

Nematodos asociados al cultivo de pepino (*Cucumis sativus*) y efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento sobre *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae)

Nematodes of cucumber (*Cucumis sativus*) and growth-promoting rhizobacteria effect on *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae)

Fabiola Garrido Cruz¹ , Miriam Desiré Dávila Medina² , Agustín Hernández Juárez^{1*} 

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro # 1923 Col. Buenavista Saltillo, Coahuila. México. C.P. 25315. Tel. 52+8444110209.

² Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Venustiano Carranza # 935 Col. República Ote. Coahuila. México. C.P. 25280. Tel. 52+8444155752.

RESUMEN

Se analizaron muestras de suelo y raíces del cultivo del pepino. Se extrajeron e identificaron los nematodos fitopatógenos presentes. Juveniles de *Meloidogyne incognita* fueron los más abundantes en suelo, otros como *Aphelenchoides* sp., *Pratylenchus* sp., *Tylenchorynchus* sp., y *Aphelenchus* sp. se encontraron con menor presencia. De las raíces se obtuvieron hembras y huevos de *M. incognita*. Con el fin de encontrar alternativas a los productos químicos fumigantes utilizados en exceso, se evaluaron las rizobacterias *Bacillus vallismortis*, *Bacillus velezensis* y *Pseudomonas fluorescens*, que fueron fermentadas y filtradas para ponerse en contacto con estos nematodos bajo condiciones *in vitro*, observando su efecto cada 24 h. Los tratamientos se analizaron en concentraciones de 100 % y 50 %. El filtrado de *P. fluorescens* presentó la mejor actividad nematocida, ocasionando una mortalidad de 95 % en la concentración más alta y de 93 % en la concentración de 50 % a las 24 h, seguido por los tratamientos de *B. vallismortis* y *B. velezensis* con 83 y 77 % de respectivamente, en las concentraciones más altas. Los tres tratamientos ocasionaron un 100 % de mortalidad de los nematodos a 48 h de exposición, indicando, que contienen acción nematocida y pueden ser una alternativa viable para el control de estos fitopatógenos. **Palabras clave:** *Bacillus vallismortis*; *Bacillus velezensis*; Control biológico; Nematodo agallador; *Pseudomonas fluorescens*.

ABSTRACT

Soil and root samples of the cucumber crop were analyzed. Plant pathogenic nematodes present were extracted and identified. The juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* were the most abundant in soil, other such as *Aphelenchoides* sp., *Pratylenchus* sp., *Tylenchorynchus* sp., and *Aphelenchus* sp. were found in less presence. Females and eggs of *M. incognita* were obtained from the roots. Finding alternatives to chemicals fumigants, the rhizobacterias *Bacillus vallismortis*, *Bacillus velezensis* and *Pseudomonas fluorescens* were fermented and filtered to be evaluated on these filiform nematodes under laboratory conditions, observing their effect every 24 h. The treatments were evaluated at

concentrations of 100 % and 50 %. The *P. fluorescens* filtrate was the treatment with the best nematocidal activity, causing a mortality of 95 % at the highest concentration and 93 % at the 50 % at 24 h, followed by the treatments of *B. vallismortis* and *B. velezensis* with 83 and 77 % respectively at concentrations of 100 % product. The three treatments showed 100 % mortality of the nematodes after 48 hours of exposure, indicating that these rhizobacteria contain metabolites with nematocidal action that could be a healthy alternative for the control of these phytopathogens.

Key Words: *Bacillus vallismortis*; *Bacillus velezensis*; Biological control; Root knot nematode; *Pseudomonas fluorescens*.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del pepino en México tiene gran importancia económica, se ha incrementado en producción y exportación, en el 2022 su producción fue de 1,028,567.57 toneladas (SIAP, 2023). Dentro de los problemas fitosanitarios más importantes, se encuentran diversos géneros de nematodos fitopatógenos, entre ellos los noduladores de raíces, que alcanzan reducciones de la producción de hasta 60 % en agricultura protegida (Ornat *et al.*, 1997), disminuyendo la habilidad de la planta de absorber agua y nutrientes del suelo, ocasionando un lento crecimiento y un bajo rendimiento del cultivo (Machado *et al.*, 2013). La estrategia más utilizada para controlar infestaciones de nematodos es por medio de la aplicación de plaguicidas a base de organofosforados y carbamatos (Jones *et al.*, 2016), anteriormente se utilizaba el Bromuro de metilo, que por su alta toxicidad se ha retirado del mercado (Wang *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2017).

