

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Efecto de Bacterias Promotoras de Crecimiento Sobre el Nematodo Agallador
Meloidogyne incognita en Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Por:

ANTONINA REYES GÓMEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLÓGO

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Efecto de Bacterias Promotoras de Crecimiento Sobre el Nematodo Agallador
Meloidogyne incognita en Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

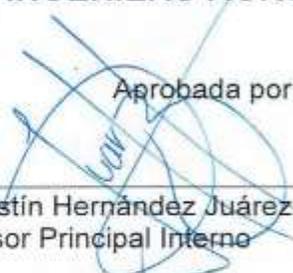
Por:

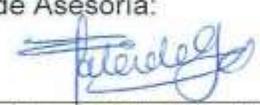
ANTONINA REYES GÓMEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Agustín Hernández Juárez
Asesor Principal Interno


Dra. Fabiola Garrido Cruz
Asesor Principal Externo


Dra. Miriam Desiree Dávila Medina
Coasesor


Dr. Epifanio Castro del Ángel
Coasesor


Dr. Alberto Sandoval Rangel
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2024

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante

Antonina Reyes Gómez

Nombre y Firma

Asesor Principal

Dr. Agustín Hernández Juárez

Nombre y Firma

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Dios por darme la oportunidad de vivir y por darme una familia que está siempre para mí, que me apoyan y me aman, por cuidarme en toda mi vida, más en estos 5 años de universidad, que al estar lejos de casa y de mi familia me dio fuerza y sabiduría para seguir adelante y enfrentar los problemas que se me presentaron.

A mis padres por siempre estar conmigo, apoyándome en cada decisión que tome, por darme la mejor formación, por los valores que me inculcaron, por darme todo su amor, por enseñarme a trabajar, a no rendirme y luchar por mis sueños... muchas gracias, porque este logro es gracias a ustedes, gracias a Dios por seguir conmigo y espero muchos años seguir juntos, que dios los siga bendiciendo y cuidando donde quiera que estén.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por ser la primera opción y aceptarme para seguir creciendo como persona y lograr este sueño, por formarme y darme las herramientas suficientes para enfrentar la vida como profesionista.

Al Dr. Agustín Hernández Juárez por darme la oportunidad de realizar este trabajo, por la confianza y el apoyo brindado, gracias por todo.

A la Dra. Fabiola Garrido Cruz por estar presente en cada paso guiándome, apoyándome y llenándome de su conocimiento, gracias por su tiempo, paciencia y dedicación por las cuales logre terminar mi trabajo de titulación, infinitas gracias.

A la Dra. Miriam Desireé Dávila Medina y al Dr. José Guadalupe Ontiveros Guerra por ser parte importante para elaborar este trabajo, gracias por su tiempo y dedicación y al Dr. Epifanio Castro del Ángel por ser parte de mi jurado en presentación de este proyecto.

DEDICATORIA

Para mi mamá:

Eusebia Gómez Alarcón

Gracias por darme la vida, tu inmenso amor, cariño y cuidado desde que nací, porque gracias a ti y mi papá me educaron y dieron lo necesario para ser la persona que ahora soy, gracias infinitas por todo.

Para mi papá:

Hilario Reyes Alarcón

Por guiarme con tus consejos e inculcarme los valores que me han llevado a donde estoy, por protegerme y estar, por siempre sacar lo mejor de mí siempre, por apoyarme en las decisiones que he tomado, por generar en mi responsabilidad y amor hacia las cosas que decidimos hacer, gracias por ser el mejor papá y siempre poner el ejemplo.

A mis hermanos:

Jesús Reyes Gómez

Por apoyarme y siempre estar conmigo, cuidándome y dando el amor y cariño siempre, gracias por ser un gran hermano.

María Guadalupe Reyes Gómez

Porque, aunque ya no estas con nosotros doy gracias por el amor y cariño que me brindaste, por las risas y todos los momentos bonitos que pasamos, sigo extrañándote, pero doy gracias a Dios por darme la oportunidad de haber tenido una hermana como tú, aunque haya sido por poco tiempo, gracias, hermana donde quiera que estés.

Lino Reyes Gómez

Gracias por estar en mi vida como mi hermano, gracias por enseñarme a ser fuerte y generar ese carácter que ahora tengo, gracias, hermano.

A mi novio:

Fernando de Jesús Vázquez Quintana

Principalmente gracias a Dios por ponerte en mi camino, ya que has sido una gran motivación y un grande apoyo en mi vida, gracias por el amor infinito que me has brindado, por escucharme, por apoyarme y no dejar que nada me detenga en lo que he soñado, por no dejar que me rinda a pesar de los problemas, gracias porque contigo a mi lado y tu amor he cumplido con mis propósitos y lo seguiré haciendo.

A mis amigas:

Zered Betbirai Ventura Navarrete

Por ser parte de la mitad de mi vida, por ser una hermana para mí, gracias por apoyame, escucharme, darme ese amor y cariño que, a pesar de los problemas siempre estas, gracias, hermana de otra madre.

Yohanee Medina Uriarte

Gracias a Dios por conocerte, por tenerte en mi vida como mi mejor amiga, por el apoyo incondicional en la universidad, por superar juntas cualquier obstáculo y apoyándonos juntas en todo, gracias, mejor amiga.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	VI
DEDICATORIA.....	VII
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	IX
ÍNDICE DE CUADROS	XII
ÍNDICE DE FIGURAS	XIII
RESUMEN	XV
INTRODUCCIÓN	1
Justificación	3
Objetivos.....	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos.....	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Generalidades del cultivo del tomate	4
Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	4
Clasificación taxonómica del Tomate	4
Importancia del Tomate	5
Plagas y enfermedades	6
Nematodos Fitopatógenos.....	6
Nematodos en el cultivo de tomate	7
<i>Meloidogyne</i> spp.....	7
Clasificación taxonómica del género <i>Meloidogyne</i>	8
Descripción Morfológica	8
<i>Meloidogyne incognita</i>	9
Ciclo biológico y hábitos	10
Distribución Geográfica y Cultivos Hospederos.....	11

Daños y Sintomatología.....	11
Tipos de control	11
Control químico	11
Control físico.....	12
Control cultural	12
Control biológico.....	13
Bacterias promotoras de crecimiento vegetal o biofertilizantes (PGPR).....	13
<i>Bacillus</i> spp.....	13
<i>Bacillus vallismortis</i>	14
<i>Bacillus velezensis</i>	15
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	15
MATERIALES Y MÉTODOS	16
Localización de Áreas de Estudio	16
Muestras de Plantas Infectadas con Nematodos Fitoparásitos.	16
Extracción de Nematodos.....	17
Preparación de Tratamientos Bacterianos.....	18
Preparación de plántula de tomate.	18
Trasplante.....	19
Inoculación de Plantas.....	19
Inoculación de Tratamientos.....	20
Diseño estadístico.....	22
Variables Agronómicas	23
Análisis Estadístico.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
Identificación de nematodos	25
Evaluación de variables agronómicas de plantas de tomate	27
Efectividad biológica de diferentes dosis de caldos bacterianos en el control de <i>Meloidogyne incognita</i> en plantas de tomate	38
CONCLUSIONES	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de tratamientos de las bacterias.....	22
Cuadro 2. Distribución de tratamientos	22
Cuadro 3. Escala de estimación de daño en raíz por <i>Meloidogyne</i> sp.....	24
Cuadro 5. Índice de agallamiento radicular con la aplicación de diferentes tratamientos de caldos bacterianos, en plantas de tomate.	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Corte Perineal de <i>Meloidogyne incognita</i> (Eisenback et al., 1981).	9
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Meloidogyne incognita</i> (Subedi et al., 2020).....	10
Figura 3. Raíces infectadas de cultivo de tomate.....	16
Figura 4. Tamizado de raíces de tomate infectadas para extracción de nematodos.	17
Figura 5. Preparación de tratamientos bacterianos.....	18
Figura 6. Siembra de semillas en charolas.	19
Figura 7. Trasplante de plántula de tomate a bolsas negras de un kilo.	19
Figura 8. Inoculación de nematodos	20
Figura 9. Tratamientos de bacterias.....	21
Figura 10. Aplicación de tratamientos en plantas de tomate en el sustrato alrededor del tallo.....	21
Figura 11. Hembra adulta de <i>Meloidogyne</i>	25
Figura 12. Cortes perineales de hembras adultas extraídas de raíces de tomate, correspondientes a <i>Meloidogyne incognita</i> con arco dorsal alto y cuadrado, sin líneas laterales visibles.	26
Figura 13. Altura de plantas de tomate a los 40 Días después de la inoculación de nematodos.	28
Figura 14. Altura de las plantas de tomate a los 60 días después de la inoculación de nematodos.	28
Figura 15. Distancia de entrenudos en las plantas de tomate a los 40 días después de la inoculación de nematodos.....	29
Figura 16. Distancia de entrenudos de las plantas de tomate de diferentes tratamientos a los 60 días después de la inoculación de los nematodos.....	30
Figura 17. Longitud de hojas de las plantas de tomate a los 40 días después de la inoculación de los nematodos.....	31
Figura 18. Longitud de hojas a los 60 días después de la inoculación de nematodos de los diferentes tratamientos.	31

Figura 19. Medidas de clorofila con las Unidades SPAD de las hojas de las plantas de los diferentes tratamientos a los 60 días.	32
Figura 20. Diámetro de tallo de las plantas de tomate de los diferentes tratamientos a los 40 días después de la inoculación de los nematodos.	33
Figura 21. Diámetro de tallo de plantas a los 60 días después de la inoculación de los nematodos.....	34
Figura 22. Floración de las plantas de tomate a los 40 días después de la inoculación de nematodos.	35
Figura 23. Número de flores en plantas de tomate con los diferentes tratamientos a los 60 días.....	35
Figura 24. Longitud de raíces de plantas de tomate a los 60 días después de la inoculación de los nematodos.....	36
Figura 25. Peso fresco de raíces de tomate tomadas a los 60 días después de la inoculación de nematodos en los diferentes tratamientos.....	37
Figura 26. Peso seco de raíces de tomate tomadas a los 60 días después de la inoculación de los nematodos.....	38
Figura 27. Raíz de testigos A) Testigo sin nematodos, regada con agua corriente y B) Testigo con nematodos, regada con agua corriente.....	39
Figura 28. Raíces de tomate con agallamiento con tratamiento de A: <i>Bacillus velezensis</i> al 100% y B: <i>Bacillus velezensis</i> al 50%.	40
Figura 29. Raíces de tomate con agallamiento con tratamiento de A) <i>Bacillus vallismortis</i> al 100% y B) <i>Bacillus vallismortis</i> al 50%.	40
Figura 30. Raíces de tomate con poco agallamiento en tratamientos con nematodos. A) <i>Pseudomonas fluorescens</i> al 100% y B) <i>Pseudomonas Fluorescens</i> al 50%..	41
Figura 31. Índice de agallamiento radicular en plantas de tomate tratadas con bacterias promotoras de crecimiento.	42

RESUMEN

El uso excesivo de nematocidas químicos ha afectado la salud humana, el suelo y ha provocado el desarrollo de resistencia en los nematodos. *Meloidogyne incognita* es una de las principales plagas en la raíz en el cultivo de tomate, debido a que este nematodo provoca grandes pérdidas en el rendimiento de este cultivo. En la presente investigación se evaluaron tres caldos bacterianos (*Bacillus vallismortis*, *Bacillus velezensis* y *Pseudomonas fluorescens*) como nematocidas contra *M. incognita*, así como su efectividad como promotores de crecimiento en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero. La extracción de nematodos de raíces de tomate con síntomas de agallamiento se llevó a cabo en el Laboratorio de Nematología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. La extracción se realizó por la metodología de tamizado y centrifugado, y la identificación por medio de cortes perineales de hembras de *M. incognita*. Plantas de tomate var. Floradade se inocularon con 3200 huevos y juveniles de *M. incognita*, aplicados alrededor del tallo de la planta. La preparación de los diferentes caldos se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila. Después de 7 días de inoculación de los huevos y juveniles se realizó la primera inoculación de los caldos bacterianos con concentraciones del 50 y 100% de *B. vallismortis*, *B. velezensis* y *P. fluorescens* alrededor del tallo, se aplicaron de igual forma que los nematodos. La segunda y tercera aplicación fue a los 20 y 40 días posteriores. A los 40 y 60 días después de la inoculación de los nematodos se evaluaron las variables agronómicas (diámetro de tallo, altura de planta, longitud de raíz, peso fresco de raíz,) y se extrajeron las plantas con las raíces para evaluar la actividad nematocida de los tratamientos por medio del índice de agallamiento causado por los nematodos. Se observaron diferencias en el diámetro del tallo con una media significativa más alta de 5.64 cm con *B. vallismortis* al 50%, mientras que el testigo con la media más baja con 2.97 cm. A los 60 días se comprobó que *P. fluorescens* al 50% fue significativamente el mejor tratamiento; en altura de planta con un crecimiento de 79.80 cm, longitud de raíz con 51.60cm y peso fresco de raíz con 11.20 g, seguido por *B. vallismortis* al 50% con altura de planta de 64.80 cm, longitud de raíz de 51.10 cm, peso fresco de raíz con 7.80 g y en tercera posición *P. fluorescens* al 100% con una altura de planta de 72.40 cm, 45.0 cm de longitud de raíz y un peso fresco de raíz de 7.40 g.

Palabras clave:

Bacillus vallismortis, *Bacillus velezensis*, control biológico, nematodos, *Pseudomonas fluorescens*.

INTRODUCCIÓN

El nematodo fitopatógeno *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White, 1919) (Tylenchida: Heteroderidae) también conocido como nematodo agallador, es una plaga que tiene gran importancia a nivel mundial, ocasionando daño a más de 2000 especies de cultivos, afectando el rendimiento y causando pérdidas significativas (Seid *et al.*, 2015). Entre los cultivos más afectados se encuentra el tomate *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae), parasitando en la raíz. Los primeros y característicos síntomas que se presentan son nódulos o agallas, las cuales son deformaciones globosas causadas por la hembra adulta de esta especie (Ortiz *et al.*, 2015).

Los síntomas secundarios aparecen en las hojas, con amarillamiento con clorosis y marchitamiento por la falta de nutrientes, hasta causar la muerte de la planta. Este patógeno se esparce fácilmente por medio de material y herramientas de trabajo o plantas contaminadas, pues al no observarse a simple vista, su propagación es más rápida (Agrios, 2005).

La principal técnica de control es el uso de nematicidas químicos, principalmente fumigantes, que actúan esterilizando el suelo, afectando insectos benéficos y provocando daños al medio ambiente, por lo cual, algunos ingredientes se han retirado del mercado (Huang *et al.*, 2018).

Debido al uso excesivo de nematicidas químicos, se ha impulsado la investigación con alternativas menos dañinas. Entre las técnicas más utilizadas, se encuentra el control biológico; método efectivo para el control de diversas plagas, respetando principalmente la fauna benéfica, al medio ambiente, así como la salud de los consumidores (Pacheco *et al.*, 2020).

Estudios han comprobado que las bacterias y hongos del suelo son los microorganismos más eficientes para el control biológico (Forghani y Hajihassani, 2020). Se ha demostrado que las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB) que benefician la nutrición y crecimiento de plantas, también son efectivas para el manejo de algunos patógenos radicales y aéreos (Guzmán *et al.*, 2013). Dentro de estos antagonistas se encuentran los géneros *Bacillus* (Cohn), *Pseudomonas* (Migula), *Pasteuria* (Thorne), *Rhizobium* (Frank) entre otras; algunas con potencial nematicida (Forghani y Hajihassani, 2020).

El género *Bacillus* tiene la capacidad para producir endosporas duras y resistentes que las protege del medio ambiente, así como antibióticos que actúan sobre una amplia gama de fitopatógenos, participa en la síntesis de hormonas vegetales y en la resistencia sistémica a largo plazo en las plantas (Shafi *et al.*, 2017).

Se ha comprobado que algunas cepas de *Bacillus* spp. presentan un efecto nematicida en huevos de *M. incognita*, efecto combinado de naturaleza enzimática, combinación de esporas y cristales tóxicos, ejerciendo su acción sobre la pared de los huevos e inhibiendo el proceso de eclosión (Márquez *et al.*, 2003).

