



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



**Centro Interdisciplinario de Investigación
para el Desarrollo Integral Regional
CIIDIR MICHOACÁN**

**EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON PATOGENESIS EN
JITOMATE SILVESTRE (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.)
INFECTADO CON NEMATODOS AGALLADORES**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN
PRODUCCIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN

PRODUCCIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE

PRESENTA:

ESTEFANÍA ELIZABETH CÁZARES ÁLVAREZ

DIRECTORES:

DR. EDGAR VILLAR LUNA

M en C. IGNACIO GARCÍA RUIZ

Jiquilpan, Michoacán, México. Diciembre 2019



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Jiquilpan, Michoacán siendo las 12:00 horas del día 11 del mes de diciembre del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Unidad Michoacán para examinar la tesis titulada:

“Expresión de genes relacionados con patogénesis en jitomate silvestre (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) infectado con nematodos agalladores”.

Presentada por el alumno:

Cazares	Álvarez	Estefanía Elizabeth
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre

Con registro:

B	1	7	1	1	2	9
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

M. en C. Ignacio García Ruíz

Dr. Edgar Villar Luna

Dra. María Valentina Angoa Pérez

Dr. José Luis Montañez Soto

Dr. Carlos Méndez Inocencio

Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante.
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F. el día 13 del mes de diciembre del año, el (la) que suscribe Estefanía Elizabeth Cázares Álvarez alumno(a) del Programa de Maestría con número de registro B171129, adscrito(a) al CIIDIR IPN, manifiesto(a) que es el (la) autor(a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección, del Dr. Edgar Villar Luna y del M. en C. Ignacio García Ruiz, cede los derechos del trabajo titulado EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON PATOGÉNESIS EN JITOMATE SILVESTRE (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme L.) INFECTADO CON NEMATODOS AGALLADORES, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del (de la) autor(a) y/o director(es) del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones edgar_villarled@yahoo.com y garinacho@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Estefanía Elizabeth Cázares Álvarez
Nombre y firma del alumno(a)

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR), unidad Michoacán y al Instituto Politécnico Nacional (IPN), por permitirme permitirme realizar mis estudios al formar parte de su comunidad estudiantil y por otorgarme la beca BEIFI que fue de gran ayuda para fomentar la investigación y la participación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgarme la beca durante estos dos años para finalizar mis estudios de posgrado de forma satisfactoria. Además, por el apoyo para el desarrollo del presente trabajo de EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON PATOGÉNESIS EN JITOMATE SILVESTRE (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* L.) INFECTADO CON NEMATODOS AGALLADORES. Bajo la dirección del Dr. Edgar Villar Luna, quién durante el desarrollo de la tesis apporto sumo esfuerzo, compromiso, conocimiento y disponibilidad para conducirme a terminarla.

A los miembros que integran el comité tutorial al M. en C. Ignacio García Ruíz, Dr. Carlos Méndez Inocencio, a la Dra. Ma. Valentina Angoá Pérez y al Dr. José Luis Montañez Soto. Por colaborar en mi formación y orientarme para concluir exitosamente el posgrado.

A mis maestros pues gracias a ellos adquirí nuevos conocimientos que tuvieron a bien compartirme. A mis compañeros por los buenos momentos que pasamos, disfrutando de las diferentes clases durante estos dos años. A Kathia, Julieta, Karla Araceli, Yuritzzi, Juanita, Jennifer, Javier, Yobani, Armando, Jonatan, Erandi, Catalina, Karina y otra lista enorme de maravillosas personas que disfruto compartir su amistad. A Fabian por ser mi mayor motivación y apoyo incondicional en muchos aspectos de la vida. Finalmente, a mi familia quien siempre esta presente en cada logro conseguido y me tienen la paciencia infinita de estar para mí.