En la búsqueda de alternativas para controlar estos nematodos, sin dañar al medio ambiente y a la salud humana, se investigan diversas técnicas como enmiendas orgánicas, solarizaciones, fertilizaciones y control biológico (Collange *et al.*, 2011).

Existen bacterias que promueven el crecimiento de las plantas, ya que producen hormonas, solubilizan fósforo, potasio y zinc, e inducen resistencia hacia agentes bióticos o abióticos (Santos *et al.*, 2019). Estas bacterias también se han estudiado por su alto potencial como agentes de con-

trol (Radwan *et al.*, 2012). Las principales especies para este propósito, son aquellas encontradas en la rizosfera, donde se presenta una interacción entre las raíces de las plantas y microorganismos del suelo, los cuales se ven influenciados por los exudados radiculares (Mc Near, 2013), entre estas se encuentra el género *Bacillus* Cohn (1872), que ha mostrado actividad nematocida sobre el género *Meloidogyne* Göeldi (Condemarin *et al.*, 2018).

Bacillus vallismortis Roberts *et al.* (1996) es una especie poca estudiada como controlador de nematodos, se ha demostrado que es productora de una gran cantidad de metabolitos bioactivos, como la bacilomicina D, con actividad fungistática sobre diversos hongos fitopatógenos (Zhao *et al.*, 2010), así como los compuestos Iturin A y surfactina, utilizados para el control de otras enfermedades de plantas (Kaur *et al.*, 2017).

Bacillus velezensis (Ruiz-García *et al.*, 2005) se encuentra con frecuencia en el suelo, en alimentos fermentados e intestinos de animales, y comúnmente reconocido como un tipo de recurso biológico como *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn y *Bacillus amyloliquefaciens* (ex Fukomoto) (Priest *et al.*, 1987) estas últimas, producen enzimas líticas, fitohormonas y compuestos que inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos (Maung *et al.*, 2017). En análisis previos de esta bacteria con propiedades nematocidas, Tian *et al.* (2022), obtuvieron resultados prometedores al evaluar caldos bacterianos y sobrenadantes en juveniles y raíces infectadas de *M. incognita*.

Pseudomonas fluorescens (Flügge) (Migula, 1895), además de ser una bacteria que juega un importante rol en el crecimiento y salud de la planta, se ha descubierto que sus metabolitos secundarios, el 4-diacetylfloroglucinol (DAGP), fenazina y el ácido cianhídrico han mostrado efecto sobre microorganismos fitopatógenos (Hass y Defago, 2005), como huevos y larvas de *Globodera rostochiensis* (Wollenweber), mostrando una disminución en la eclosión y movilidad de estos organismos (Cronin, 1997). El objetivo de esta investigación fue identificar los nematodos fitopatógenos asociados al cultivo de pepino y evaluar *in vitro* los filtrados de las rizobacterias promotoras de crecimiento *B. vallismortis*, *B. velezensis* y *P. fluorescens* sobre *M. incognita*, como alternativa de control para este organismo del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en condiciones controladas en el Laboratorio de Entomología Molecular y Alternativas de Control de Plagas del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila.

Se utilizaron nemátodos fitoparásitos extraídos de muestras del cultivo de pepino *Cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae) var. 543 Harris Moran, del municipio de Guadalcázar San Luis Potosí, México. Se realizó un muestreo dirigido a plantas con síntomas típicos de la presencia de nematodos, como clorosis, achaparramiento, y observación de nódulos a la exposición de las raíces.

Las muestras consistían de raíces de las plantas, con aproximadamente 2 kg de suelo de la rizosfera. La extracción de nematodos de suelo se realizó por la metodología de tamizado- centrifugado (Araya *et al.*, 1995). La identificación de los géneros de nematodos filiformes extraídos de suelo se realizó con las claves taxonómicas de Siddiqi (2000) y las figuras publicadas por Mai *et al.* (1996).

Las muestras de raíces fueron lavadas y una parte de ellas observadas bajo microscopio estereoscópico, con el fin de extraer manualmente hembras para la identificación de la especie en base a las claves de Eisenback *et al.* (1983).

Otra sección de las raíces extraídas del cultivo fue lavada, seccionada y triturada en un molino eléctrico con 100 mL de agua, para su procesamiento por el método de tamizado-centrifugado. Con este procedimiento se obtuvieron huevos de nematodos, que fueron desinfectados e incubados a 25 °C, para observar su eclosión y utilizar a los juveniles en los bioensayos de mortalidad *in vitro*.

Las bacterias utilizadas para esta investigación fueron *B. vallismortis*, *B. velezensis* y *P. fluorescens*, otorgadas por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila.