Bacillus velezensis funciona como un bionematicida, debido a sus enzimas extracelulares que degradan la cutícula del nematodo; en estudios *in vitro* le atribuyen la eliminación de proteína y quitina en huevos evitando la eclosión (Adam *et al.*, 2014), y en plantas de pepino generó resistencia en la raíz al nematodo agallador *M. incognita* reduciendo los daños (Tian *et al.*, 2022).

Las cepas de *Pseudomonas* inhiben el desarrollo de diversos patógenos, mostrando altos porcentajes por su capacidad de producir metabolitos de naturaleza antibiótica, que causan efectos indirectos favoreciendo a la planta, tales como la síntesis de compuestos antibacterianos y fungicidas, la competencia por nutrientes, la producción de sideróforos y la inducción de resistencia sistémica, principalmente la cepa de *P. fluorescens*, tiene la capacidad de adaptarse fácilmente al suelo para sobrevivir y colonizar el sistema radicular de las plantas (Álvarez, 2020).

La característica principal de *P. fluorescens* es que son bacterias de la rizosfera que tienen la capacidad de colonizar raíces, presentan efectos tóxicos a nematodos, por lo que reducen la infección en las plantas por varios nematodos fitoparásitos (Siddiqui y Shaukat, 2002).

Justificación

Debido al impacto ambiental actual, daño a la salud humana y resistencia a los nematocidas, causado por el uso excesivo de productos químicos para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, son necesarias alternativas ecológicas, sin efectos dañinos a la salud y al medio ambiente.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto nematocida de tres bacterias promotoras de crecimiento en plantas de tomate infectadas con *Meloidogyne incognita*.

Objetivos específicos

Aislar e identificar el género y especie de *Meloidogyne*.

Evaluar el efecto nematocida de *Bacillus velezensis* contra el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en plantas de tomate en invernadero.

Evaluar el efecto nematocida de *Bacillus vallismortis* contra el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en plantas de tomate en invernadero.

Evaluar el efecto nematocida de *Pseudomonas fluorescens* contra el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en plantas de tomate en invernadero.

Evaluar variables agronómicas en plantas de tomate como efecto de *Meloidogyne incognita* y los tratamientos bacterianos.

Hipótesis

Al menos un tratamiento bacteriano causará disminución de la población de *Meloidogyne incognita*, así como un efecto promotor en el desarrollo de las plantas de tomate.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del cultivo del tomate

Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

El tomate es un cultivo popular mundialmente, ya que se adapta rápidamente a distintos suelos y climas, este alimento es una de las hortalizas más consumidas por el ser humano que genera gran valor monetario; así como empleos y un gran valor nutricional (FAO, 2010).

Esta hortaliza se siembra durante todo el año, por lo tanto, está disponible a la venta tanto en frutos fresco como procesado, contiene vitaminas A, C y E, con fibra, está compuesto por gran cantidad de agua y pocas calorías, por lo cual mantiene hidratado al cuerpo humano y es ampliamente consumido (SAGARPA, 2016).

Clasificación taxonómica del Tomate

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Solanum*

Especie: *lycopersicum* L.

(Vibrans, 2009)

Importancia del Tomate

El tomate también conocido como jitomate es uno de los cultivos de hortalizas más importantes a nivel mundial, se encuentra en segundo lugar después del cultivo de la papa, cuenta con un alto nivel nutricional de licopeno y vitaminas; estos se consideran “antioxidantes” ya que están asociados a la prevención de enfermedades cardiovasculares y carcinogénicas (Luna y Delgado, 2014).

Esta hortaliza cuenta con una alta aceptación gustativa y con una gran cantidad de maneras de preparación culinarias para la gastronomía, esto lleva a una gran cantidad de demanda a nivel nacional e internacional, ya que cuenta con un grado de inocuidad y calidad muy elevado, por lo tanto, es una de las especies vegetales con mayor rendimiento y estabilidad en el mercado. Existe una gran variedad de tomates, todos con estándares de producción muy elevadas (Hidroponía, 2015).

La condición óptima para el cultivo de tomate es de 20 a 25°C de temperatura, con temperaturas altas y climas húmedos, en zonas templadas y cálidas, con un pH ligeramente ácido, suelos profundos y bien aireados, con 30 a 40 cm entre planta en invernadero y 25 a 40 cm en campo abierto aproximadamente (SIAP, 2017).

A nivel mundial, México está colocado en el lugar número 10 de producción de tomate con 4,047,171 toneladas por año, ocupando el primer lugar en producción China con 56,423.811 toneladas por año y el segundo lugar India con una producción anual de 18,399,000 toneladas (Atlas, 2020).

México es el principal proveedor a nivel mundial de tomate, aportando el 25.11% a las exportaciones mundiales, con una siembra en invernadero de 22,236 hectáreas, y un rendimiento promedio de 63 ton/ha. y una producción en el 2020 tanto en invernadero como a campo abierto de 3 millones 370 mil 826 toneladas (SIAP, 2021).

México exporta la hortaliza a Estados Unidos, Canadá, Japón, Emiratos Árabes Unidos y Singapur; del total vendido al mercado exterior, 56.9% es tomate, Roma, 23.1% Bola, 12.7% Grape (uva), 2.1% Cherry y 5.2% de otras variedades (SIAP, 2021).

En la producción de primavera-verano en el 2022 a nivel nacional se obtuvo 1,193,391 ton, siendo Sinaloa el primer lugar de producción con 709,000 ton,

seguido de San Luis Potosí con 343,670 ton, Michoacán con 237,841 ton, Baja California Sur con 164,507 ton y Zacatecas con 150,970 ton (SIAP, 2022).

Este cultivo ha presentado una gran variedad de problemas y enfermedades, principalmente hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos, provocando grandes pérdidas en la producción (Roque *et al.*, 2021).

Plagas y enfermedades

Todos los cultivos presentan una amplia gama de plagas y enfermedades que pueden cambiar según la región, clima y etapa fenológica en que se encuentre. El cultivo de tomate presenta un amplio rango de fitopatógenos, afectando su rendimiento y cuyo control ha sido enfocado con productos químicos, los cuales a pesar de ser rápidos y eficaces provocan varias consecuencias, entre estas, excesivos costos, resistencia a dichas plagas, problemas a la salud y daños a los insectos benéficos (Agrios, 2005).

Existen algunos métodos para evitar este tipo de problemas en el cultivo de tomate, estos serían; un buen manejo de riego, evitando inundaciones, una buena aplicación de fertilizantes, eliminación de malezas y una compra de semillas resistentes (FAO, 2013).

El cultivo de tomate tiene diversas especies plaga que causan daño económico, entre las más importantes esta la palomilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidóptera: Gelechiidae), la paratrioza *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae), mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), minador *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae), araña roja o de dos puntos *Tetranychus urticae* (Koch) (Trombidiformes: Tetranychidae), además; existen alrededor de 200 fitopatógenos destacando el tizón tardío (*Phytophthora infestans*) (Mont), tizón temprano (*Alternaria solani*) (Sorauer), pudrición de la raíz (*Fusarium* spp.) (Masse), antracnosis (*Colletotrichum* spp.) (Corda) y el nematodo agallador (*Meloidogyne* spp.) (Goeldi) (Bravo *et al.*, 2020).

Nematodos Fitopatógenos

Son gusanos microscópicos que se localizan en el suelo cerca del sistema radical de la planta, llegan a medir entre 0,2 a 1 mm de longitud. Algunas de las especies se consideran muy peligrosas en la agricultura ya que se alimentan de las raíces, hojas, tallos y semillas, ocasionando un rendimiento bajo en los cultivos dañados (Rossini *et al.*, 2016).

Los nematodos se dividen en tres grupos principales debido a su alimentación y movilidad: endoparásitos migratorios, los cuales se alimentan dentro del tejido de las raíces y pueden migrar a otras partes de la planta, los endoparásitos sedentarios los cuales se fijan en un sitio de alimentación dentro de la planta, dejan de moverse y se alimentan solamente de una locación. Y los ectoparásitos, los cuales se alimentan de la raíz de la planta, pero permanecen afuera de ella (Coyne *et al.*, 2007).

En los últimos tiempos se han presentado problemas con nematodos tanto en espacio libre, así también como en invernadero, esto se debe a la falta de rotación de cultivos, a la mala desinfección de suelos o implementos utilizados y condiciones ambientales (en la temperatura del suelo). La mayoría de sus especies son un problema para una gran variedad de cultivos, entre ellos está el de la papa, el tomate, la calabaza, el pepino, etc. (Villanueva *et al.*, 2022).

Nematodos en el cultivo de tomate

Los nematodos fitoparásitos son uno de los factores limitantes para la producción del cultivo de tomate, entre los nematodos más importantes que ocasionan pérdidas considerables en este cultivo son los géneros *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Tylenchorhynchus* spp. y *Helicotylenchus* spp. (Salazar y Guzmán, 2013).

***Meloidogyne* spp.**

Es el género que ocasiona más daños en el cultivo de tomate. Este nematodo tiene más de 3000 plantas hospedantes afectando su sistema radical, de las cuales 90 especies son de importancia económica, entre ellas están *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla* y *M. incognita*, en tomate, este género ha reducido tanto en rendimiento de fruto como en calidad y se han estimado pérdidas de hasta 61% (Ghareeb *et al.*, 2022).

Clasificación taxonómica del género *Meloidogyne*

Phylum: Nematoda

Clase: Secementea

Subclase: Diplogasteria

Orden: *Tylenchida*

Suborden: Tylenchina

Superfamilia: Tylenchoidea

Familia: Heteroderidae

Subfamilia: Meloidogyninae

Género: *Meloidogyne*

(Cepeda, 1996)

Descripción Morfológica

En el género *Meloidogyne* tanto la hembra como el macho y juveniles presentan en la boca un estilete en forma de jeringa con el cual perforan y obtienen su alimento, este género presenta dimorfismo sexual, las hembras son globosas en forma de pera con un cuello pronunciado y de color blanco, se encuentran en la raíz inmóviles, los machos son alargados en forma de gusanos y con colas afiladas y al igual que las larvas juveniles son mas libres y se encuentran cerca de la raíz de la planta, la reproducción puede ser sexual o partenogénesis (Frápolti, 1949).

El procedimiento más utilizado para la identificación de especies es el estudio del patrón perineal, este se realiza en las hembras adultas, se realiza un corte en la parte posterior de la hembra y consiste en líneas laterales y pliegues cuticulares propias de cada especie. Para complementar esta información se realiza la identificación en juveniles de segundo estadio, observando la región cefálica y estilete, así como forma y tamaño de la cola tanto en hembras como machos (Vélez y Guzmán, 2022).

Meloidogyne incognita

Para la identificación de *M. incognita* se realiza un “Corte Perineal” en las hembras adultas, observando los patrones perineales en los cuales tienen un arco dorsal alto distinto compuesto de estrías lisas a onduladas. Algunas estrías, presentan bifurcación cerca de las líneas laterales (Fig. 1). A menudo hay estrías que se doblan hacia la vulva (Eisenback *et al.*, 1981).

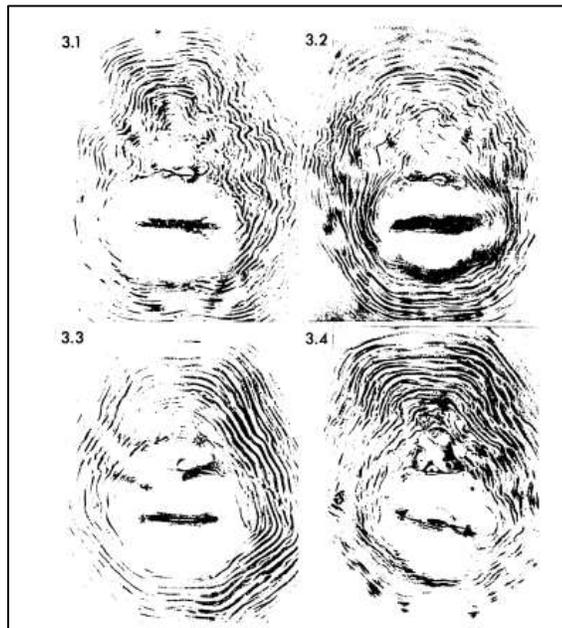


Figura 1. Corte Perineal de *Meloidogyne incognita* (Eisenback *et al.*, 1981).

El estadio juvenil (J2), es vermiforme, anillado y con longitud de 250 a 600 micras. La estructura de la cabeza está compuesta de un anillo post-labial, puede ser subdividida por una cisura transversal, con una capa protectora con un largo disco labial redondeado y normalmente fusionado con los cuatro labios medios como la de los machos, pero más pequeña y con una débil región cefálica esclerotizada. Su estilete recto mide de largo de 9 a 16 micras, y la posición del DGO (Orificio de la glándula dorsal esofágica) está de 2 a 12 micras detrás del nódulo basal del estilete (Perry y Moens, 2006).

Su metacorpus es relativamente pequeño, tiene tres glándulas faríngeas presentadas con superposición al intestino. Usualmente el recto es claramente inflado. La cola tiene de 15 a 100 micras de largo y la punta de la cola es estrecha

terminando en una región de la cola hialina. Los fásmidos son muy pequeños y están localizados a un tercio de la longitud de la cola abajo del nivel del ano. Los campos laterales tienen cuatro incisiones con bandas areoladas. La tercera etapa juvenil y cuarta etapa son sedentarias dentro de la raíz, más gruesas (Perry y Moens, 2006).

Ciclo biológico y hábitos

El ciclo biológico del género *Meloidogyne* comienza con huevo y pasa por cuatro estadios larvales; los huevos se encuentran en una masa gelatinosa que produce la hembra en su estado adulto, por fuera de la raíz y cada masa tiene un aproximado de 900 a 1000 huevos, los cuales rompe la larva con su estilete y pasan al segundo estadio juvenil (J2) rompiendo su primera muda, en esta etapa la larva se mantiene en el suelo buscando raíces, al encontrarlas penetra en ellas para alimentarse, posteriormente pasa al tercer estadio juvenil (J3) teniendo una muda, aquí se comienzan a diferenciar el tipo de sexo, y por último se tiene la última muda (J4) observándose el dimorfismo sexual. La hembra se queda pegada a la raíz y se hace globular, comienza a producir huevos en un saco mucilaginoso, este por lo general se observa por fuera de la raíz y el macho sale de la raíz, largo y como adulto filiforme (Fig. 2). El ciclo se completa entre 25 y 42 días, esto depende de temperatura, especie y cultivo; la temperatura óptima esta entre 25 y 30°C con suelos cálidos (Frápolti, 1949; Lezaun, 2016).

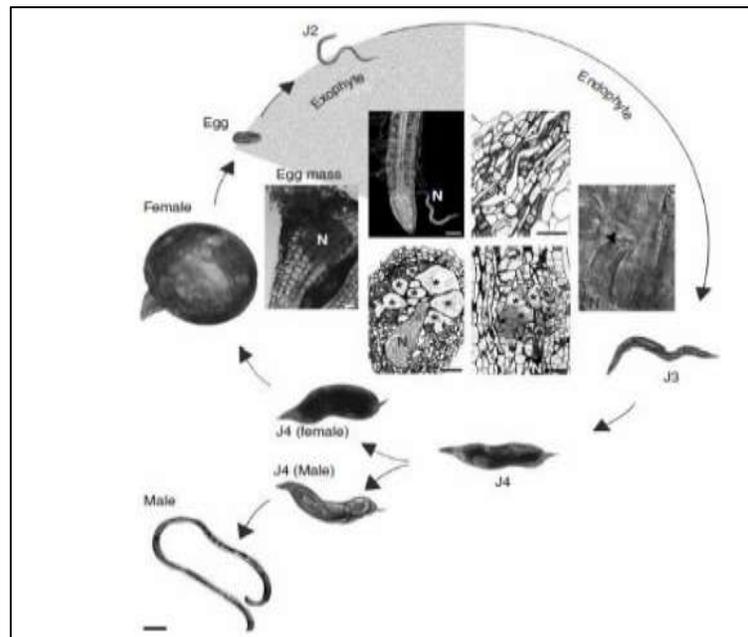


Figura 2. Ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* (Subedi et al., 2020).