A todos ellos gracias

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUCCIÓN	8
1.2. Objetivo general	11
1.2.1. Objetivos específicos	11
1. REVISIÓN DE LITERATURA	12
2.1. El cultivo de jitomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	12
2.1.1. Taxonomía.....	13
2.1.2. Diversidad genética de <i>S. lycopersicum</i>	13
2.1.2.1. Parientes silvestres de <i>S. lycopersicum</i>	13
2.1.3. Principales enfermedades.....	16
2.2. Nematodos agalladores	17
2.2.1. <i>Meloidogyne enterolobii</i>	18
2.2.2. Taxonomía	19
2.2.3. Ciclo de vida	19
1.3. <i>Nacobbus aberrans</i>	20
2.3.1. Taxonomía	21
2.3.2. Ciclo de vida	21
2.4. Estrategias de manejo de nematodos agalladores	22
2.5. Alteraciones transcripcionales inducidas por <i>Meloidogyne</i> spp. y <i>N. aberrans</i>	24
2.6. Resistencia sistémica adquirida (RSA)	27
2.6.1. Proteínas relacionadas con patogénesis.....	30

4.1. Invasión de raíces de jitomate por nematodos agalladores	35
4.2. Agallamiento y producción de huevos en raíces de jitomate infectadas con nematodos agalladores	40
4.3. Expresión génica relativa de <i>PR-1</i> , <i>PR-2</i> , y <i>PR-5</i> en raíces de jitomate infectadas con nematodos agalladores	42
.....	45
5. DISCUSIÓN	46
6. CONCLUSIONES	53
7. LITERATURA CITADA	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Producción de jitomate a nivel internacional	12
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Meloidogyne</i> spp.	20
Figura 3. Ciclo de vida de <i>N. aberrans</i>	22
Figura 4. Desarrollo de <i>M. enterolobii</i> en raíces de jitomate silvestre (<i>S. lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>) (A-D); cv. Río grande	36
Figura 5. Desarrollo de <i>M. incognita</i> en raíces de jitomate silvestre (<i>S. lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>) (A-D); cv. Río grande	38
Figura 6. Desarrollo de <i>N. aberrans</i> en raíces de jitomate silvestre (<i>S. lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>) (A-D); cv. Río grande	39
Figura 7. Agallamiento de raíces de jitomate silvestre (<i>S. lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>)	41
Figura 8. Niveles de expresión relativa del gen <i>PR-1</i> en raíces de <i>S. lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (jitomate silvestre) y <i>S. lycopersicum</i> (cv. Río grande) infectadas con <i>Meloidogyne enterolobii</i> (A), <i>M. incognita</i> (B), y <i>N. aberrans</i> (C).	43
Figura 9. Niveles de expresión relativa del gen <i>PR-2</i> en raíces de <i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (jitomate silvestre) y <i>S. lycopersicum</i> (cv. Río grande) infectadas con <i>Meloidogyne enterolobii</i> (A), <i>M. incognita</i> (B), y <i>Nacobbus aberrans</i> (C).....	44
Figura 10. Niveles de expresión relativa del gen <i>PR-5</i> en raíces de <i>S. lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (jitomate silvestre) y <i>S. lycopersicum</i> (cv. Río grande) infectadas con <i>Meloidogyne enterolobii</i> (A), <i>M. incognita</i> (B), y <i>Nacobbus aberrans</i> (C).....	45

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1 . Principales parientes silvestres de jitomate	15
Cuadro 2 . Clasificación taxonómica de <i>M. enterolobii</i>	19
Cuadro 3 . Clasificación taxonómica de <i>N. aberrans</i>	21
Cuadro 4 . Principales propiedades de las familias de proteínas relacionadas con la patogénesis	31
Cuadro 5 . Oligonucleótidos utilizados para el análisis de expresión génica	34
Cuadro 6 . Número de nematodos en raíces de jitomate inoculadas con nematodos agalladores.	35
Cuadro 7 . Agallamiento y huevos en raíces de jitomate a 60 dpi con nematodos agalladores.	40