Una muestra de las bacterias benéficas se agregó en un matraz erlenmeyer de un Litro de capacidad, el cual contenía 300 mL de caldo de Papa, enriquecido con extracto de malta y levadura y se mantuvieron en agitación constante a 150 rpm durante 5 d a temperatura ambiente (25 ± 5 °C). Se realizó un filtrado por medio de películas de nylon estériles con abertura de 0.45 µm. El extracto libre de células fue utilizado para las evaluaciones.

Para el bioensayo *in vitro*, se utilizaron placas plásticas de cultivo celular de 24 pozos de acuerdo con el método estándar de Prasad *et al.* (1972). Se evaluaron siete tratamientos (filtrados bacterianos), incluyendo un testigo solo con agua destilada (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos a evaluar para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* extraído de raíces de pepino.

Table 1. Treatments to evaluate the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* control, extracted from cucumber roots.

Tratamientos	Bacteria	Concentración
1	Agua destilada	0
2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	100 %
3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	50 %
4	<i>Bacillus velezensis</i>	100 %
5	<i>Bacillus velezensis</i>	50 %
6	<i>Bacillus vallismortis</i>	100 %
7	<i>Bacillus vallismortis</i>	50 %

Cada pozo fue una unidad experimental, donde se colocaron 15 nematodos juveniles y 500 µL de tratamiento, con 4 repeticiones. Las placas se colocaron en una incubadora (Yamato®) a 25 °C y fueron observadas bajo el microscopio estereoscópico a las 24 y 48 h para el conteo de juveniles muertos y determinar el efecto de los tratamientos sobre los juveniles, bajo un criterio de muerte, la falta de movimiento tras ser inducidos a un estímulo con un fino pincel.

Los datos de mortalidad de *M. incognita* fueron evaluados mediante un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) bajo un diseño experimental completamente al azar mediante el empleo del programa Statistical Analysis System (SAS, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los nematodos fitopatógenos extraídos e identificados en las muestras de suelo fueron: *Meloidogyne* sp., *Aphelenchoides* sp., *Pratylenchus* sp., *Tylenchorynchus* sp., y *Aphelenchus* sp., destacando con mayor predominio el género *Meloidogyne*.

En las muestras de raíces se observaron síntomas característicos de agallas y deformaciones (Figura 1) donde se encontraron hembras globosas y masas de huevos (Figuras 2a y b), las cuales fueron extraídas manualmente.



Figura 1. Raíces de plantas de pepino con agallas.
Figure 1. Cucumber plant roots with galls.

Bajo el microscopio estereoscópico se realizaron cortes perineales de las hembras por medio de los cuales se identificó al nematodo agallador *M. incognita*, utilizando como criterio las características del patrón perineal (Figura 3), mostrando un arco dorsal alto y cuadrado, con estrías onduladas, sin líneas laterales visibles.

Los nematodos juveniles de *M. incognita* expuestos a los filtrados bacterianos de *P. fluorescens* en las dos concentraciones, mostraron mortalidad a partir de las 24 h, siendo los tratamientos con mayor actividad nematicida sin diferencia significativa entre estos ($P < 0.05$). En la concentración más alta se presentó 95.9 % de mortalidad, y en la concentración de 50 % un 93.75 %.



Figura 2. a) Hembras de *Meloidogyne incognita* y b) masas de huevos presentes en raíces de Pepino.

Figure 2. a) *Meloidogyne incognita* females and b) egg masses present in Cucumber roots.

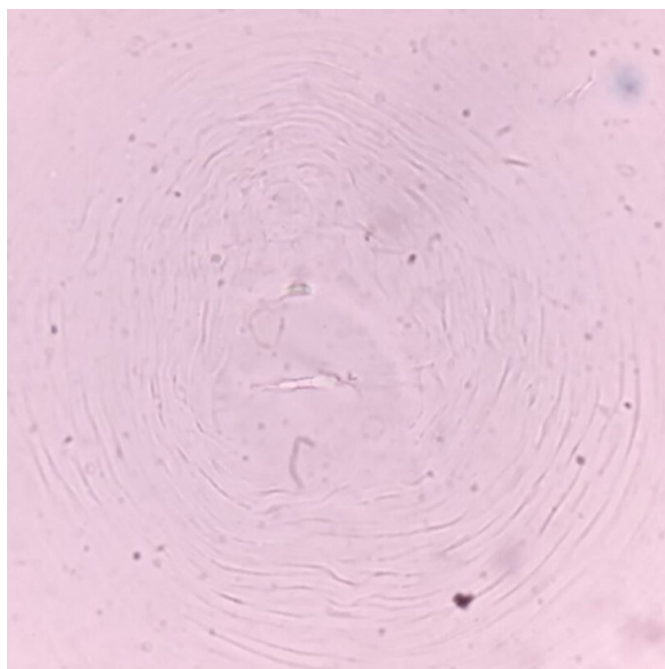


Figura 3. Corte perineal de *Meloidogyne incognita* extraída de agallas de raíces.