Distribución Geográfica y Cultivos Hospederos

El género *Meloidogyne* está ampliamente distribuido a lo largo de las áreas agrícolas, en muchos países del mundo. Esta principalmente en zonas tropicales, subtropicales y regiones más cálidas del mundo. Las especies mas comunes y con mayor daño en cultivo son *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica* que constituyen el 99% de todas las especies identificadas en más de 660 aislamientos de 65 países. *M. incognita* está ampliamente distribuida en los países asiáticos, africanos, Europa, Oceanía y América (Yigezu, 2021).

Daños y Sintomatología

El daño directo es causado por la forma de alimentación que tiene el nematodo en la planta pero mayormente por la secreción de saliva introducida en los tejidos de la planta durante la alimentación. Al perforar la pared celular introducen saliva, extrayendo parte del contenido citoplásmico (Agrios, 2005).

El síntoma más importante es la formación de agallas o nódulos en las raíces causada por la estimulación del proceso de división celular de una manera anormal (hiperplasia) o de un gran número de raíces laterales en o cerca de los sitios de infección, al igual que el alargamiento anormal de las células (hipertrofia), esto causado por el nematodo, que al entrar rompe el tejido de la raíz permitiendo la entrada de virus, bacterias y hongos a la planta (Agrios, 2005; Perry *et al.*, 2009).

Otros síntomas causados por la reducción de nutrientes y agua, son la clorosis en el follaje, reducción de crecimiento tanto en la raíz como en la planta causando baja producción de frutos, etc. (Moens *et al.*, 2009).

Tipos de control

El Manejo Integrado de Plagas (MIP) es una parte fundamental para la producción de cualquier cultivo, es un procedimiento que inicia desde la preparación del suelo hasta la cosecha, todo esto se basa de múltiples técnicas y estrategias para la prevención o control de plagas o enfermedades, evitando revasar el umbral económico y así evitar pérdidas en rendimiento y pérdidas económicas (Philbrick *et al.*, 2020).

Control químico

Los agricultores manejan principalmente nematicidas químicos para combatir y tener mejores rendimientos buscando efectividad y rápida acción, aunque sea a costos altos. Existen dos grupos de nematicidas; fumigantes y no fumigantes. Los

fumigantes son en su mayoría aquellos que actúan en la parte gaseosa del suelo eliminando gran parte de organismos vivos en el suelo, son fitotóxicos y su efecto es irreversible, estos mejoran su acción bajo acolchado de plástico y los no fumigantes son la mayoría carbamatos y organofosforados, que son aplicados y actúan directamente en el sistema nervioso del nematodo al alimentarse de la planta, no son fitotóxicos, son menos agresivos al medio ambiente y solo reducen la población de nematodos a niveles tolerables (Lezaun, 2016).

Los fumigantes de suelo 1, 3-dicloropropeno (1, 3-D) y cloropicrina (CP) se pueden utilizar como alternativa al bromuro de metilo. Se utilizan dosis de 150 y 250 kg/ha para controlar la población de nematodos y reducir los índices de agallamiento, aplicándose con el agua de riego (Subedi *et al.*, 2020).

La agricultura actual ha presentado un problema muy grave debido a la aplicación excesiva de grupos químicos muy tóxicos en cultivos con problemas de plagas y enfermedades, por lo cual han retirado algunos productos del mercado que han dejado a los suelos sin microorganismos benéficos, así como insectos voladores, ocasionando esto un suelo infertil, el bromuro de metilo es uno de los productos que han retirado del mercado, buscando así otro tipo de control (Elling, 2013).

Control físico

Es un método que consiste en la utilización de agentes físicos como la temperatura, radiación solar y humedad, estas deben ser letales para los nematodos. En suelos contaminados la solarización (consistente en cubrir el suelo húmedo con plástico transparente por varios días) a temperaturas altas de 45°C reduce una gran población de nematodos (Seid *et al.*, 2015).

Control cultural

Las prácticas culturales previenen la población de plagas, en el cultivo de tomate el uso de plantulas limpias de patógenos obtenidas de viveros confiables y si es posible certificados, semilla certificada o resistente, barbecho de suelo, el uso de herramienta y maquinaria limpia, riegos cerrados, es lo principal para no contaminar de nematodos el suelo (Seid *et al.*, 2015).

Una de las técnicas más comunes y de menor costo es la rotación de cultivos, por lo general se utiliza maíz, sorgo y trigo (gramíneas), ya que se ha comprobado que disminuye la población de nematodos, por lo tanto se recomienda hacerlo con plantas no hospederas al patógeno, en el cultivo de tomate se recomienda un mínimo de 3 años de esta técnica en campos abiertos para observar una población baja (Philbrick *et al.*, 2020).

Control biológico

El control biológico es el uso de organismos vivos que reducen plagas para evitar mayores daños al cultivo, este control puede ser posible por la conservación de enemigos naturales, la introducción de nuevos enemigos naturales y mantener la población, así como la cría en masa y liberación periódica de enemigos naturales a los diferentes cultivos. Muchos microorganismos antagonistas han sido examinados y estudiados, entre estos están incluidos *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., y *Pseudomonas* spp., estos son utilizados para controlar una amplia gama de patógenos de plantas (Fan *et al.*, 2020). Estos microorganismos ayudan directamente a la planta, fortaleciéndola y evitando la entrada de patógenos. Esta es otra herramienta rentable para un mejor control y reemplazar los químicos agrícolas (Forghani y Hajihassan, 2020).

Bacterias promotoras de crecimiento vegetal o biofertilizantes (PGPR)

Las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR) se definen como bacterias de vida libre del suelo, que bajo ciertas condiciones, son beneficiosas para las plantas, actuando de dos formas:

- 1) En el metabolismo de las plantas, al proporcionar sustancias que normalmente escasean, son capaces de fijar nitrógeno atmosférico, solubilizar fósforo y hierro y producir hormonas vegetales, como auxinas, giberelinas, citoquininas y etileno. También mejoran la tolerancia de la planta al estrés, como la sequía, la alta salinidad, la toxicidad de los metales y a los pesticidas.
- 2) Promueve indirectamente el crecimiento de las plantas, ya que producen sustancias que inhiben a otros microorganismos, al limitar la disponibilidad de hierro a los patógenos o al alterar el metabolismo de la planta huésped previniendo los efectos nocivos de los fitopatógenos (Bashan, 2005).

Los géneros de bacterias promotoras de crecimiento vegetal más conocidos y utilizados en la agricultura son: *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* (Tarrand) (Rhodospirillales: Azospirillaceae), *Actinoplanes* (Couch) (Micromonosporales: Micromonosporaceae), *Agrobacterium* (Smith y Townsend) (Rhizobiales: Rhizobiaceae), *Azobacter* (Beijerinck) (Pseudomonadales: Pseudomonadaceae), etc. (Camelo *et al.*, 2011).

***Bacillus* spp.**

El género *Bacillus* fue establecido en 1872 por Cohn y abarca más de 200 especies y subespecies descritas pertenecientes al filo Firmicutes. Las bacterias de este

género se describen como en forma de bastón, Gram-positivas, aerobias o facultativamente anaerobias y catalasa-positivas, cuenta con actividades antagónicas, estas se relacionan con la producción de metabolitos secundarios con propiedades antibióticas y con enzimas líticas que son capaces de actuar como control ante especies de organismos patógenos, también se le conoce como un promotor de crecimiento vegetal (Miljaković et al., 2020).

Las especies de *Bacillus*, como *amyloliquefaciens* (Priest et al.), *licheniformis* (Weigmann) y *vallismortis* (Roberts et al.) (Bacillales: Bacillaceae) producen una gran variedad de metabolitos bioplaguicidas con actividades antifúngicas, insecticidas y nematocidas (Mnif y Ghribi, 2015). Unos de los mecanismos de acción de las cepas de *Bacillus* es la síntesis de enzimas extracelulares, como las proteasas, lipasas y quitinasas, capaces de destruir la integridad física y fisiológica de la cutícula y los huevos de nematodos (Mnif y Ghribi, 2015).

Bacillus vallismortis

La temperatura óptima de crecimiento de esta especie oscila entre 28 y 30°C, son bacilos que miden de 0,8 a 1,0 mm de ancho por 2,0 a 4,0 mm de largo. Es igual en la temperatura y medidas de crecimiento a la de otras especies como *B. atropheus* (Nakamura), *B. mojavensis* (Roberts et al.) y *B. subtilis* (Ehrenberg). Para diferenciarlas se analizan datos de reasociación de ADN, por datos de análisis de digestión de restricción de genes seleccionados y por ácidos grasos datos de analisis (Roberts et al., 1996).

Se ha demostrado que algunas cepas de *B. vallismortis* tienen fuerte actividad antagónica contra antracnosis en *Cymbidium* sp. Sw (Orchidaceae) causada por el patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz. & Sacc. (Glomerellaceae) y la marchitez del algodón causada por *Verticillium dahlia* Klebahn (Plectosphaerellaceae), esto se atribuye a la presencia de compuestos como Bacillomycina D (n-C14) y Bacillomycina D (iso-C15) (Zhao et al., 2010).

Una de las cepas de *B. vallismortis* muy importante es la ZZ185 actua como antifúngica contra enfermedades de raíz de trigo (*Fusarium graminearum* Schwabe [Nectriaceae], *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. [Pleosporaceae], *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn [Agaricomycetes], *Cryphonectria parasitica* (Murrill) M.E. Barr [Cryphonectriaceae] y *Phytophthora capsici* Leonian [Peronosporaceae]). En un estudio realizado en China, se aislo la cepa de *B. vallismortis* EXTN-1 del pimiento rojo, actuado como un buen promotor de crecimiento para plantas y controlador de enfermedades en plantas como el arroz, papa, pepino, tabaco, tomate, etc. (Zhao et al., 2010).

Bacillus velezensis

Esta especie se le llamó así debido a que se aisló en el río Vélez en Málaga, sur de España. Las células son bacilos gram-positivos, de 0.56×1.5–3.5 µm, presentándose individualmente tanto en pares, crecen en un pH entre 5.0 -10.0 y a una temperatura de entre 15 y 45° C (Ruiz *et al.*, 2005).

B. velezensis se ha utilizado ampliamente en el área de biocontrol y como bacteria promotora de crecimiento vegetal; ya que producen diversos metabolitos, que incluyen antibióticos, enzimas, fitohormonas, quelantes de hierro, antioxidantes, entre otros promotores del crecimiento (Adeniji *et al.*, 2019). Las cepas de *B. velezensis* tienen facilidad de aislamiento y replicación, resisten a condiciones ambientales adversas ya que producen esporas que mejoran su acción (Alenezi *et al.*, 2021).

Pseudomonas fluorescens

Esta una bacteria Gram-negativa, con forma de bacilo, por lo general con condiciones de crecimiento de temperaturas entre 25 y 30°C y un pH neutro, no genera esporas, su tamaño es de 0.5-1.0 × 1.5 - 5µm, presenta movilidad debido a varios flagelos polares, produce pioverdina que causa la fluorescencia bajo luz ultravioleta (Álvarez *et al.*, 2020).

El género *Pseudomonas* es uno de los grupos mas estudiados en la actualidad, ya que se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo, siendo la especie *fluorescens* la principal. Además de actuar como bacteria promotora de crecimiento vegetal actúa también como agente de control biológico y cuenta con la capacidad de colonizar fácilmente formando gran cantidad de metabolitos (Orrico *et al.*, 2013). Varios autores señalan la producción de metabolitos secundarios naturales antibióticos, tales como pyoluteorina, pirrolnitrina, ácido 1-fenacina carboxílico y 2,4 Diadetilfloroglucinol que disminuye poblaciones de patógenos, también se ha encontrado que ayuda en la generación de resistencia sistémica inducida (Álvarez *et al.*, 2020).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización de Áreas de Estudio

La primera etapa fue la producción de tratamientos (Caldos bacterianos), estos se produjeron en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila.

La segunda etapa fue en el Laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Y la última etapa se realizó en el invernadero de Parasitología de la UAAAN, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Muestras de Plantas Infectadas con Nematodos Fitoparásitos.

La obtención de muestra fue en un rancho de producción de tomate de la localidad de Venado en el Estado de San Luis Potosí, México. El muestreo fue dirigido a plantas de tomate que presentaban síntomas de clorosis y achaparramiento.

Las plantas con raíces y tierra se trasladaron al Laboratorio de Nematología de la UAAAN para realizar la extracción de nematodos (Fig. 3).



Figura 3. Raíces infectadas de cultivo de tomate.

Extracción de Nematodos

La extracción del nematodo agallador *Meloidogyne* sp., se realizó con el método de tamizado y centrifugado, utilizando raíces infectadas con presencia de agallas. Las raíces se lavaron con abundante agua hasta quedar libres de suelo, estas se cortaron aproximadamente de 1cm de largo, se colocaron en un molino eléctrico 10gr aprox., 200 mL de agua con 0.5 mL de hipoclorito de sodio, y se molió en intervalos de 10 s, esto se repitió 3 veces, y posteriormente se realizó el tamizado. La muestra se agregó al tamiz de 50 mallas con poca agua para el lavado, se recolectó la muestra sobrante y se repitió de nueva cuenta por el tamiz de 100, 200 (la muestra retenida en este tamiz se guardó para la obtención de hembras y realizar el corte perianal para su identificación), 325 y 500 mallas (Fig. 4), obteniendo 30 mL de muestra. Esta se colocó en el tubo de centrifuga agregando 1gr de Caolín, mezclándolo muy bien y después se colocaron los tubos con muestra en la centrifuga por 5 min a 2500 RPM, después se decantó, conservando el precipitado (caolín con nematodos), los tubos se aforaron a 30 mL con una solución de sacarosa, y se agitó hasta tener una mezcla homogénea de la sacarosa con el caolín que retenía a los nematodos. Posteriormente, se centrifugaron los tubos 3min por 2500 RPM. Finalmente, el líquido sobrenadante se pasó por el tamiz de 500 mallas y se lavó con abundante agua, tomando 20-40 mL aprox. de muestra retenida y esta se observó en el estereoscopio comprobando la presencia de huevos, así como nematodos juveniles (Andrés y Verdejo, 2011).



Figura 4. Tamizado de raíces de tomate infectadas para extracción de nematodos.

Preparación de Tratamientos Bacterianos

Las cepas de *B. vallismortis*, *B. velezensis* y *P. fluorescens*, fueron aisladas a partir de suelo e identificadas en el 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 nutritivo. Se incubaron a $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ en un agitador rotatorio a 150 rpm por 5 días (Fig. 5). Al quinto día de la fermentación líquida, se determinó la concentración de las bacterias, por medio del vertido en placa extendido utilizando el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) obteniendo:

Pseudomonas fluorescens: 1×10^{10} y *Bacillus*: 1×10^6



Figura 5. Preparación de tratamientos bacterianos.

Preparación de plántula de tomate.

En invernadero se sembró semilla certificada de tomate variedad Flordade en charolas con un sustrato de Peat moss-perlita en porción 50/50 (Fig. 6)



Figura 6. Siembra de semillas en charolas.

El riego fue cada 4 días con solución Steiner, hasta el trasplante de la plántula. El experimento se estableció en invernadero con una ventilación automatizada para permitir el flujo oxígeno/CO₂.

Trasplante

Después de 30 días de la siembra de semilla se realizó el trasplante de la plántula de tomate a bolsas de 1kg, se utilizó una proporción 1:1 de Peat moss-perlita, con aplicación de riego cada 3 días, siempre protegiéndola con una malla para evitar insectos en las plantas (Fig. 7).



Figura 7. Trasplante de plántula de tomate a bolsas negras de un kilo.