RESUMEN

El cultivo de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es con frecuencia afectado por los nematodos agalladores *Meloidogyne* spp. y *Nacobbus aberrans* (*Na*). Estos nematodos son patógenos biotróficos y en plantas susceptibles (interacción compatible) alteran la expresión de genes cuyos productos pueden afectar su ciclo de vida. La defensa contra estos patógenos es principalmente regulada por el ácido salicílico (AS), y se manifiesta con la expresión de algunos genes que codifican para proteínas relacionadas con patogénesis (PRs). Los objetivos de este trabajo fueron determinar el tipo de interacción que establecen *M. enterolobii* (*Me*), *M. incognita* (*Mi*) y *Na* con un genotipo local de jitomate silvestre (*JSilv*), y determinar mediante qRT-PCR los niveles de expresión de los genes *PR-1*, *PR-2* y *PR-5* en estas interacciones. Se establecieron dos experimentos independientes (E1 y E2), cada uno se repitió una vez. El diseño experimental fue completamente al azar. Como referencia de susceptibilidad a estos nematodos se incluyó al cv. Río grande (*JRg*). El E1 fue para determinar el tipo de interacción jitomate-nematodo agallador, y comprendió los tratamientos: *JSilv+Me*, *JSilv+Mi*, *JSilv+Na*, *JRg+Me*, *JRg+Mi*, y *JRg+Na*. El E2 fue para análisis de expresión génica en raíces a 2, 7 y 14 dpi (días post-inoculación). Hubo dos tratamientos adicionales -*JSilv* y *JRg* sin nematodo (Control)-. Los tres nematodos invadieron con éxito las raíces del *JSilv* al igual que en *JRg*. A 60 dpi, el agallamiento de raíces y producción de huevos fue evidente en ambos genotipos. Los genes *PR-1*, *PR-2* y *PR-5* fueron expresados diferencialmente en los dos genotipos de jitomate como respuesta a la infección por *Me*, *Mi*, y *Na*. En *JSilv+Me*, el gen fue sobre-expresado a 2 dpi, y fue disminuyendo a los 7 y 14 dpi ($p < 0.05$). En *JSilv+Mi* la expresión fue creciente conforme transcurrió el tiempo, registrándose la mayor sobre-expresión a los 14 dpi ($p < 0.05$). Los niveles de transcritos de *PR-1* en *JSilv+Na* fueron constantes a lo largo del tiempo y siempre fueron inferiores ($p < 0.05$). El gen *PR-2*, a 2 y 7 dpi fue sobre-expresado *JSilv+Me*. A 14 dpi en ambos genotipos la expresión del gen fue reducida. Hubo incrementos en los niveles de transcritos de *PR-2* a 7 y 14 dpi en *JSilv+Na*. En la interacción jitomate-*Me*, a los 2 dpi la expresión de *PR-5* fue menor en *JSilv*. Sin embargo, a los 7 dpi, dicho gen se manifestó mayormente. En el caso de *Mi*, *JSilv* mantuvo la transcripción constante del gen a 7 y 14 dpi, mientras que a los 2 dpi el gen fue reprimido. A 2, 7 y 14 dpi con *Na*, el gen tuvo una

expresión reducida en *JSilv*. El jitomate silvestre resultó susceptible a *Me*, *Mi*, y *Na* (interacción compatible), debido a que ellos completaron su ciclo de vida en sus raíces. Los cambios en los niveles de expresión de *PR-1*, *PR-2*, y *PR-5* sugieren que *Me*, *Mi*, y *Na* estimulan o reprimen la resistencia sistémica adquirida (RSA) dependiente de AS en raíces de *JSilv*. Sin embargo, la estimulación de la RSA no tuvo significancia biológica pues no se evitó el establecimiento y reproducción de estos nematodos.

Palabras clave: *Meloidogyne enterolobii*, *Nacobbus aberrans*, tinguaraque, modificaciones transcripcionales, resistencia sistémica adquirida.