Figure 3. Perineal pattern of *Meloidogyne incognita* extracted from root galls.

El filtrado de *B. velezensis* en la concentración de 100 % causó mortalidad significativamente similar al filtrado de *B. vallismortis* con valores de mortalidad de 77.9 y 83.51 % respectivamente ($P < 0.05$).

La concentración al 50 % de *B. velezensis* causó el efecto nematicida más bajo de los tratamientos evaluados con 55.62 % de mortalidad de los juveniles a las 24 horas de exposición a los filtrados bacterianos (Tabla 2).

Después de 48 h de exposición, todos los tratamientos a excepción del testigo, presentaron los valores máximos de mortalidad, no difiriendo significativamente entre estos ($P < 0.05$), alcanzando el 100 % de mortalidad (Tabla 3).

Tabla 2. Mortalidad de juveniles de *M. incognita* a 24 horas de exposición a los tratamientos.

Table 2. Mortality of *M. incognita* juveniles after 24 hours of exposure to the treatments.

Tratamiento	Mortalidad de juveniles (%)
Agua destilada	5.00 d
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 100 %	95.30 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 50 %	93.75 a
<i>Bacillus velezensis</i> 100 %	77.92 ab
<i>Bacillus velezensis</i> 50 %	55.62 c
<i>Bacillus vallismortis</i> 100 %	83.51 ab
<i>Bacillus vallismortis</i> 50 %	73.75 ab

Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas al nivel de $P \leq 0,05$, por el procedimiento de comparación de Tukey. G.I. = 6.27; F = 24.89; P < 0.0001; C.V.: 18.14 %

Tabla 3. Mortalidad de juveniles de *M. incognita* a 48 h de exposición de los tratamientos.

Table 3. Mortality of *M. incognita* juveniles after 48 hours of exposure to the treatments.

Tratamiento	Mortalidad de juveniles (%)
Agua destilada	5.00 d
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 100 %	100.00 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 50 %	100.00 a
<i>Bacillus velezensis</i> 100 %	100.00 a
<i>Bacillus velezensis</i> 50 %	100.00 a
<i>Bacillus vallismortis</i> 100 %	100.00 a
<i>Bacillus vallismortis</i> 50 %	100.00 a

Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas al nivel de $P \leq 0,05$, por el procedimiento de comparación de Tukey. G.I. = 6.27; F = 361; P < 0.0001; C.V.: 4.37 %

De cada tratamiento, se tomaron nematodos filiformes y bajo el microscopio óptico se observaron los efectos sobre estos, en los nematodos del testigo con agua se observó movilidad, el cuerpo hialino, sin deformaciones en el interior y exterior (Figura 4). En los nematodos en contacto con los tratamientos de control, se observaron daños en el intestino, vacuolas en su interior y su notable falta de movilidad en el cuerpo (Figuras 5, 6 y 7).

En esta investigación, el nematodo juvenil predominante en las muestras del cultivo de pepino fue *M. incognita*, el cual causó los síntomas más severos en las plantas, como agallamientos visibles en las raíces. Comercialmente no existen variedades de pepino resistentes a nematodos agalladores, por lo tanto, sin resistencia genética el cultivo del pepino será vulnerable al parasitismo de este tipo de nematodos que causan grandes pérdidas (Hajihassani *et al.*, 2019). Ravichandra *et al.* (2014) reporta que los diez géneros de nematodos de mayor importancia económica, de acuerdo con la severidad de daño ocasionado en los cultivos hortícolas a nivel mundial son *Meloidogyne* spp., *Radopholus* spp., *Heterodera* spp., *Globodera* spp., *Pratylenchus* spp., *Rotylenchulus* spp., *Ditylenchus* spp., *Tylenchulus* spp., *Helicotylenchus*