Inoculación de Plantas

Diez días después del trasplante se realizó la inoculación del nematodo agallador *M. incognita* en las plantas. La solución de agua contaba con estadios juveniles y huevos del nematodo. Se inoculó una población de 3,200 nematodos por planta divididos en 4 mL (Siddiqui, 2003). El conteo se realizó contando huevos y estadios juveniles del nematodo en un estereoscopio, colocando 1mL de solución a un vidrio de reloj, repitiendo esto 6 veces y sacando una media la cual tendría cada mililitro. Se realizaron cuatro orificios alrededor del tallo aproximadamente de 1cm al lado del tallo y 3cm de profundidad, con el fin de inocular cerca de la raíz, en los cuales se agregó con una micropipeta 1mL de solución a cada orificio. Las plantas siguieron con las mismas condiciones del invernadero (Fig. 8).



Figura 8. Inoculación de nematodos

Inoculación de Tratamientos

Una semana después de inocular los nematodos se aplicó la primera dosis de los 6 tratamientos (Cuadro 1) (Fig. 9), la 2da y 3ra aplicación fue 20 y 40 días posteriores respectivamente. La aplicación de los tratamientos fue alrededor del tallo en orificios hechos en el sustrato con una profundidad aproximada de 3cm y a 1cm de distancia del tallo (Fig. 10).



Figura 9. Tratamientos de bacterias.



Figura 10. Aplicación de tratamientos en plantas de tomate en el sustrato alrededor del tallo.

En total se establecieron 8 tratamientos con 5 repeticiones (Cuadro 1 y 2).

Cuadro 1. Clasificación de tratamientos de las bacterias

Nomenclatura	Tratamiento	Concentraciones
T0	Testigo sin nematodos	
Tn	Testigo con nematodos (trat. Con agua corriente)	
T1C1	<i>Bacillus velezensis</i>	100%
T1C2	<i>Bacillus velezensis</i>	50%
T2C1	<i>Bacillus vallismortis</i>	100%
T2C2	<i>Bacillus vallismortis</i>	50%
T3C1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	100%
T3C2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	50%

Diseño estadístico

Para la evaluación, se utilizaron 5 repeticiones en cada tratamiento, los cuales se distribuyeron en el invernadero de la siguiente manera (Cuadro 2).

Cuadro 2. Distribución de tratamientos

R1	T0	T2 C2	T1 C2	T3 C1
R2	T0	T2 C2	T1 C2	T3 C1
R3	T0	T2 C2	T1 C2	T3 C1
R4	T0	T2 C2	T1 C2	T3 C1
R5	T0	T2 C2	T1 C2	T3 C1
R1	Tn	T2 C1	T1 C1	T3 C2
R2	Tn	T2 C1	T1 C1	T3 C2
R3	Tn	T2 C1	T1 C1	T3 C2
R4	Tn	T2 C1	T1 C1	T3 C2
R5	Tn	T2 C1	T1 C1	T3 C2

R#: número de repetición, T0: testigo sin nematodos, Tn: testigo con nematodos y agua, T1 C1: *Bacillus velezensis* 100%, T1 C2: *Bacillus velezensis* 50%, T2 C1: *Bacillus vallismortis* 100%, T2 C2: *Bacillus vallismortis* 50%, T3 C1: *Pseudomonas fluorescens* 100%, T3 C2: *Pseudomonas fluorescens*.

Variables Agronómicas

Altura de la planta (cm): se midió a los 40 y 60 días después de la inoculación de los nematodos, con una cinta métrica; tomando en cuenta de la parte principal saliente del sustrato hasta la parte final de la planta.

Longitud de entre nudos (cm): se midió a los 40 y 60 días después de la inoculación de los nematodos utilizando un flexómetro. Se tomó en cuenta la distancia del tercer al cuarto entrenudo de cada planta para realizar la determinación.

Longitud de hojas de la planta (cm) se midieron a los 40 y 60 días después de la inoculación de los nematodos tomando en cuenta tres hojas de cada planta al azar.

Clorofila (UNIDADES SPAD): se obtuvo con base en el medidor de clorofila SPAD-502 tomando 3 hojas, de tres estratos de la planta (bajo, medio y superior) a los 60 días después de la inoculación. Este aparato evalúa cuantitativamente la intensidad del verde de la hoja, ya que mide la transmisión de luz a 650 nm, donde se lleva a cabo la absorción de luz por medio de la molécula de clorofila y a 940 nm, donde no ocurre absorción. Este clorofilómetro permite que se realicen mediciones instantáneas en el contenido en la hoja, sin destruirla (Argenta *et al.* 2001), y determina un índice SPAD o también llamado índice relativo de clorofila, relacionado con el contenido de clorofila de la hoja (Guimarães *et al.* 1999), pudiendo determinar la deficiencia de nitrógeno.

Diámetro de tallo (cm): se midió a los 40 y 60 días después de la inoculación de los nematodos con un vernier digital colocado en el tallo a 1cm sobre el sustrato.

Floración: se tomó a los 60 días después de la inoculación de los nematodos, contando los brotes de flores en cada planta.

Longitud de raíz (cm): esto se midió al final del experimento, se lavó con abundante agua corriente para quitar el exceso de sustrato, se midió con una cinta métrica, cortando la parte aérea, tomando en cuenta solo la raíz.

Peso fresco de raíz (kg). Se pesó solo la parte radicular con una báscula digital Truper.

Peso seco de la raíz (gr). Las raíces se colocaron en bolsas estroza de forma individual, fueron etiquetadas y se secaron en una estufa a 40°C por 48 horas, al término de ese tiempo fueron pesadas en una balanza analítica.

Evaluación de la actividad nematocida bajo condiciones de invernadero

Se evaluó visualmente el efecto nematocida de los diferentes tratamientos con base en la escala escrita por Castaño (1989) donde indica la estimación de daño en la raíz por el nematodo *Meloidogyne* spp., del 1 a 9 y se realizó a los 60 días de la inoculación de los nematodos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Escala de estimación de daño en raíz por *Meloidogyne* sp.

Escala	Estimación de daño
1	Ausencia de nudos
3	1-2 nudos por planta
5	3-10 nudos por planta
7	11-30 nudos por planta
9	Más de 30 nudos por planta

Análisis Estadístico

Los datos de cada variable estudiada y la prueba de efectividad fueron evaluados mediante un análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) bajo un diseño experimental en bloques completamente al azar mediante el empleo del programa Statistical Analysis System (SAS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de nematodos

De las raíces analizadas procedentes de la localidad de Venado en el Estado de San Luis Potosí, México, las cuales presentaban agallamiento, se obtuvieron hembras adultas con cuerpo piriforme, características del género *Meloidogyne* (Fig. 11).



Figura 11. Hembra adulta de *Meloidogyne*.

Se realizaron cortes de varias hembras extraídas, siguiendo la metodología de Eisenback, encontrando un modelo perineal con arco dorsal alto y cuadrado, sin líneas laterales visibles, identificando a *Meloidogyne incognita* según las claves de Eisenback *et al.* (1981) (Fig. 12). Este nematodo es uno de los más importantes a nivel mundial ya que se presente en más de 200 plantas entre una de ellas es el tomate, ocasionando pérdidas significativas económicamente (El-Sappah *et al.*, 2019). En el cultivo del pepino *Meloidogyne* sp. es un gran problema, así como los hongos *Fusarium* spp, *Rhizoctonia* spp, *Phytophthora* spp. y *Pythium* spp. (Satyendra y Rekha, 2021).

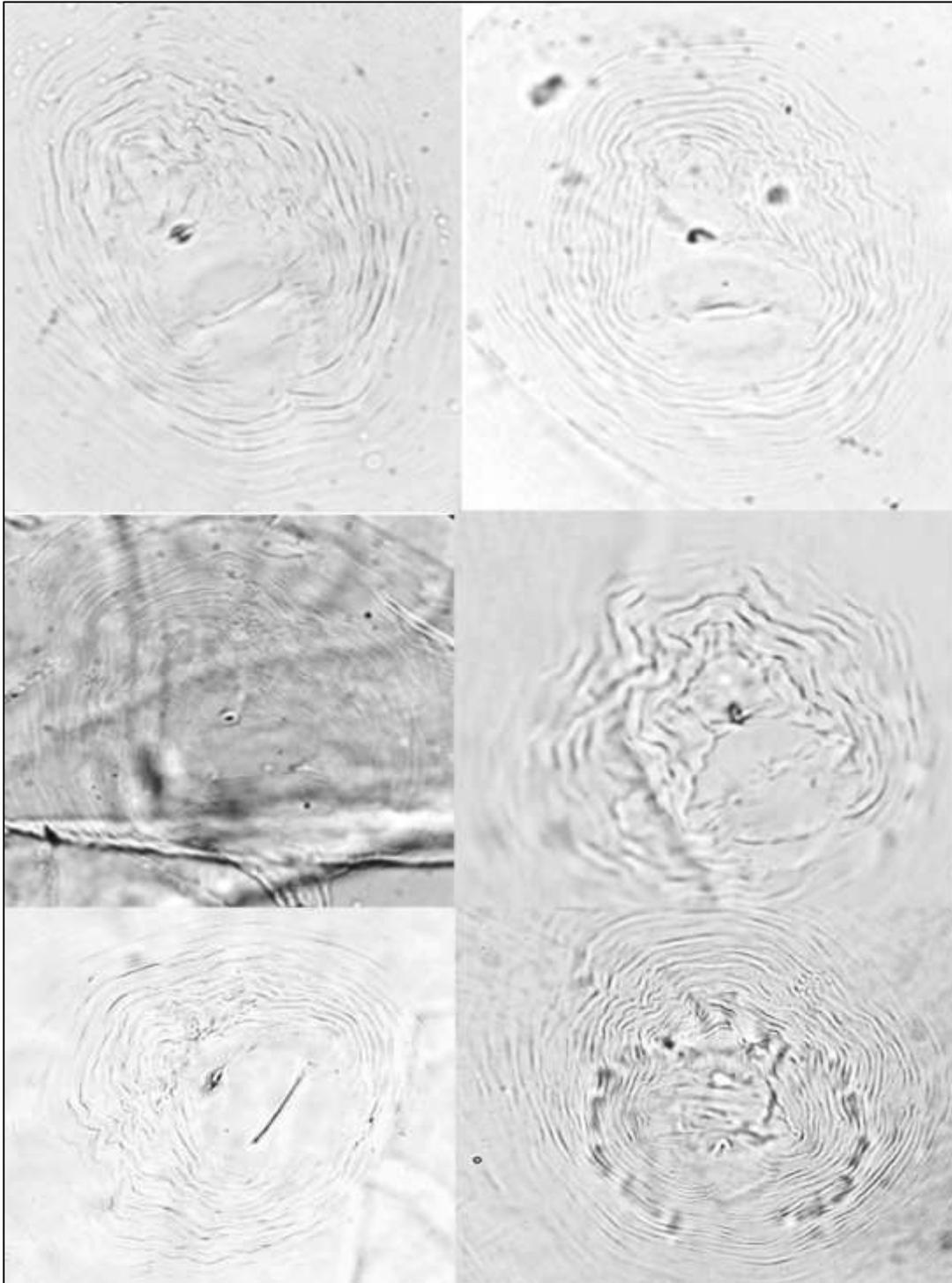


Figura 12. Cortes perineales de hembras adultas extraídas de raíces de tomate, correspondientes a *Meloidogyne incognita* con arco dorsal alto y cuadrado, sin líneas laterales visibles.

Evaluación de variables agronómicas de plantas de tomate

Altura de la planta

Los resultados obtenidos a los 40 días (Figura 13) mostraron que el mejor tratamiento fue el de *P. fluorescens* al 50% con una altura de 63.08 cm, seguido de *B. vallismortis* al 50%, *P. fluorescens* al 100% y *B. velezensis* al 100% con 53.42cm, 50.94 cm y 50.12 cm respectivamente. Los tratamientos de *B. vallismortis* al 100%, *B. velezensis* al 50% y los tratamientos testigos, fueron iguales estadísticamente, mostrando menor altura.

Igualmente, a los 60 días (Figura 14) *P. fluorescens* al 50% continuó como el mejor tratamiento con 74.40 cm de altura, seguido de *P. fluorescens* al 100% con 66.30 cm y *B. vallismortis* al 50% con 64.53 cm. Y el tratamiento que mostró menor altura fue el tratamiento con nematodos con una altura de 32.70 cm. Esto coincide con lo reportado por Zhao *et al.*, (2018) quienes comprobaron que las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* cuentan con varias cepas que tienen la capacidad de promover el crecimiento de plantas en maceta y en campo, y algunas cuentan con el potencial de control de *Meloidogyne incognita*. Se ha comprobado que el género *Pseudomonas* sp. tiene la capacidad de producción de pioverdina, sideróforos y tomar el fósforo del suelo que están en una forma no soluble y facilitar la absorción a la planta para un esencial crecimiento y desarrollo (Sah y Singh, 2015; Román y Guerra, 2022), en este experimento se puede observar que aún con la presencia del nematodo agallador *M. incognita* en las raíces, las plantas inoculadas con *P. fluorescens*, no se ven afectadas en el crecimiento, al contrario, continúan en desarrollo superando a las plantas sin presencia de nematodos.

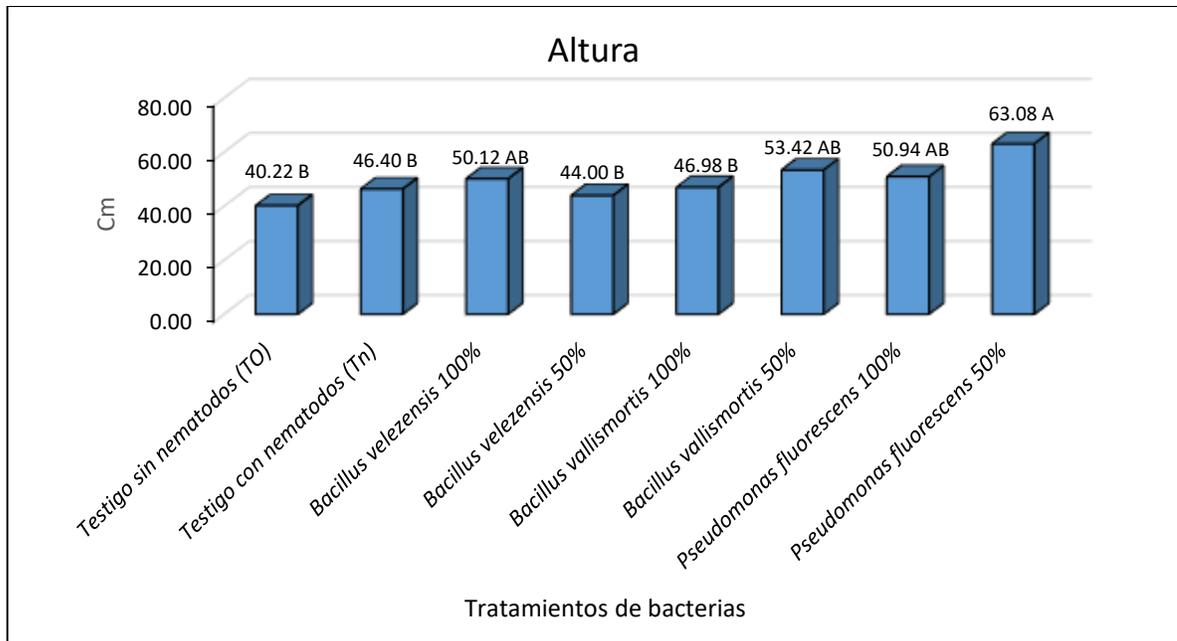


Figura 13. Altura de plantas de tomate 40 días después de la inoculación de nematodos.