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) crop is frequently affected by the root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. and *Nacobbus aberrans* (*Na*). These nematodes are biotrophic pathogens and in susceptible plants (compatible interaction) alter the expression of genes whose products can affect their life cycle. The defense against these pathogens is mainly regulated by salicylic acid (AS), and manifests itself with the expression of some genes that code for pathogenesis-related proteins (PRs). The aims of this work were to determine the type of interaction established by *M. enterolobii* (*Me*), *M. incognita* (*Mi*) and *Na* with a local wild tomato genotype (*JSilv*), and determine by qRT-PCR the expression levels of *PR-1*, *PR-2* and *PR-5* genes in these interactions. Two independent experiments (E1 and E2) were established, each repeated once. The experimental design was completely random. As a reference of susceptibility to these nematodes, cv. Rio Grande (*JRg*) was included. The E1 was to determine the type of tomato/root-knot nematode interaction, and included the treatments: *JSilv+Me*, *JSilv+Mi*, *JSilv+Na*, *JRg+Me*, *JRg+Mi*, and *JRg+Na*. The E2 was for gene expression analysis in roots at 2, 7 and 14 dpi (days post-inoculation). There were two additional treatments - *JSilv* and *JRg* without nematode (Control) -. The three nematodes successfully invaded the roots of *JSilv* as in *JRg*. At 60 dpi, root galling and egg production was evident in both tomato genotypes. The *PR-1*, *PR-2* and *PR-5* genes were differentially expressed in the two tomato genotypes in response to infection by *Me*, *Mi*, and *Na*. In *JSilv+Me*, the gene was overexpressed at 2 dpi, and was decreasing at 7 and 14 dpi ($p<0.05$). In *JSilv+Mi* the expression was increasing as time passed, with the highest over-expression being recorded at 14 dpi ($p<0.05$). *PR-1* transcript levels in *JSilv+Na* were constant over time

and were always lower ($p < 0.05$). The *PR-2* gene, at 2 and 7 dpi was over-expressed *JSilv+Me*. At 14 dpi in both genotypes, gene expression was reduced. There were increases in the levels of *PR-2* transcripts at 7 and 14 dpi in *JSilv+Na*. In the tomato-*Me* interaction, at 2 dpi the *PR-5* expression was lower in *JSilv*. However, at 7 dpi, this gene manifested itself mostly. In the case of *Mi*, *JSilv* maintained the constant transcription of the gene at 7 and 14 dpi, while at 2 dpi the gene was repressed. At 2, 7 and 14 dpi with *Na*, the gene had a reduced expression in *JSilv*. The wild tomato was susceptible to *Me*, *Mi*, and *Na* (compatible interaction), because they completed their life cycle in *JSilv* roots. Alterations in *PR-1*, *PR-2*, and *PR-5* expression levels suggest that *Me*, *Mi*, and *Na* stimulate or suppress AS-dependent acquired systemic resistance (RSA) in *JSilv* roots. However, the stimulation of RSA had no biological significance since the establishment and reproduction of these nematodes was not avoided.

Key words: *Meloidogyne enterolobii*, *Nacobbus aberrans*, tinguaraque, transcriptional modifications, systemic acquired resistance.

1. INTRODUCCIÓN

El jitomate es una hortaliza que está incluida en la mayoría de las dietas de los seres humanos, constituyéndose como un producto esencial y de mayor consumo; este incremento en su valor culinario propicia que aumente su demanda y crezca su comercio a nivel mundial (Heuvelink, 2018). Por lo tanto, esto conlleva a la necesidad de una mejora continua de su producción. A nivel mundial, México ocupa el décimo lugar en producción de jitomate; mientras que, a nivel nacional, Sinaloa lidera la producción, y Michoacán se posiciona en el quinto lugar (FAO 2017; SAGARPA, 2018). El cultivo puede verse afectado por diversas enfermedades que comprometen la producción que se realiza en campo abierto e invernadero. Las enfermedades son causadas por fitopatógenos como bacterias, hongos, virus y nematodos (Shankar *et al.*, 2014). De estos últimos, los nematodos agalladores son de los más relevantes por las pérdidas significativas que causan en plantas en todo el mundo, afectan principalmente a cultivos como jitomate, papa, chile, frijol, arroz, por mencionar algunos (Flores, 2012; Dal Bello *et al.*, 2012).