spp. y *Xiphinema* spp. En el cultivo de pepino se encontró a *Meloidogyne* sp. y *Pratylenchus* sp, los cuales representan riesgo en este cultivo. La presencia de *Pratylenchus* sp. es de suma importancia, ya que es un nematodo lesionador de las raíces hospederas, ocasionando heridas en el sistema radical como vía de entrada para otros fitopatógenos como hongos y bacterias (Villain *et al.*, 1999). Especies del género *Aphelenchoides* son fungívoros y están asociados a tejidos en descomposición (Yeates, 1999), en este análisis se encontró a este género en menor cantidad que *Meloidogyne* sp. Estos nematodos se encuentran en una gran diversidad de plantas asociadas, no tienen hospedero específico (Sánchez-Monge *et al.*, 2015), ya que se han reportado más de 700 especies de 85 familias botánicas (Kohl, 2011). Dentro de este género se encuentran los nemátodos foliares y de los brotes que causan deformaciones y necrosis en hojas, como *A. ritzemabosi*, *A. fragariae* y *A. besseyi*, que invaden hojas y tejidos de una gran cantidad de especies de plantas (Idowu and Keneth, 2021), estos daños no se observaron en las plantas seleccionadas para muestreo. Este género también se puede comportar como ectoparásito, afectando puntos de crecimiento (Eppo, 2017).



Figura 5. *Meloidogyne incognita* expuesto al tratamiento de *Bacillus velezensis*.

Figure 5. *Meloidogyne incognita* exposed to *Bacillus velezensis* treatment.



Figura 6. *Meloidogyne incognita* expuesto al tratamiento de *Pseudomonas fluorescens*.

Figure 6. *Meloidogyne incognita* exposed to *Pseudomonas fluorescens* treatment.

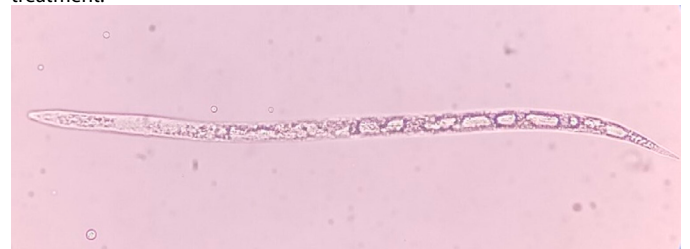


Figura 7. *Meloidogyne incognita* expuesto al tratamiento de *Bacillus vallismortis*.

Figure 7. *Meloidogyne incognita* exposed to *Bacillus vallismortis* treatment.

En las raíces analizadas, además de agallas, se encontraron daños como decoloraciones, probablemente por la presencia del género *Pratylenchus* sp., que ocasiona numerosas lesiones, o de *Tylenchorynchus* sp., que se identificó en el suelo, y del cual se ha demostrado que los síntomas causados por este nematodo van acompañados con decoloración del tallo y clorosis en el sistema foliar (Handoo *et al.*, 2007). En el cultivo de pepino se encontró además *Aphelenchus* sp. y *Aphelenchoides* sp. En México, se han detectado estos dos géneros, en cultivos de papa sin causar daño a las plantas (Montes Belmont, 2002). Por otra parte, Baldwind *et al.* (2004) describe al género *Aphelenchus* como degradador de hongos.

Para el control de estos nematodos, principalmente los agalladores, usualmente se utilizan nematicidas no fumigantes y fumigantes, los cuales son extremadamente tóxicos a humanos y a otro tipo de organismos benéficos (Zasada *et al.*, 2010).

Bacillus y *Pseudomonas* son géneros de bacterias predominantes que se han identificado como promotoras del crecimiento vegetal (Podile y Kishore, 2007), además de excretar metabolitos con actividades frente a patógenos (Siddiqui y Shaikat, 2003). Los filtrados bacterianos de la presente investigación en las concentraciones del 50 % mostraron excelente efecto al inactivar a las poblaciones de nematodos, observando parálisis en el cuerpo y detención de movilidad desde las 24 horas de exposición con el tratamiento.

Los filtrados de *B. velezensis* han sido evaluados para la inhibición de bacterias como *Micrococcus flavus* (Liu *et al.*, 2007), *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus* (Frankland y Frankland, 1887) en medios de cultivo, mostrando actividad antimicrobial. Tian *et al.* (2022), evaluó la mortalidad de J2 de *M. incognita* *in vitro*, inmersos por 24 h en sobrenadantes de *B. velezensis* cepa Bv-25, obteniendo una mortalidad de 78.3 y 59.5 % en concentraciones del 100 y 10 % respectivamente, similar a los resultados mostrados en este estudio, con una mortalidad de 77.91 y 55.2 % a las concentraciones de 100 y 50 % respectivamente.