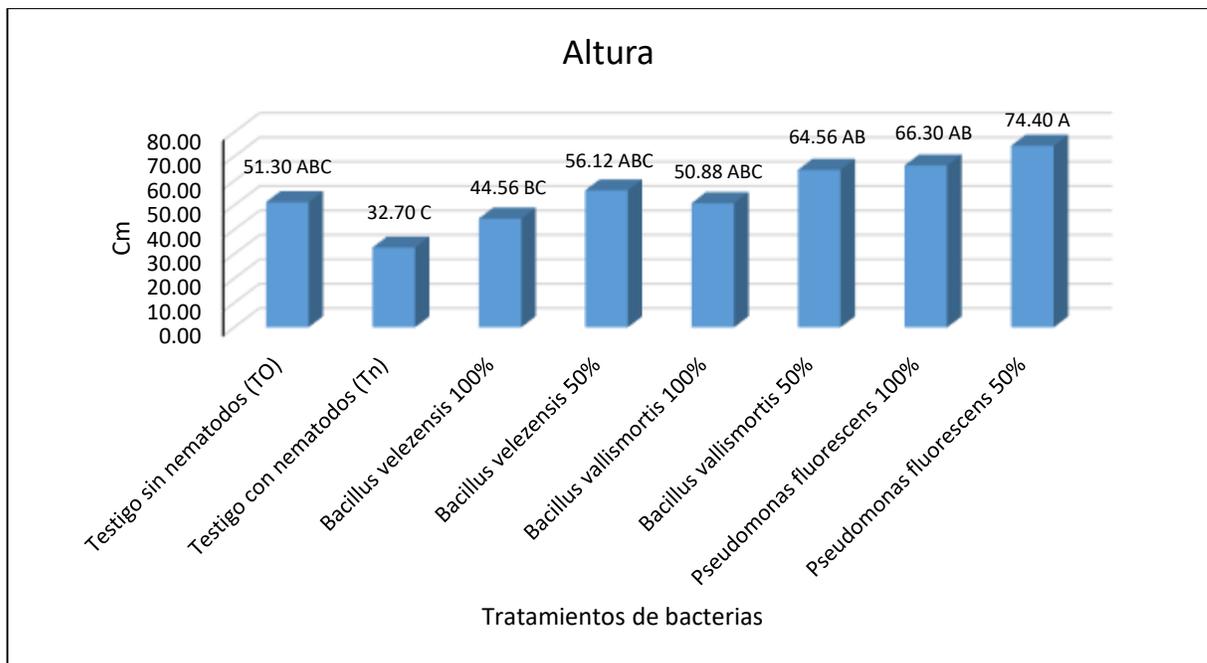


Figura 14. Altura de las plantas de tomate 60 días después de la inoculación de nematodos.

Longitud de entre nudos

En las medidas de los entrenudos, a los 40 días no se encontró diferencia estadística significativa (Figura 15) teniendo una uniformidad en las distancias, pero a los 60 días (Figura 16) el tratamiento con *B. vallismortis* al 50% presento una distancia mayor de los entrenudos con una medida de 6.10 cm, seguido de *B. velezensis* al 50% con 5.60 cm, siendo el tratamiento con nematodos el que obtuvo la menor distancia de 2.92cm.

Silva *et al.* (2005) comprobó que la aplicación de ácido giberélico aumenta la longitud de los entrenudos y mejora la extensión del sistema radicular en otras plantas, y algunas rizobacterias son grandes productoras de estas fitohormonas (Odoh, 2017), ese podría ser la razón de los resultados obtenidos.

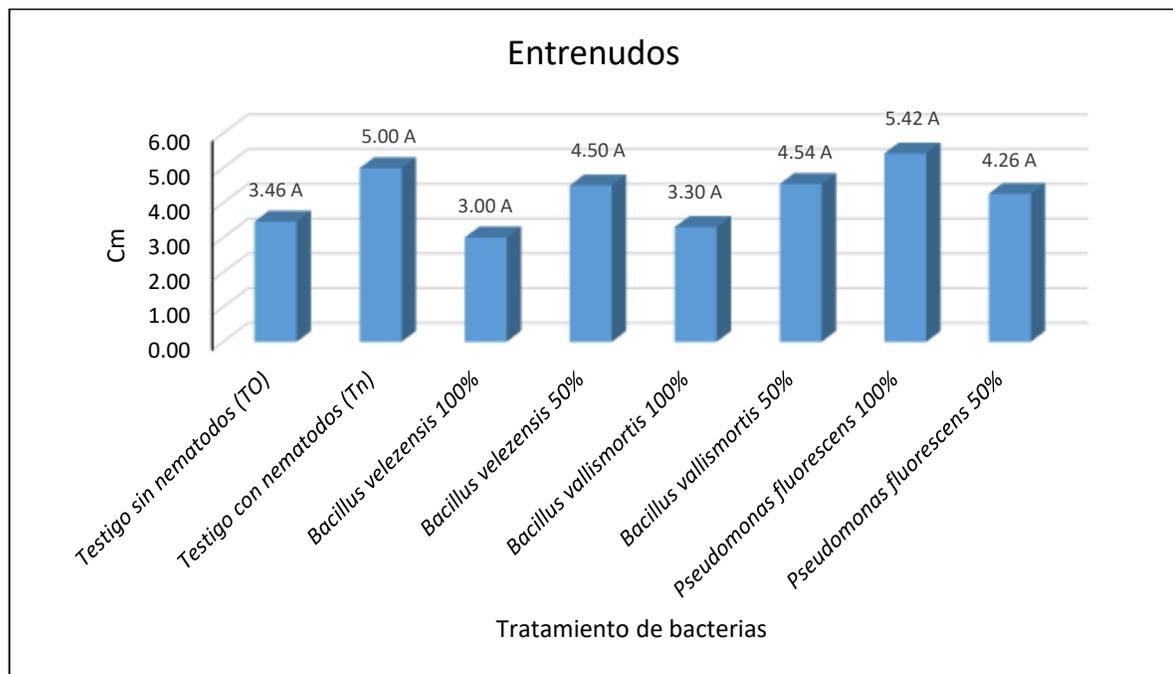


Figura 15. Distancia de entrenudos en las plantas de tomate a 40 días después de la inoculación de nematodos.

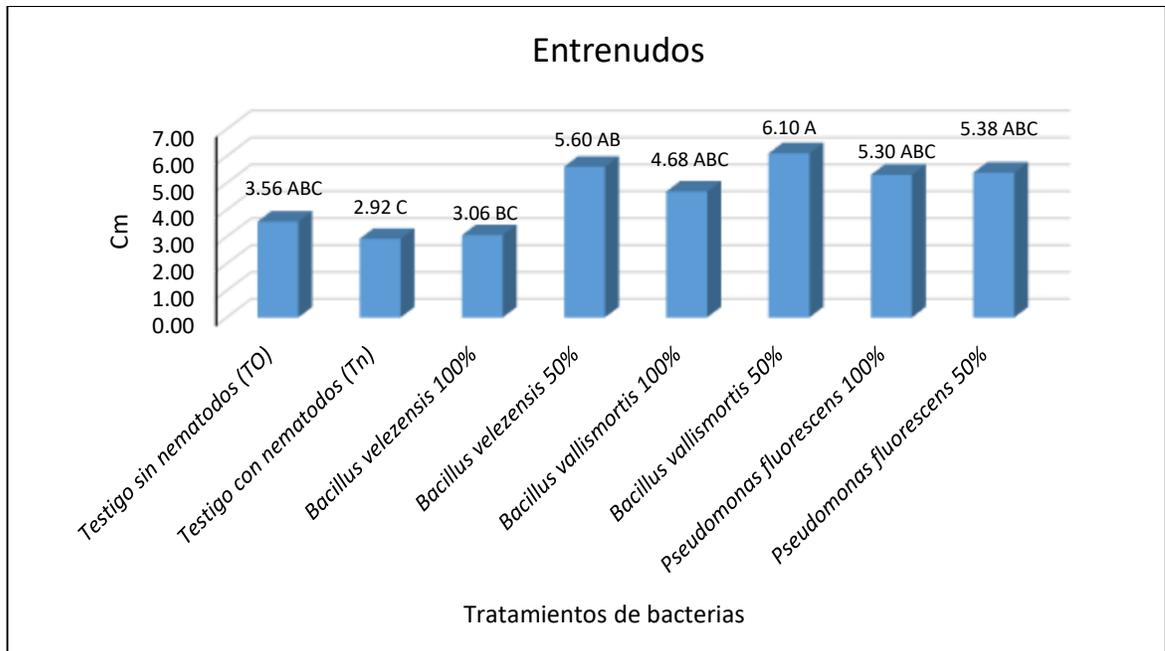


Figura 16. Distancia de entrenudos de las plantas de tomate de diferentes tratamientos a 60 días después de la inoculación de los nematodos.

Longitud de hojas de la planta

La medición del área foliar es una variable importante en los estudios agrícolas y fisiológicos involucrados en el crecimiento vegetal, captación de luz, eficiencia fotosintética, respiración, transpiración y respuesta al riego y a la fertilización. En este estudio las medidas de longitud de hojas obtenidas a los 40 días mostraron mayor tamaño en el tratamiento de *P. fluorescens* al 50% con 6.50cm y a los 60 días fue *B. vallismortis* al 50% con 7.34cm seguidas de *P. fluorescens* al 100% con 6.50cm, *B. velezensis* al 50% con 6.38cm (Figura 17) y *P. fluorescens* al 50% con 6.0cm y por último con menor longitud de hojas fue el testigo con nematodos con una medida de 2.68cm (Figura 18).

Los resultados obtenidos indican que la mayoría de las plantas inoculadas con las rizobacterias mostraron un desarrollo óptimo en la región foliar, comparado con las plantas testigo con nematodos y sin aplicación de algún tratamiento.

Esto corrobora lo descrito por Herrera-Parra *et al.* (2011) sobre las plantas afectadas con *Meloidogyne* sp., las cuales muestran disminución del crecimiento, clorosis generalizada, marchitez y menor calidad de frutos, debido al agallamiento y daño en las raíces, tal como se observó en las plantas que no se inocularon con ningún tratamiento de control.

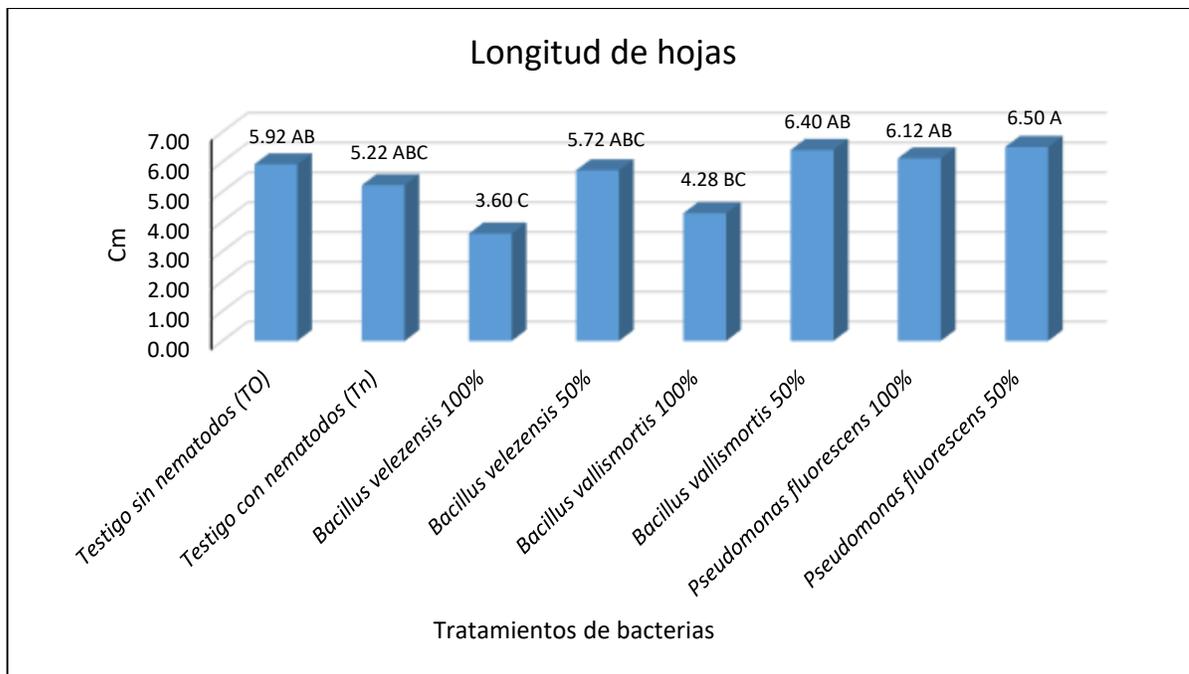


Figura 17. Longitud de hojas de las plantas de tomate a los 40 días después de la inoculación de los nematodos.

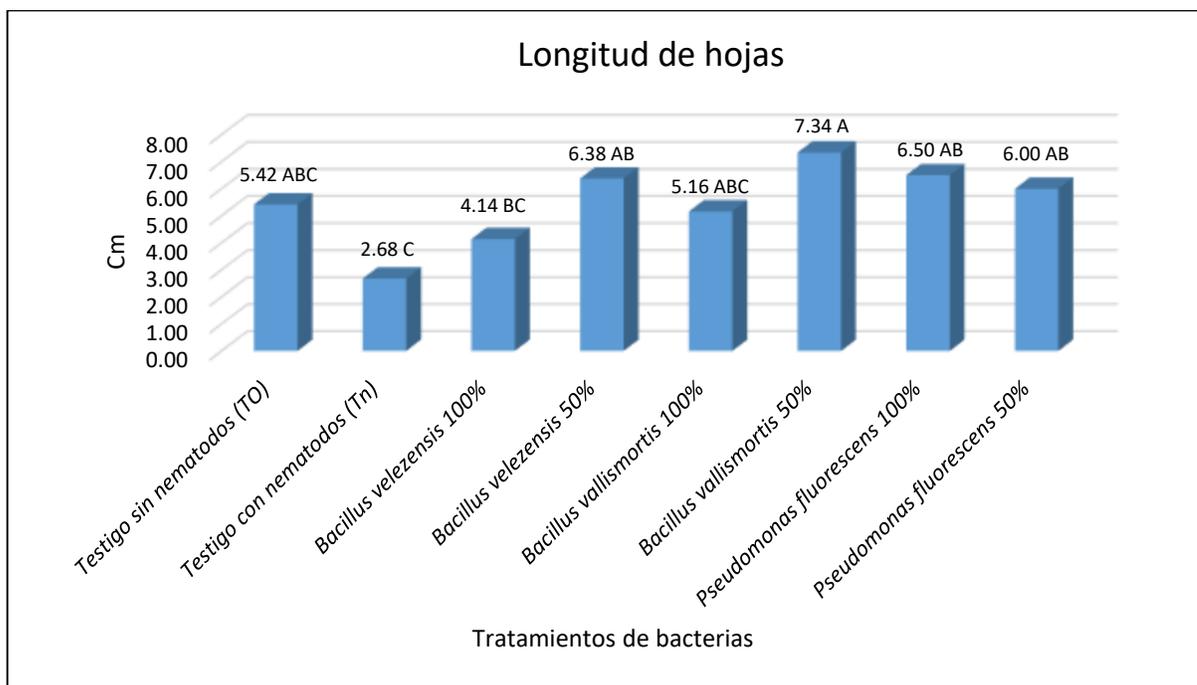


Figura 18. Longitud de hojas a los 60 días después de la inoculación de nematodos de los diferentes tratamientos.