Los nematodos agalladores *Meloidogyne enterolobii* y *Nacobbus aberrans* son de los más perjudiciales en el cultivo de jitomate (Jones *et al.*, 2013). Los síntomas significativos que inducen en sus plantas hospedantes son: marchitez, enanismo, clorosis y agallamiento (Nicol *et al.*, 2011). El agallamiento es el principal indicativo del desarrollo de estos nematodos, ya que atrofian el tejido radical como producto de la formación de sitios especializados de alimentación (Jones *et al.*, 2013). *M. enterolobii* es una especie emergente y de las más agresivas por el amplio rango de hospedantes que parasita, la efectividad para reproducirse y la formación de grandes agallas. En contraste con otras especies de *Meloidogyne*, induce un daño más severo en las raíces (Castagnone-Sereno, 2012). *M. enterolobii* puede superar el gen de resistencia *Mi-1* (que confiere resistencia a las especies comunes de *Meloidogyne*) y dañar muchos cultivos económicamente importantes (Li *et al.*, 2016). Para el manejo de estos fitopatógenos, es común el uso de nematicidas sintéticos, conjuntamente con prácticas culturales. Los métodos convencionales para el control, confirman que generan resistencia a largo plazo, haciendo improductivos a los compuestos químicos (Karssen *et al.*, 2013). Adicionalmente, considerando los efectos nocivos que estos nematicidas tienen en la salud humana, y en el medio ambiente, es necesario explorar

alternativas de manejo ambientalmente amigables que minimicen estos impactos negativos. La resistencia genética es una estrategia promisorio y ambientalmente compatible. Hoy día, muchas variedades mejoradas de jitomate tienen incorporado el gen *Mi-1*, que minimiza los riesgos de infección por especies comunes de agalladores (Pacheco *et al.*, 2018). Dicho gen fue encontrado en un pariente silvestre del jitomate *S. peruvianum* L. (Milligan *et al.*, 1998). Las principales fuentes promisorias de resistencia son los parientes silvestres, debido a su alta diversidad genética ya que evitan el desarrollo del patógeno (Rodríguez, 2013). Son varios los parientes silvestres de jitomate hasta ahora documentados. En la región, el más conocido es el “tinguaraque”, crece en ambientes perturbados, a veces es considerado como maleza, y es tolerante a algunas plagas y enfermedades (Álvarez-Hernández, 2012). Por lo anterior es importante aprovechar la resistencia genética, explorando la población silvestre de la región.

En plantas susceptibles, los nematodos agalladores inducen la formación de sitios especializados de alimentación (células gigantes y sincitios); durante la formación de estas estructuras, ocurren cambios transcripcionales dramáticos en genes implicados en el metabolismo primario y secundario del hospedante (Jammes *et al.*, 2005; Favery *et al.*, 2016). Se ha demostrado que el gen que codifica para la una enzima clave en la vía de la pentosa fosfato es esencial para la formación de células gigantes, así como otra serie de enzimas que propician a la extensión de la pared celular a través de endo-b-D-glucanasas, expansinas y endotransglucosilasas de xiloglucano (Goellner *et al.*, 2001; Jammes *et al.*, 2005; Favery *et al.*, 2016). Algunas investigaciones que se tienen hasta el momento son las de Gheysen y Fenoll, 2002, donde describen algunos efectores inyectados por *Meloidogyne* y como los nematodos modifican las células para alimentarse y suprimen genes de defensa. Un ejemplo es el corismato mutasa (CM) el cual se expresa en las células de la glándula esofágica del nematodo. Caillaud *et al.*, 2008, describen como los parásitos biotróficos establecen una relación íntima con sus plantas hospedantes, además de que mencionan que los nematodos agalladores manipulan las funciones de las células vegetales durante una interacción compatible y así establecer sus sitios de alimentación. En plantas resistentes a nematodos es común la activación de la resistencia sistémica adquirida (RSA), la cual actúa como respuesta de defensa de las plantas contra patógenos biotróficos, por ejemplo, en la interacción incompatible jitomate /*Globodera rostochiensis*, los genes *PR-1* y *PR-5* fueron fuertemente