B. vallismortis ha mostrado efectos sobre diversos hongos fitopatógenos, se le atribuye a la presencia de compuestos como Bacillomycina D (n-C14) y Bacillomycina D (iso-C15) con acción contra estos microorganismos (Zhao *et al.*, 2010). Pruebas cuantitativas han demostrado el incremento de unidades formadoras de colonias de la bacteria *B. velezensis* en raíces inoculadas. Esto indica que la colonización de esta bacteria en la planta es rápida y puede suprimir el parasitismo de nematodos como *M. incognita* (Tian *et al.*, 2022).

Especies de *Bacillus* producen metabolitos secundarios, como lipopéptidos con potencial importante como inhibidores de fitopatógenos (Ongena *et al.*, 2008; Théatre *et al.*, 2021).

En este estudio a 24 h de exposición se observó una mortalidad del 95 % sobre juveniles con la bacteria *P. fluorescens*, atribuida a enzimas como la Proteasa AprA, la cual se ha detectado en algunas cepas de esta rizobacteria; como metabolito encargado del biocontrol sobre *Meloidogyne* sp.

(Siddiqui *et al.*, 2003). Se ha descubierto que uno de los metabolitos importantes producidos por *Pseudomonas* sp., es el 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG), compuesto fenólico con actividad antifúngica, antibacteriana, antihelmíntica y fitotóxica de amplio espectro (Keel *et al.*, 1992; Dowling y O'Gara, 1994), por el cual se le puede atribuir su excelente efecto nematicida en esta investigación.

El control biológico se ha convertido en una herramienta eficaz para el manejo de enfermedades de plantas, con esta investigación se ofrecen nuevas alternativas nematicidas, que deberán continuar evaluándose en invernadero y campo, además de identificar los metabolitos presentes en las rizobacterias y determinar su actividad nematicida para problemas de fitosanidad.

CONCLUSIONES

Los microorganismos son una herramienta eficaz sobre fitopatógenos. Los filtrados libres de células de *Bacillus vallismortis*, *Bacillus velezensis* y *Pseudomonas fluorescens* en sus dos concentraciones, presentan una rápida y eficiente acción letal sobre nematodos juveniles.

Se comprueba que existen alternativas a los productos químicos fumigantes que se han utilizado en exceso para el control de nematodos fitopatógenos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por la beca postdoctoral otorgada al primer autor.

REFERENCIAS

- Araya, M., Centeno, M., y Carrillo, W. 1995. Densidad poblacional y frecuencia de los nematodos 34 parásitos de banano (*Musa* AAA) en nueve cantones de Costa Rica. *Corbana* 20(43):6-11.
- Baldwin, J. G., Nadler, S. A., y Adams, B. J. 2004. Evolution of plant parasitism among nematodes. *Annu Rev Phytopathol.* 42:83-105. doi: 10.1146/annurev.phyto.42.012204.130804. PMID: 15283661.
- Cohn, F. 1872. Untersuchungen über Bakterien. Pages 127-224 in: Beiträge zur Biologie der Pflanzen 1, 1875 (Heft 1), J. U. Kern's Verlag (Max Müller), Breslau. Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/page/5105059#page/2/mode/1up>.
- Collange, B., Navarrete, M., Peyre, G., Mateille, T., y Tchamitchian, M. 2011. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: the challenge of an agronomic system analysis. *Crop Protection* 30(10), 1251-1262.
- Condemarin, C. 2018. Efecto de bacterias nativas del suelo cultivado y prístino sobre el control del nematodo agallador radicular, *Meloidogyne javanica*. en condiciones *in vitro* y producción de biomasa. *Arnaldoa*, 25(2), 515-528. doi:10.22497/arnaldoa.252.25211.
- Cronin, D., Moënné-Loccoz, Y., Dunne, C., y O'Gara, F. 1997. Inhibition of egg hatch of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* by chitinase-producing bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 433-440. doi:10.1023/A:1008662729757