Clorofila (Unidades SPAD)

En la evaluación después de 60 días, el tratamiento con *P. fluorescens* al 50% obtuvo el valor con mayor de contenido de clorofila en unidades SPAD con 37.60, seguido por *B. velezensis* al 50% con 35.91 y *P. fluorescens* al 100% con 35.34. Estos tres tratamientos fueron estadísticamente iguales y el del menor contenido de clorofila fue el testigo con nematodos con 14.21 unidades SPAD (Figura 19). Esto nos demuestra lo indicado por Zhang *et al.* (2020) quien comprueba que las rizobacterias como *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. tienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal y aumentar indirectamente la producción de pigmentos fotosintéticos en las plantas ya que mejoran el suministro de CO₂. Lo contrario con las plantas con nematodos a las cuales no se le agregó ningún tratamiento, ya que muestran los valores más bajos de Unidades SPAD, esto puede deberse debido a la disminución de suministro de agua en la planta infectada, ya que al colonizar *Meloidogyne* sp. las raíces, afecta los procesos fisiológicos y bioquímicos de la planta como es la fotosíntesis, composición de pigmentos, absorción de nutrientes entre otros (Jaleel *et al.*, 2009)

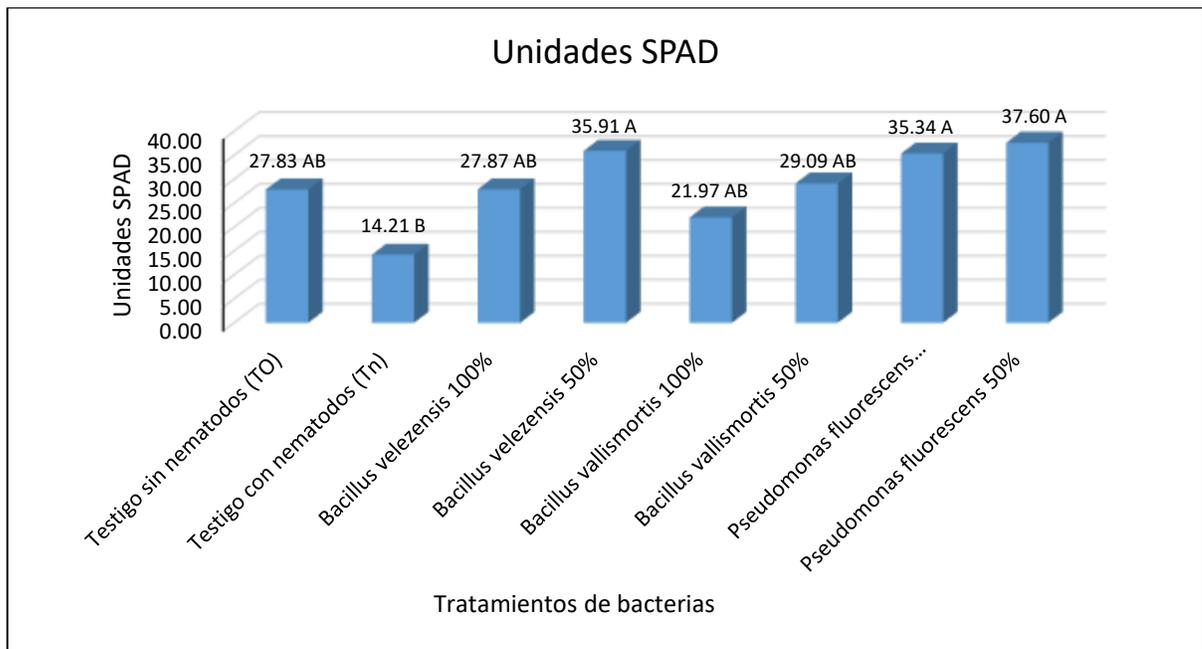


Figura 19. Medidas de clorofila con las Unidades SPAD de las hojas de las plantas de los diferentes tratamientos a los 60 días.

Diámetro de tallo

Con los datos obtenidos, el tallo de mayor diámetro a los 40 días fue en el tratamiento con *B. vallismortis* al 50% con 5.64 cm y a los 60 días fueron los tratamientos de *P. fluorescens* al 100% con una medida de 5.36 cm, *B. vallismortis* al 50% con 5.32 cm (Figura 20) y *B. velezensis* al 50% con 5.14 cm. El tratamiento de nematodos regado con agua corriente fue el que tenía el diámetro de tallo más pequeño tanto a los 40 días con 2.97cm y a los 60 días con 3.14 cm (Figura 21). Leal *et al.* (2018) mencionan que rizobacterias como *P. fluorescens* acelera el crecimiento de las plantas por la síntesis de hormonas como auxinas, giberelinas, citoquininas, aminoácidos, así como promotores específicos del crecimiento.

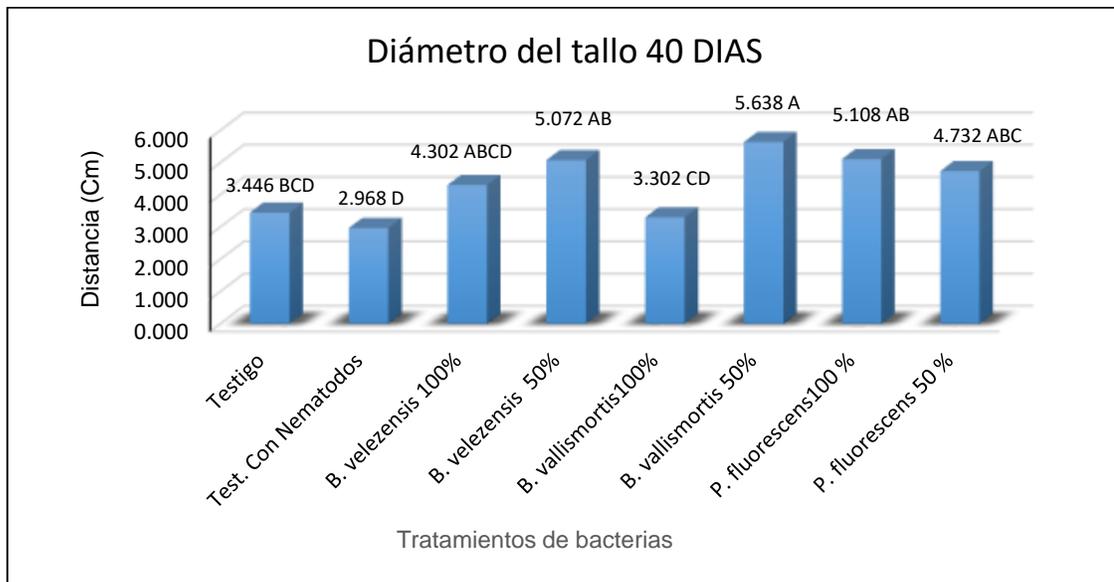


Figura 20. Diámetro de tallo de las plantas de tomate de los diferentes tratamientos a los 40 días después de la inoculación de los nematodos.

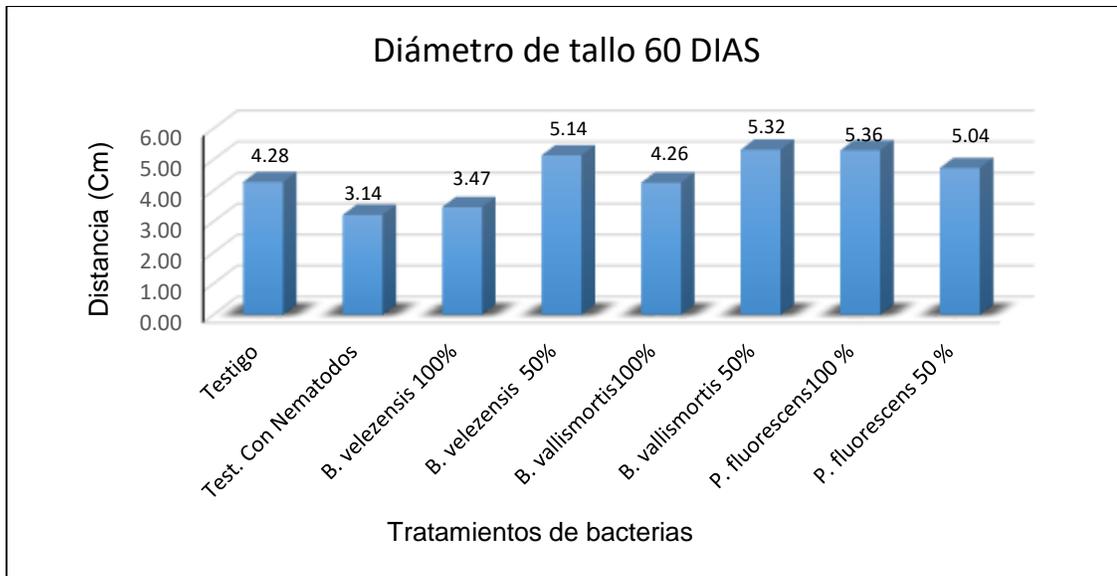


Figura 21. Diámetro de tallo de plantas a los 60 días después de la inoculación de los nematodos.

Floración.

Los resultados nos indican que a los 40 días no se observó diferencia estadística, pero se observó que solamente los dos tratamientos de *P. fluorescens* presentaban flores. Situación que se mantuvo igual a los 60 días, siendo el mejor tratamiento el de *P. fluorescens* al 50% con mayor número de flores (Figura 22), los demás tratamientos no mostraron floración para el final del experimento (Figura 23). Esto concuerda con lo indicado por Velasco-Jiménez *et al.* (2020) quienes demuestran que las principales fitohormonas que estimulan la floración y un gran rendimiento son las giberelinas, y *P. fluorescens*, es de las mayores productoras, así mismo ayudan a las plantas a soportar el estrés hídrico.

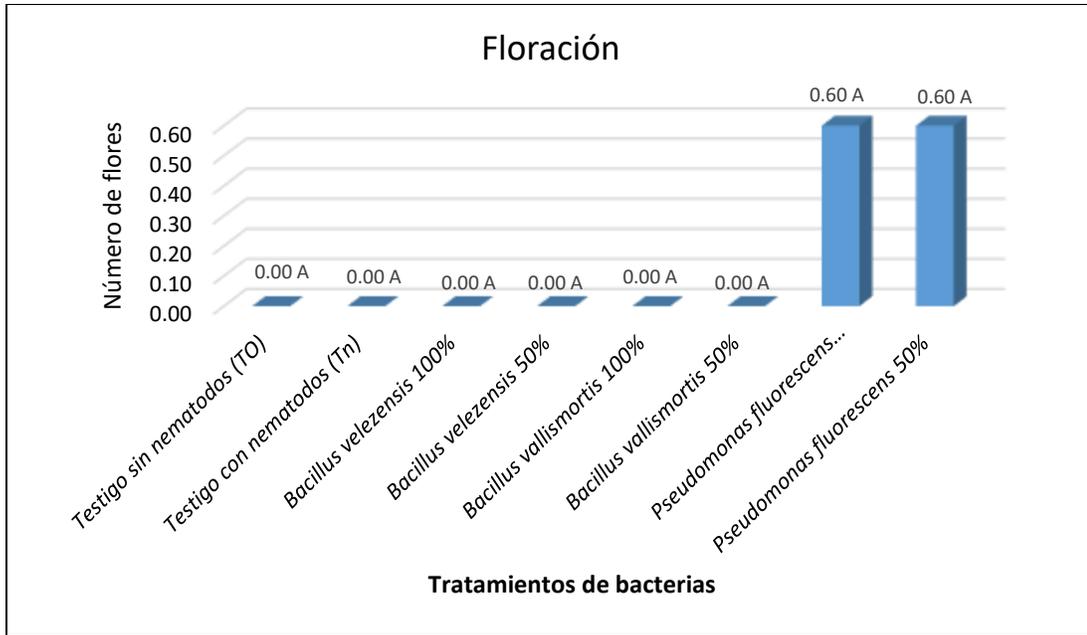


Figura 22. Floración de las plantas de tomate a los 40 días después de la inoculación de nematodos.

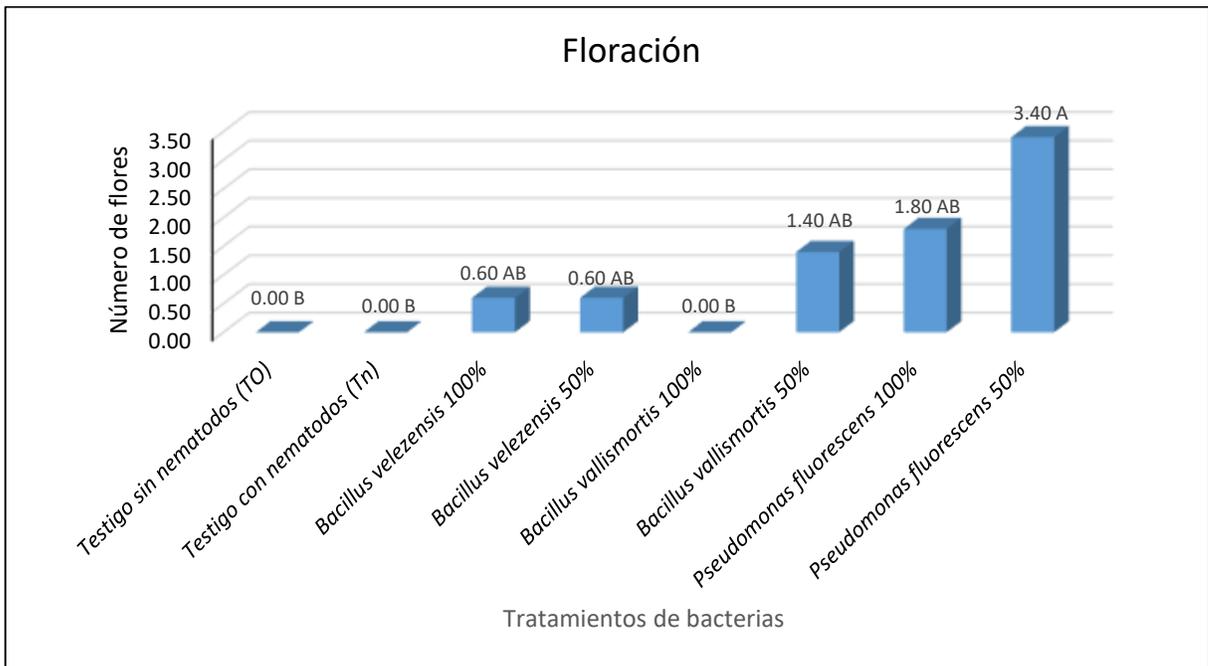


Figura 23. Número de flores en plantas de tomate con los diferentes tratamientos a los 60 días.

Longitud de raíz

Las plantas con mayor longitud de raíz fue *B. vallismortis* al 50% con una medida de 49.10cm, seguido de *P. fluorescens* al 50% con 45.60cm, *P. fluorescens* al 100% con 40.80cm y el testigo sin nematodos con 37.60cm, estadísticamente iguales. El tratamiento que mostró la raíz más reducida fue el testigo con los nematodos con 15.60 cm observando una gran diferencia numérica (Figura 24). Estos resultados demuestran lo descrito por Sharma (2017), quien indica en su estudio que *P. fluorescens* coloniza la rizosfera y las raíces vegetales, mejorando el crecimiento de la planta, así como, protegiéndola contra patógenos de la raíz. *Pseudomonas* produce una gran cantidad de fitohormonas las cuales ayudan al crecimiento de las plantas, el ácido indol 3-acético, es una de las auxinas producidas que desempeña un papel muy importante en la división celular, germinación de semillas, control del crecimiento vegetativo, inducción de raíces laterales y adventicias, fotosíntesis, síntesis de pigmentos y metabolitos secundarios (Álvarez-García *et al.*, 2020). Las plantas que no tuvieron ningún tratamiento en el ensayo, mostraron el mas bajo desarrollo radicular.

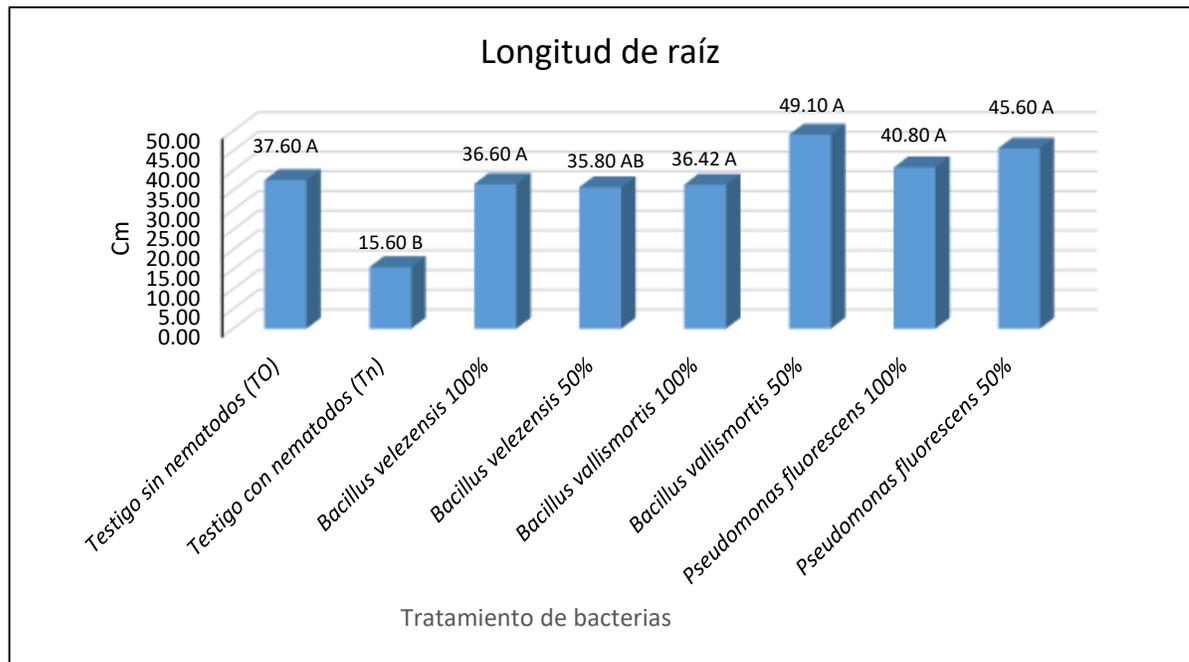


Figura 24. Longitud de raíces de plantas de tomate a los 60 días después de la inoculación de los nematodos.