inducidos (Branch *et al.*, 2004). Un trabajo más reciente denota la relación que existe entre la expresión de genes relacionados con la patogénesis dependientes de la ruta del ácido salicílico (SA), donde se vinculó la actividad génica de *Mi-1*, ya que en plantas de jitomate resistentes a *M. incognita*, hubo un incremento en la expresión de los genes *PR-1* y *PR-5*, los cuales estuvieron relacionados con un reducido número de hembras adultas y huevecillos del nematodo presentes en las raíces de jitomate, lo opuesto ocurrió en plantas de jitomate susceptibles, favoreciendo el ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* (Molinari *et al.*, 2014). La RSA es dependiente del ácido salicílico, y se manifiesta con la expresión de genes marcadores que codifican para proteínas relacionadas con la patogénesis (PRs), los productos de genes marcadores presentan funciones específicas, tales son: *PR-1*: péptida señal, *PR-2*: β -1,3-glucanasas (degradan paredes celulares de patógenos) y *PR-5*: inhiben el crecimiento microbiano (Williamson y Kumar, 2006).

Hoy en día, en jitomate no hay reportes de resistencia a los nematodos *M. enterolobii* y *N. aberrans*; por tanto, es importante conocer la respuesta del jitomate silvestre durante la interacción con estos nematodos agalladores. Además de generar y aportar conocimiento sobre los cambios transcripcionales que *M. enterolobii* y *N. aberrans* pudieran inducir durante la interacción, debido a que también no hay información sobre los cambios transcripcionales que ellos inducen en este genotipo de jitomate silvestre.

1.2. Objetivo general

Conocer los niveles de expresión de genes marcadores de RSA¹ dependiente de ácido salicílico en jitomate silvestre (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) infectado con nematodos agalladores.

1.2.1. Objetivos específicos

Determinar el tipo de interacción que establecen *M. enterolobii*, *M. incognita* y *N. aberrans* con un genotipo local de jitomate silvestre.

Estimar los niveles de expresión de los genes relacionados con patogénesis *PR-1*, *PR-2* y *PR-5* en jitomate silvestre infectado con *M. enterolobii*, *M. incognita*, y *N. aberrans*.

¹ Resistencia sistémica adquirida

1. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El cultivo de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Después de la papa, el jitomate es la segunda hortaliza de mayor demanda a nivel mundial. El cultivo se desarrolla a un rango óptimo de temperatura que va de 18 a 25 °C, y en lugares de alta humedad (70%) FAO, 2018). En cuanto a la producción mundial, México ocupa el noveno lugar (**Figura 1**) (FAO, 2019). A nivel nacional, Sinaloa es el estado con la mayor producción; mientras que Michoacán se sitúa en el quinto (SIAP, 2017). La superficie cultivada se establece con agricultura protegida (malla sombra e invernadero) y con menor frecuencia a cielo abierto. Se estima que el jitomate es la principal hortaliza producida en México con agricultura protegida (70%), seguido de pimiento (16%) y pepino (10%) (SIAP, 2017).

