. Consultado 10 may. 2016. Disponible en <http://semillaria.es/index.php/cultivos-ok/29-cultivos/94-taxonomia>.
- Serrano, L., Manker, D., Brandi, F., Cali, T., 2013. The Use of *Bacillus subtilis* QST 713 and *Bacillus pumilus* QST 2808 as Protectant Fungicides in Conventional Application Programs for Black Leaf Streak Control. International IShs-Promusa Symposium on Bananas and Plantains: Towards Sustainable Global Production and Improved Use 986, 149-155.
- Sharma, I.P. y Sharma, A.K. 2015. "Efectos de los niveles iniciales de inóculo de *Meloidogyne incognita* J₂ en el desarrollo y crecimiento de Tomato. PT-3 bajo condiciones de control ". *African Journal of Microbiology Research* 9.20: 1376-1380.
- Siddiqui, Z.A. *et al.* 2001. Effects of *Pseudomonas fluorescens* and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Applied Soil Ecology*, v.16, p.179-185.
- Solano, T.F. 2012. Los Plaguicidas agrícolas en Ecuador: Impactos en la producción, la salud y el ambiente. Universidad Agraria de la Habana. Monografía 16 p.

- Sosa, A., Pazos, V., & Torres, D. (2005). Aislamiento y selección de bacterias pertenecientes al Género *Bacillus* con potencialidades para el control biológico en semilleros de tabaco. *Centro Agrícola*. 32 (3): 25- 29.
- Starr, J.L; Robinson, A.F; Smith, R.G; Krausz, J.P. 1993. *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* associated with soil textures from some cotton production areas of Texas. *Journal of Nematology (Supplement)* 25:895-899.
- Teixeira, de Paula A., Ribeiro Braga F., de Carvalho L.M., Teixeira Lelis R., Kramer de Mello I.N., de Oliveira Tavela A., de Freitas Soares Fillipe E., Maldonado Junior A., da Silva Garcia J., de Araújo J.V. 2013. First report of the activity of predatory fungi on *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae) first-stage larvae. *Act Trop* 2013; 127: 187-190.
- Turan, M., Ekinci, M., Yildirim, E., Gunes, A., Karagoz, K., Kotan, R., Dursun, A., 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 38, 327-333.
- UF.2016. Departamento de Entomología y Nematología, Extensión UF/IFAS.ENY-032.
- Valdepeña, F. (2017). Evaluación del comportamiento del tomate, mediante la aplicación de fertilizantes orgánicos e inorgánicos bajo condiciones de casa de sombra. Torreón, Coahuila, México. (Tesis de grado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. En línea: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/8345/FRE DY%20NOE%20VALDEPE%C3%91A%20CANIZAL.pdf?sequence=1>.
- Verdejo, S. 2015. Principles for root-knot nemátodo management in protected cultivation. Resúmenes 47 Reunión Anual de la Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos(ONTA). 18-22 mayo. Matanzas. Cuba. p. 62.
- Xia, Y.; S. Xie; X. Ma; H. Wu; X. Wang & X. Gao. 2011. The purL gene of *Bacillus subtilis* is associated with Condemarín et al.: Efecto de bacterias nativas del suelo cultivado

y prístino sobre el control del nematodo agallador radicular nematicidal activity. FEMS microbiology letters, 322(2): 99-107.

Xiao-ying, G., Chun-e, H., Tao, L., Zhu, O., 2015. Effect of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on Growth of Greenhouse Tomato and Rhizosphere Microbial Community. Journal of Northeast Agricultural University (English Edition) 22, 32-42.

Zeng, J.; Zhang, Z.; Li, M.; Wu, X.; Zeng, Y. and Li, Y. 2017. Distribution and molecular identification of *Meloidogyne* spp. parasiting Flue-cured Tobacco in Yunnan, China. Plant Protect. Sci. 1-7. Doi: 10.17221/82/2017-PPS.