Peso fresco de raíz (g).

Se observó una gran diferencia estadística, comparando los tratamientos de los testigos con nematodos y el testigo sin nematodos obtuvieron el peso fresco de raíz más bajo que fue de 2.60g, siendo el mejor tratamiento *P. fluorescens* al 50% con un peso de 11.20 g, seguido de *B. vallismortis* al 50% con 7.80 g y *P. fluorescens* al 100% con 7.40 g (Figura 25). Los resultados de este parámetro son similares al de Abo-Elyousr *et al.* (2010) donde obtuvieron un aumento de 1.5 g de raíz por cada aplicación de *P. fluorescens*, mostrando un aumento significativo de crecimiento radicular y con baja presencia de agallamiento en las raíces inoculadas.

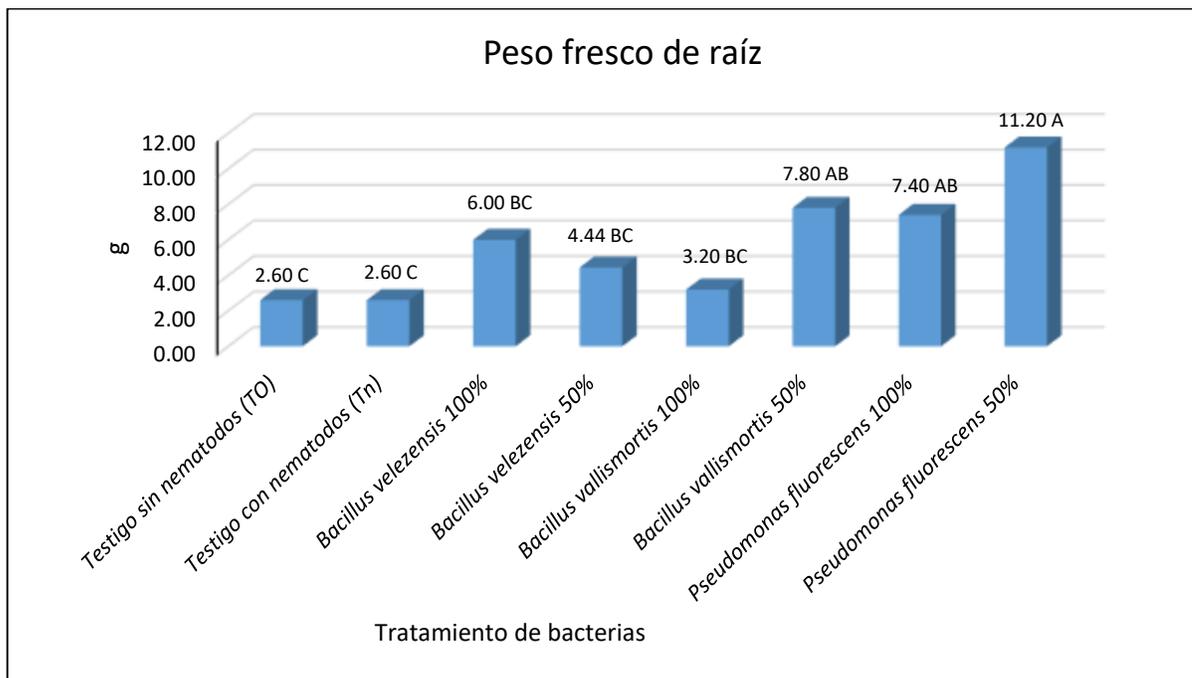


Figura 25. Peso fresco de raíces de tomate tomadas a los 60 días después de la inoculación de nematodos en los diferentes tratamientos.

Peso seco de la raíz

Con base en los resultados el mejor tratamiento en peso seco de raíz fue *P. fluorescens* al 50% con un peso de 0.74g y el menor peso fue en el tratamiento de testigos con nematodos con 0.26g (Figura 26).

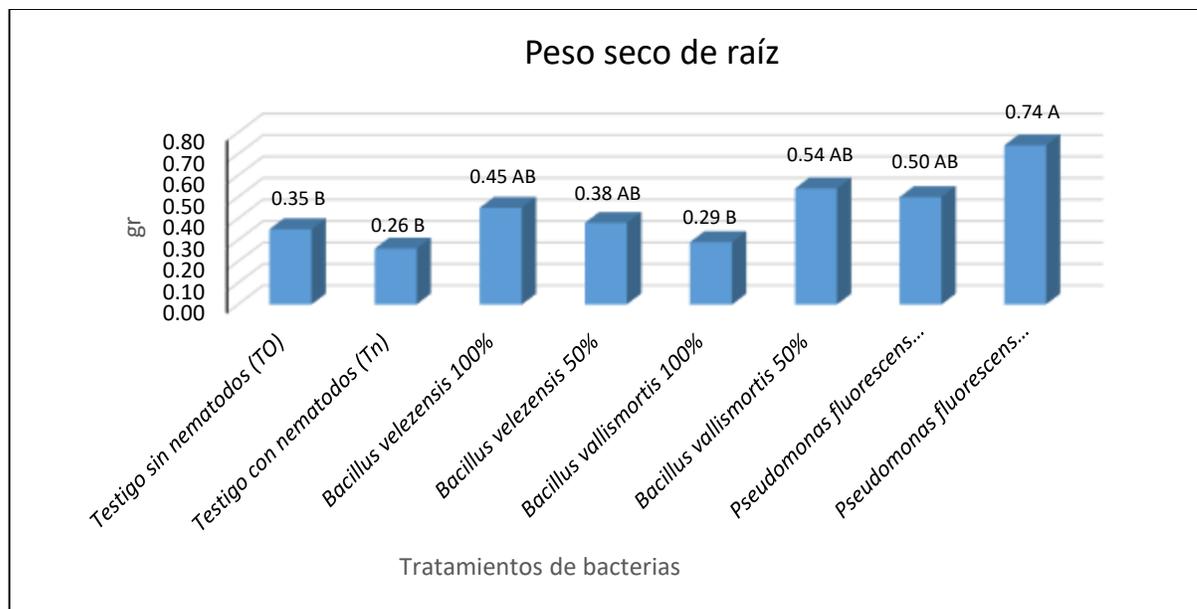


Figura 26. Peso seco de raíces de tomate tomadas a los 60 días después de la inoculación de los nematodos.

Efectividad biológica de diferentes dosis de caldos bacterianos en el control de *Meloidogyne incognita* en plantas de tomate

Pseudomonas fluorescens en sus dos concentraciones fue el tratamiento que mostró mejor efecto sobre *M. incognita*, disminuyendo notablemente los nódulos en las raíces (Figura 30), Sharma (2017), describe que *P. fluorescens* es capaz de controlar el crecimiento de *M. incognita* así como disminuir los daños en raíces de tomate, causando menor producción de agallas, lo cual indica la interrupción del ciclo de vida del nematodo inoculado. Mohamed (2009), indica que esta bacteria ha sido evaluada en el cultivo de haba contra *M. incognita* bajo condiciones de invernadero, donde se redujeron significativamente la incidencia de la enfermedad del nudo de la raíz, así como aumentaron el volumen de raíz. En los tratamientos de *B. velezensis* y *B. vallismortis* se observaron nódulos en las raíces mayores al testigo y a pesar de eso, presentaron efectos significativos sobre las variables agronómicas evaluadas en las plantas de tomate. Lyng y Kovács (2023), demostraron que los géneros bacterianos *Bacillus* y *Pseudomonas* presentan una

capacidad para suprimir poblaciones de patógenos de las plantas y disminuir daños, atribuido a la producción de antibióticos, enzimas, toxinas y la resistencia sistémica de las plantas contra los nematodos.

Rizobacterias como *Bacillus* y *Pseudomonas* han sido estudiadas ampliamente y se les ha reportado un gran número de metabolitos secundarios (fenazinas, indoles, compuestos, fenilpirroles y pterinas, entre otros) que son responsable de una gran inhibición de la eclosión de huevos de nematodos, así como la movilidad reducida y aumento de la mortalidad de los juveniles de *M. incognita* (Lindberg, 1981; Singh *et al.*, 2021). Los testigos con nematodos, sin tratamientos bacterianos, mostraron gran daño en las raíces, reduciendo notablemente el tamaño; en cambio las plantas de tomate sin nematodos y sin tratamiento (solo agua) presentaron raíces con mayor volumen, pero con menor tamaño, comparada a las de los tratamientos bacterianos (Figuras 27).

En base a los resultados obtenidos, se demostró que los dos tratamientos de *P. fluorescens* tanto al 100 como 50% una media de 13.20 ABC y 8.20 BC, fueron significativamente los mejores tratamientos nematicidas, reduciendo significativamente el índice de agallamiento causado por *M. incognita*. Estos resultados son similares a los de Abd El-Aal *et al.* (2021) que observaron una disminución de la población de *M. incognita* con *Pseudomonas* sp. en invernadero en plantas de tomate, encontrando un agallamiento poco notable en las raíces, esto se le atribuye a la presencia de compuestos microbianos, que poseen propiedades ovicidas o larvicidas, interrumpiendo el ciclo de vida de los nematodos, impulsando el desarrollo de la planta, tanto en altura, como en longitud y peso fresco de raíz.

Los tratamientos que se presentaron mayor agallamiento fueron *B. velezensis* 100% con 41.60 A y *B. velezensis* 50% con 39.0 A (Cuadro 5 y Figura 31 y 28).



Figura 27. Raíz de testigos A) Testigo sin nematodos, regada con agua corriente y B) Testigo con nematodos, regada con agua corriente.



Figura 28. Raíces de tomate con agallamiento con tratamiento de A: *Bacillus velezensis* al 100% y B: *Bacillus velezensis* al 50%.



Figura 29. Raíces de tomate con agallamiento con tratamiento de A) *Bacillus vallismortis* al 100% y B) *Bacillus vallismortis* al 50%.

Con el tratamiento de *P. fluorescens* se observaron raíces con menor número de agallas y con mayor tamaño que los otros tratamientos.



Figura 30. Raíces de tomate con poco agallamiento en tratamientos con nematodos. A) *Pseudomonas fluorescens* al 100% y B) *Pseudomonas Fluorescens* al 50%.

Cuadro 5. Índice de agallamiento radicular con la aplicación de diferentes tratamientos de caldos bacterianos, en plantas de tomate.

Tratamiento	Índice de agallamiento radicular
Testigo sin nematodos (TO)	0.00 C
Testigo con nematodos (Tn)	16.40 ABC
<i>B. velezensis</i> 100%	41.60 A
<i>B. velezensis</i> 50%	39.00 A
<i>B. vallismortis</i> 100%	30.40 AB
<i>B. vallismortis</i> 50%	25.00 ABC
<i>P. fluorescens</i> 100%	13.20 ABC
<i>P. fluorescens</i> 50%	8.20 BC

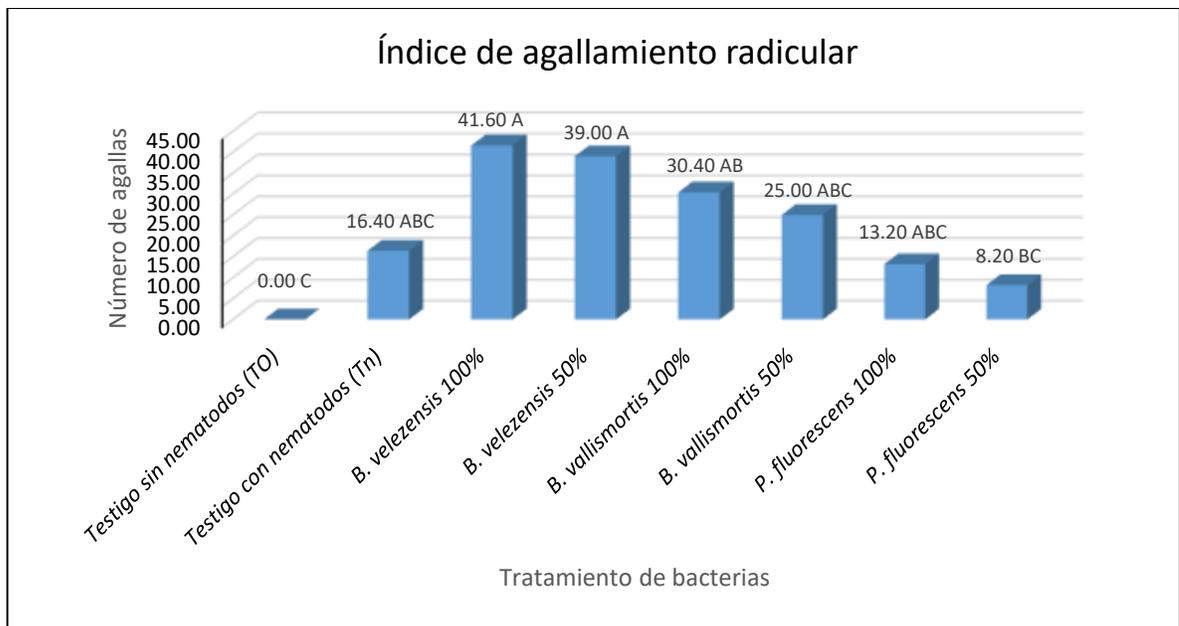


Figura 31. Índice de agallamiento radicular en plantas de tomate tratadas con bacterias promotoras de crecimiento.

CONCLUSIONES

Se identificó al nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en la planta de tomate.

El tratamiento de *Pseudomonas fluorescens* presentó buen efecto nematicida sobre el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en plantas de tomate en invernadero, reduciendo el número de agallas o nódulos en la raíz de la planta.

Las tres bacterias demostraron tener un gran potencial como promotoras de crecimiento vegetal, además del importante efecto sobre *Meloidogyne incognita* en las plantas de tomate, logrando un desarrollo óptimo la planta aún con la presencia del nematodo con resultados significativos en altura, peso fresco y longitud de raíz.

LITERATURA CITADA

- Abd El-Aal, E. M.-A. (2021). *In vivo* and *in vitro* management of *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae) using rhizosphere bacteria, *Pseudomonas* spp. and *Serratia* spp. Saudi Journal of Biological Sciences, 28(9), 4876-4883. doi:10.1016/j.sjbs.2021.06.078.
- Abd-Elgawad, M. M. M., Askary, T.H (2018). Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 28(1). Doi:10.1186/s41938-018-0080-x.
- Abd-El-Khair, H., El-Nagdi, W. Youssef, M., Abd-Elgawad, M., Dawood, M. (2019). Protective effect of *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, and *Pseudomonas fluorescens* isolates against root knot nematode *Meloidogyne incognita* on cowpea. Bull Natl Res Cent. Doi.org/10.1186/s42269-019-0108-8.
- Abo-Elyousr, K., Khan, Z., Morsi, M., & Abedel, M. (2010). Evaluation of plant extracts and *Pseudomonas* spp for control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on Tomato. Nematropica, 40, 289-299
- Adam, M., Heuer, H., & Hallmann, J. (2014). Bacterial Antagonists of Fungal Pathogens Also Control Root-Knot Nematodes by Induced Systemic Resistance of Tomato Plants, *PLoS ONE*, 9(2). Doi:10.1371/journal.pone.0090402.
- Adeniji, A., Loots, D. y Badalona, O. (2019). *Bacillus velezensis*: phylogeny, useful applications, and avenues for exploitation. Applied Microbiology and Biotechnology, 103(9), 3669-3682. Doi:10.1007/s00253-019-09710-5.
- Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. Nueva York: 5 ed. Elsevier Academic Press.
- Alenezi, F., Slama, H., Bouket, A., Cherif-Silini, H., Silini, A., Luptakova, L., . . . Belbahri, L. (2021). *Bacillus velezensis*: A Treasure House of Bioactive Compounds of Medicinal, Biocontrol and Environmental Importance. Forests. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/f12121714>.
- Álvarez-García, J., Santoyo, G., Rocha-Granados, M. (2020). *Pseudomonas fluorescens*: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable.