- Dowling, D. N., y O'Gara, F. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. *Trends Biotechnol.*12(4)133-144. doi:10.1016/0167-7799(94)90091-4
- Eisenback, D.J., Hirschmann, H., Sasser, N. J. y Triantaphyllou, C. A. 1983. Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nematodo agallador (*Meloidogyne* especies), con una clave pictórica. International Meloidogyne Project. Raleigh, North Carolina, USA.
- EPPO. 2017. PM 3/83 (1) *Fragaria* plants for planting inspection of places of production. Bulletin OEPP/ EPPO. Bulletin. 43(3),471-495. doi: 10.1111/epp.12408.
- Frankland, G. C. y Frankland, P. F. 1887. Studies on some new micro-organisms obtained from air. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B*, 178, 257-287.
- Flügge C. 1886. Die Mikroorganismen. 2. Aufl. 692 Verlag von F. C. W. Vogel, Leipzig.
- Gupta, R. C., Miller Mukherjee I. R., Doss R. B., Malik J. K. y Milatovic D. 2017. Organophosphates and Carbamates. *Reproductive and Developmental Toxicology* (2), Academic Press, 609-631.
- Haas, D., y Defago, G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat Rev Microbiol*,3(4),307-319. doi:10.1038/nrmicro1129.
- Hajihassani, A., Davis, R., y Timper, P. 2019. Evaluation of selected nonfumigant nematicides on increasing inoculation densities of *Meloidogyne incognita* on Cucumber. *Plant Dis.* (12) 3161-3165. doi: 10.1094/PDIS-04-19-0836-RE.
- Handoo, Z. A., Khan, A., e Islam, S. 2007. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Merlinius* Siddiqi, 1970 (Nematoda:Tylenchida) with description of *Merlinius khuzdarensis* n.sp. associated with datepalm *Nematology*, 9(2), 251-260.
- Rotifa, I. J., y Evans K. A. 2021. Use of acibenzolar-S-methyl and other novel products for the management of *Aphelenchoides fragariae* on ornamental plants in glasshouse and commercial conditions. *Crop Protection*, 141. doi: 10.1016/j.cpro.2020.105467
- Jones J. G., Kleczewski N. M., Desaeger J., y Meyer S. F. L. 2016. Evaluation of nematicides for southern root-knot nematode management in lima bean. *Crop Protection*, 96,151-157.
- Kaur, P. K., Joshi, N., Singh, I. P., y Saini, H.S. 2017. Identification of cyclic lipopeptides produced by *Bacillus vallismortis* R2 and their antifungal activity against *Alternaria alternata*. *J Appl Microbiol*, 122(1),139-152. doi: 10.1111/jam.13303.
- Keel, C., Schnider, U., Maurhofer, M., Voisard, C., Laville, J., Burger, U., Wirthner, P., Haas, D., y De fago, G. 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Molecular Plant- Microbe Interaction* 5(1), 4-13.
- Kohl, L. 2011. Foliar Nematodes: A Summary of Biology and Control with a Compilation of Host Range. *Plant Health Progress* 12(1), 23. doi:10.1094/php-2011-1129-01-rv
- Liu, X. Y., Wang, B. J., Jiang, C. Y., y Liu, S. J. 2007. *Micrococcus flavus* sp. nov., isolated from activated sludge in a bioreactor. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(1), 66-69. doi:10.1099/ijs.0.64489-0
- Liu Y., Teng, K., Wang, T., Dong, E., Zhang, M., Tao, Y., y Zhong, J. 2020. Antimicrobial *Bacillus velezensis* HC6: production of three kinds of lipopeptides and biocontrol potential in maize. *J Appl Microbiol.*128(1):242-254. doi: 10.1111/jam.14459.
- Machado, A. C. Z., Dorigo, O. F., y Mattei, D. 2013. First Report of the Root Knot Nematode, *Meloidogyne inornata*, on Common Bean in Paraná State, Brazil. *Plant Disease*, 97(3), 431-431.
- Mai, W. F., Mullin, P. G., Lyon, H.H., y Loeffler, K. 1996. Plant-parasitic nematodes. *A Pictorial Key to Genera*. Cornell University Press. Nueva York. 277.
- Maung, E. C. H., Choi, T. G., Nam, H. H., y Kim, K. Y. 2017. Role of *Bacillus amyloliquefaciens* Y1 in the Control of *Fusarium* Wilt Disease and Growth Promotion of Tomato. *Biocontrol Sci. Technol.* 27, 1400-1415 doi:10.1080/09583157.2017.1406064
- McNear Jr., D.H. 2013. The rhizosphere - roots, soil and everything in between. *Nat. Educat. Knowledge* 4 (3):1.
- Migula W. 1895. "Bacteriaceae (Stabchenbakterien)." In: Engler and Prantl (Editors), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. W. Engelmann, Leipzig, 20-30.
- Montes-Belmont, R. 2002. Nematología vegetal en México. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Sonora, México. 98 p
- Ongena, M., y Jacques, P. 2008. *Bacillus* lipopeptides: Versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol*,16, 115-125. doi: 10.1016/j.tim.2007.12.009. PMID: 18289856.
- Ornat, C., Verdejo-Lucas, S., y Sorribas, F.J. 1997. Effect of the previous crop on population densities of *Meloidogyne javanica* and yield of cucumber. *Nematropica* (27), 85-90.
- Podile, A. R., y Kishore, G. K. 2007. Plant growth-promoting rhizobacteria. In S.S. Gnanamanickam (Ed.) *Plant-associated bacteria*. Springer, Dordrecht, 195-230. doi: 10.1007/978-1-4020-4538-76.
- Prasad, S., Tilak, K., y Gollakota, R. 1972. Role of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on the larval survivability and egg hatching of *Meloidogyne*. spp. The causative agent of root-knot disease. *Journal of Invertebrate Pathology*, 20, 377-378.
- Priest, F. G., Goodfellow, M., Shute, L. A., y Berkeley, R. C. W. 1987. *Bacillus amyloliquefaciens* sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(1), 69-71. doi:10.1099/00207713-37-1-69.
- Radwan, M., Farrag, S., Abu-Elamayem, M., y Ahmed, N. 2012. Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology*. 56, 58-62, doi: 10.1016/j.apsoil.2012.02.008.
- Ravichandra N. G. 2014. *Horticultural Nematology*. Springer India, 411. doi: 10.1007/978-81-322-1841-8.
- 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. *Int J Syst Bacteriol.* 46 (2),470-475. doi:10.1099/00207713-46-2-470.
- Ruiz-García, C., Bejar, V., Martinez-Checa, F., Llamas, I., Quesada, E. 2005. *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Velez in Malaga, southern Spain. *Int J Syst Evol Microbiol.* 55:191-195. doi:10.1099/ijs.0.63310-0.
- Sánchez-Monge, A., Flores, L., Salazar, L., Hockland, S.H., y Bert, W. 2015. An updated list of the plants associated with plant-parasitic *Aphelenchoides* (Nematoda: Aphelenchoididae) and its implications for plant-parasitism within this genus. *Zootaxa*, 4013 (2), 207-24. doi: 10.11646/zootaxa.4013.2.3
- Santos, M., Nogueira, M., y Hungria, M. 2019. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and

- previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express* 9,205. doi: 10.1186/s13568-019-0932-0.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SIAP. 2023. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Recuperado de <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Siddiqi, R. 2000. Tylenchida: Parasites of plants and insects. CAB International. Londres. 848 p.
- Siddiqui, I. A., y Shaukat, S. S. 2003. Plant species, host age and host genotype effects on *Meloidogyne incognita* biocontrol by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 and its genetically-modified derivatives. *Journal of Phytopathology*, 151(4), 231-238.
- Théâtre, A., Cano-Prieto, C., Bartolini, M., Laurin, Y., Deleu, M., Niehren, J.; Fida, T., Gerbinet, S., Alanjary, M., y Medema, M.H. 2021. The surfactin-like lipopeptides from *Bacillus* spp.: Natural biodiversity and synthetic biology for a broader application range. *Front. Bioeng. Biotechnol*, 2(9), 623-701. doi: 10.3389/fbioe.2021.623701.
- Tian, X., Zhao, X., Zhao, S., Zhao, J., Mao, Z. 2022. The Biocontrol Functions of *Bacillus velezensis* Strain Bv-25 Against *Meloidogyne incognita*. *Front Microbiol*, 7(13), 843. doi: 10.3389/fmicb.2022.843041.
- Villain, L., Anzueto, F., Hernández, A., y Sarah, J. 1999. Los nematodos parásitos del café. En: *Desafíos de la caficultura en Centroamérica*. (pp. 327-367). Francia. 496 p Editorial: B. Bertrand y B. Rapidel. CIRAD.
- Wang, G. L., Chen, X. L., Chang, Y. N., Du, D., Li, Z. y Xu, X. Y. 2015. Synthesis of 1,2,3-benzotriazin-4-one derivatives containing spirocyclic indoline-2-one moieties and their nematicidal evaluation. *Chinese Chemical Letters*, 26(12), 1502-1506. doi: 10.1016/j.ccllet.2015.10.024
- Yeates, G. 1999. Effects of plants on nematode community structure. *Ann Rev Phytopathol*. 37(1):127-149. doi:10.1146/annurev.phyto.37.1.127.
- Zasada, I. A., Walters, T. W. y Pinkerton, J. N. 2010. Post-plant nematicides for the control of root-lesion nematode in red raspberry. *HortTechnology* 20:856-862.
- 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. *Bioresour Technol*. 101(1):292-297. doi: 10.1016/j.biortech.2009.07.071. Epub 2009 Aug 29. PMID: 19717300.