- Latinoamericana de Recursos Naturales*, 1-10. Obtenido de <https://revista.itson.edu.mx/index.php/rlrn/article/view/286/259>.
- Andrés, M. y Verdejo, S. (2011). Enfermedades causadas por nematodos fitoparásitos en España. En A. M. S.. PHYTOMA-España.
- Argenta, G.; Silva, P.R.F.; Bortolini, C.G.; Forsthofer, E.L.; Strieder, M.L. 2001. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13(2): 158-167.
- 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, 275. <https://doi.org/10.3390/plants11030275>.
- Atlas. (2020). Atlasbig. Obtenido de Países por producción de tomate. <https://www.atlasbig.com/es-mx/paises-por-produccion-de-tomate>.
- Bashan y L E de-Bashan (2005). Plant Growth-Promoting. (E. O. D. Hillel, Ed.) *Encyclopedia of soils in the environment.*, 103-115.
- Bravo-Zamora, R., Villafuerte-Barreto, A., Peñarrieta-Bravo, S., Santana- Parrales, F., Zambrano-Gavilanes, F., & Fimia-Duarte, R. (2020). Diagnóstico de uso e impactos de plaguicidas en el cultivo de tomate (*solanum lycopersicum l.*) en la parroquia riochico, cantón portoviejo, provincia de manabí, Ecuador. *The Biologist*, 18(1).
- Camelo M., Vera, M., Sulma, P., Bonilla B. y Ruth Rebeca (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 159-166.
- Castaño-Zapata, J. (1989). Estandarización de la estimación de daños causados por hongos, bacterias y nematodos en frijol. En J. Castaño-Zapata, *Fitopatología colombiana* (págs. 9-19). Colombia.
- Cepeda, M. (1996). *Nematología agrícola* (Primera ed.). Trillas, México. Pág. 53-24, 105-108.
- Coyne, D., Nicol, J., D.L. y Claudius-Cole, B.(2007). *Nematología práctica: Una guía de campo y laboratorio*. En D. Coyne, & J. Y.-C. Nicol, Instituto Internacional

- de Agricultura y el Centro Internacional de Mejora del Maíz y trigo. (pág. 82). Cotonou, Benin.
- Eisenback, D., Hirschmann, H., Sasser, N., y Triantaphyllou, A. (1981). A Guide to the Four Most Common Species of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* Spp.), With A Pictorial Key. The Departments of Plant Pathology and Genetics North Carolina State University, 17-18. Obtenido de https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/pnaaq221.pdf.
- Elling, A. A. (2013). Major emerging problems with minor *Meloidogyne* Species. *Phytopathology* 103, 1092–1102. Doi: 10.1094/phyto-01-13-0019-rvw.
- El-Sappah, A. H., M M, I., H El-Awady, H., Yan, S., Qi, S., Liu, J., Cheng, G. T., & Liang, Y. (2019). Tomato Natural Resistance Genes in Controlling the Root-Knot Nematode. *Genes*, 10(11), 925. <https://doi.org/10.3390/genes10110925>
- Fan, H., Yao, M., Wang, H., Zhao, D., Zhu, X., Wang, Y.... Chen, L. (2020). Isolation and effect of *Trichoderma citrinoviride* Snef1910 for the biological control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *BMC Microbiol.*(299). Obtenido de <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01984-4>.
- FAO. (2010). Buenas Prácticas Agrícolas en la Cadena del Tomate. Argentina: Cosme Argerich. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO: <https://www.fao.org/3/i1746s/i1746s.pdf>.
- FAO. (2013). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: <https://www.fao.org/3/i3359s/i3359s.pdf>.
- Forghani, F. y Hajihassani, A. (2020). Recent advances in the development of environmentally benign treatments to control root-knot nematode. *Front. Plant Sci.* Doi:10.3389/fpls.2020.01125.
- Frápolli, E. (1949). *El nematodo de los nodulos radiculares, Meloidogyne spp. (Chitwood 1949) en los cultivos hortícolas*. Obtenido de Consejería de Agricultura y pesca: https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/1337166340EI_Nemxtodo_de_los_Nxdulos_radiculares_en_los_cultivos_hortxcolas.pdf.

- Guimarães, T.G.; Fontes, P.C.R.; Pereira, P.R.G.; Alvarez, V.V.H.; Monnerat, P.H. 1999. Teores de clorofila determinados por medidor portátil e sua relação com formas de nitrogênio em folhas de tomateiro cultivado em dois tipos de solo. *Bragantia*, 58(1): 209-216.
- Ghareeb, R., El-Din, S., Maghraby, D., Ibrahim, D., Abdel-Megeed, A, y Abdelsalam N.,. (2022). Nematicidal activity of seaweed-synthesized silver nanoparticles and extracts against *Meloidogyne incognita* on tomato plants. *Sci Rep* 12, 3841. Doi:org/10.1038/s41598-022-06600-1.
- Orrico, D., Ulloa, S. y Medina, E. (2013). Efecto de los hongos micorrícicos arbusculares y *Pseudomonas fluorescens* en el Control de *Meloidogyne* spp. en plantas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). (R. A. Falconí, Ed.) *Ciencia*, 15(1,2013), 1-10.
- Guzmán, Ó., Castaño, J., y Sánchez, M. (2013). Estudio preliminar del efecto de Microorganismos benéficos sobre el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y el nematodo del nudo radical (*Meloidogyne* spp.). *Revista Agronomía*. 21(2), págs. 51-64.
- Herrera-Parra, E. Cristóbal, A.J., Tun, J.M., Góngora, J.A. y Lomas, C.T. (2011). Nematofauna nociva (*Meloidogyne* spp.) en cultivos hortícolas tropicales: Distribución y perspectivas de manejo en Yucatán. En: Recursos genéticos microbianos en la zona Golfo-Sureste de México. M. Gamboa-Angulo y R. Rojas-Herrera., 121-134. CICY-UADY-SAGARPA.
- Hidroponía. (2015). Hidroponia.mx. Obtenido de Hidroponía.mx: <http://hidroponia.mx/importancia-del-cultivo-de-jitomate-en-mexico/>.
- Huang, B., Li, J., Wang, Q., Guo, M., Yan, D., Wensheng Fang, W.... Yuan J. L. (2018). Effect of soil fumigants on degradation of abamectin and their combination synergistic effect to root-knot nematode. *Plos One*.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Somasundaram, R., y Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characterization. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11: 100-105.

- Jepson, S. (1987). Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). (*Meloidogyne* spp.). CAB International, Wallingford,UK, 265.
- Leal, J., Gutiérrez, MA., Castro, L., Lares, F., Cortes, J., & De los Santos, S. (2018). Microorganismos promotores de crecimiento vegetal con yeso agrícola en papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo casa sombra (en línea). *Agrociencia* 52(8): 1149-1159.
- Lezaun, J. (2016). Nematodos fitoparásitos: una plaga mundial. *Croplifela, Agribusiness & Marketing Consultant South America Region*. Obtenido de <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/nematodos-fitoparasitos>.
- Luna, M. y Delgado, A. (2014). Importancia, contribución y estabilidad de antioxidantes de frutos y productos del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, 51-60. Obtenido de <http://ww.ucol.mx/revaia/pdf/2014/enero/5.pdf>.
- Márquez, M., Torres, L. y Escobar, M. (2003). Evaluación del efecto nematicida de cepas de *Bacillus* spp. *Fitosanidad* (págs. 55-58). La Habana, Cuba.
- Miljaković, D., Marinković, J., y Balešević-Tubić, S. (2020). The Significance of *Bacillus* spp. in Disease Suppression and Growth Promotion of Field and Vegetable Crops. *Microorganisms*. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071037>.
- Mnif, I. & Ghribi, D. (2015). Potential of bacterial derived biopesticides in pest management. *Crop Protection*, 77, 52-64. doi:10.1016/j.cropro.2015.07.017.
- Moens, M., N. Perry, N. y Star, J. (2009). *Meloidogyne* species - a diverse group of novel and important plant parasites. 1-17.
- Mohamed, Z. E.-S.-W. (2009). Potency evaluation of *Serratia marcescens* and *Pseudomonas fluorescens* as biocontrol agents for root-knot nematodes in Egypt. *Appl. Sci. Res.* 4 (1), 93-102.
- Odoh C.K. (2017). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Bioprotectant bioinoculant for Sustainable Agrobiolgy. A Review. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.*, 4:123–142.

- Ortiz, R., Guzmán, Ó., Leguizamón, J., (2015). Manejo integrado del nematodo del nudo radical [*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood y *Meloidogyne mayaguensis* Rammh & Hirschmann] en almácigos de guayabo (*Psidium guajava* Linneo), variedad Palmira. Colombia, Colombia. Obtenido: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-30682015000200007.
- Pacheco, M., Reséndiz, F. y Arriola, V. (2020). Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México. Revista mexicana de ciencias forestales, 10(56), 4-32. Obtenido de <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>.
- Perry, R. y Moens, M. (2006). Plant Nematology. En R. y. Perry, Plant Nematology. (pág. 440). CABI. London, United Kingdom.: First edition.
- Perry, R., Curtis, C. y Robinson, A., (2009). Root knot nematodes. *CAB International, London*.
- Philbrick, A., Adhikari, T., Louws, F. y Gorny, A. (2020). *Meloidogyne enterolobii*, a Major Threat to Tomato Production: Current Status and Future Prospects for Its Management. Obtenido de *Frontiers in Plant Science*: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.606395/full>.
- Roberts, M., Nakamura, L. y Cohan, F. (1996). *Bacillus vallismortis* sp. nov., a Close Relative of *Bacillus subtilis*, Isolated from Soil in Death Valley, California. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 470-475.
- Roque, E., Delgado-Ortiz, J., Beltrán-Beache, M., Ochoa-Fuentes, Y., y Cerna-Chávez, E. (2021). Parámetros agronómicos del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculado con "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" y tratados con fosfitos. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*. Obtenido de <https://doi.org/10.19136/era.a8n1.2552>.
- Rossini, M., Azar, G., Iglesias, N., Giayetto, A., Azpilicueta C., González, M., Ohaco, P. y Ruiz, C. (2016). Pro-Huerta. Enfermedades de mayor importancia de los principales cultivos hortícolas de la región Patagonia Norte. p.89.
- Ruiz-García, C., Béjar, V., Martínez-Checa, F., Llamas, I. y Quesada, E. (2005). *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from

- the river Velez in Malaga, southern Spain. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(1), 191–195. doi: doi:10.1099/ijs.0.63310-0.
- SAGARPA. (12 de Noviembre de 2016). *¿Tomate o jitomate?* Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural : <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/tomate-o-jitomate>.
- Sah, S. y Singh, R. (2015). Siderophore: structural and functional characterisation a comprehensive review. *Agriculture Pol'nohospodárstvo.*, 61(3), Pag97-114. Obtenido de *Agriculture Pol'nohospodárstvo.*: <https://doi.org/10.1515/agri-2015-0015>.
- Salazar-Antón, W. y Guzmán-Hernández, T. (2013). Nematodos fitoparásitos asociados al tomate en la zona occidental de Nicaragua. . En N. f. Nicaragua., *Nematodos fitoparásitos asociados al tomate en la zona occidental de Nicaragua.* (págs. 27-36). costa rica: agronomia mesoamericana.
- Sánchez, R. & Guerra, P. (21 de Junio de 2022). *Pseudomonas spp. benéficas en la agricultura.* *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(4), Pag. 715-725. <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/2799/4960#citations>
- Satyendra S and Rekha B. 2021. Bio-management of soil borne pathogens infesting cucumber (*Cucumis sativus* L.) under protected cultivation system. *Biological Control* 157: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104569>
- Seid, A., Fininsa, C., Mekete, T. y Decraeme, W. (2015). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) - a century-old battle. *Nematology* 17 995-1009. doi:10.1163/15685411-00002935.
- Shafi, J. Tian, H. y Mingshan J. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* Pag. 446–459. doi:10.1080/13102818.2017.1286950.
- SIAP. (2017). *Planeación agrícola nacional.* Obtenido de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>.

- SIAP. (2021). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Gobierno de México. Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Gobierno de México: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/jitomate-o-tomate-276566>.
- SIAP. (2022). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera . Obtenido de Escenario mensual de productos agroalimentarios .
- Siddiqui, I. y Shaukat, S. (2002). Rhizobacteria-mediated Induction of Systemic Resistance (ISR) in Tomato against *Meloidogyne javanica*. *Journal of Phytopathology*, 150(8-9), Pag. 469–473. doi:10.1046/j.1439-0434.2002.00784.x 10
- Siddiqui, I. y Shaukat, S. (2003). Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in tomato: importance of bacterial secondary metabolite, 2,4-diacetylphloroglucinol. *Soil Biology and Biochemistry*, pag. 1615-1623. Doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.08.006.
- Singh, S. B. (2021). Biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* against *Meloidogyne incognita*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 74(3), pag. 703-714. doi:10.1007/s42360-021-00368-6
- Silva, J. L., Marroquin, E., Matta, F.B., Garner, J.O., Jr and Stojanovic, J. (2005). Physicochemical, carbohydrate and sensory characteristics of highbush and rabbiteye blueberry cultivars. *Sci. Food Agric.*, 85:1815-1821.
- Subedi, S., Thapa, B. y Shrestha, J. (2020). Overview of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and control management. *Journal of Agriculture and Natural Resources.*, 21-31. Doi: <https://doi.org/10.3126/janr.v3i2.32298>.
- Tian, X., Zhao, X., Zhao, S., Zhao, J. & Mao, Z. (2022). The Biocontrol Functions of *Bacillus velezensis* Strain Bv-25 Against *Meloidogyne incognita*. *Frontiers in microbiology*, 13, 843041. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.843041>.
- Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., Aarland, R., y Rodríguez-Sahagún, A. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana* 38:, Pag. 333-345. doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>.

- Vélez, S. y Guzmán, A. (2022). Técnicas de identificación del nematodo agallador. *Manglar* 19(2), 209-215. Doi: <http://doi.org/10.17268/manglar.2022.026>.
- Vibrans, H. (2009). *Malezas de México*. Obtenido de Malezas de México: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/lycopersicon-esculentum/fichas/ficha.htm#:~:text=Categor%C3%ADas%20taxon%C3%B3micas%20superiores,%3A%20Asteridae%3B%20Orden%3A%20Solanales>.
- Villanueva, E., Ramírez, S., Villanueva, C. y Herbert, J.(2022). Nemátodos entomopatógenos nativos en el cultivo de nopal verdura en milpa alta, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Obtenido de file:///C:/Users/anto_/Downloads/4123-19310-3-PB.pdf.
- Yigezu, G. (2021). Biology, Taxonomy, and Management of the Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) in Sweet Potato. (J. Shrestha, Ed.) *Hindawi*, 2021, 1-13.
- Zhang, M., Yang, L., Hao, R., Bai, X., Wang, Y., y Yu, X., (2020). Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria isolated from jujube (*Ziziphus jujuba*) and their potential to enhance drought tolerance. *Plant Soil* 451, 423–440.
- Zhao, Z., Wang, Q., Wang, K., Brian, K., Liu, C. y Gu, Y. (2010). Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 in vitro and identification of its antifungal components. En Q. W. Zhenzhen Zhao, *Bioresource Technology* (págs. 292–297). China: ELSERVIER. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852409009705#preview-section-cited-by>.