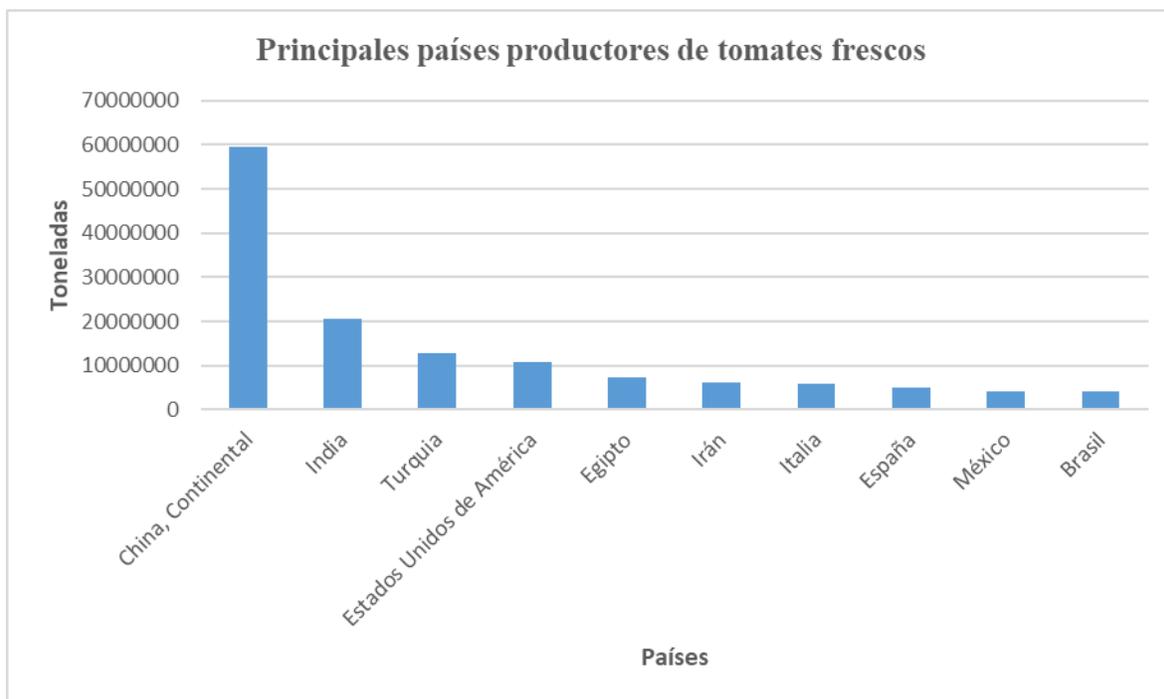


Figura 1. Producción de jitomate a nivel internacional (FAO, 2017).

2.1.1. Taxonomía

El jitomate es miembro de la pequeña sección *Lycopersicon* junto con sus doce parientes silvestres. Un adicional de cuatro especies de las secciones *Juglandifolia* y *Lycopersicoid* se consideran parientes silvestres. Todas ellas son endémicas de Sudamérica, pero el cultivo ha logrado una distribución mundial, por las preferencias de consumo humano. Las categorías taxonómicas a las que pertenece *S. lycopersicum* son: Reino: Plantae; Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares); Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semillas); División: Magnoliophyta (plantas con flor); Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas); Subclase: Asteridae; Orden: Solanales; Familia: Solanaceae; Género: *Solanum*; Especie: *Solanum lycopersicum* (Torrico, 2013).

2.1.2. Diversidad genética de *S. lycopersicum*

El jitomate es nativo del trópico americano, entre Ecuador y Perú y posteriormente distribuido a Colombia, Bolivia y México; en este último país se considera que fue domesticado (Peralta y Spooner, 2000). La gran adaptación que tienen las plantas para crecer en distintos sitios, es lo que permite que exista la biodiversidad genética, gracias a sus características evolutivas. Algunas zonas consideradas como un hábitat natural de las poblaciones silvestres de jitomate, se han visto reducidas, debido al incremento de la agricultura intensiva y al establecimiento urbano (Grandillo *et al.*, 2011). El color de los frutos de las plantas de jitomate silvestre varía según la especie, en su mayoría son verdes, aunque existen excepciones de color amarillo, naranja y rojo (Paran y van der Knaap, 2007). La evolución de los parientes silvestres de jitomate a lo largo del tiempo, ha permitido incorporar las características únicas, con la finalidad de aumentar la productividad en las variedades comerciales que en la actualidad se emplean, ya que estas últimas se han visto afectadas por los factores bióticos y abióticos (Hernández-Bautista, 2014).

2.1.2.1. Parientes silvestres de *S. lycopersicum*

Los cultivares de jitomate (*S. lycopersicum*) tienen parientes silvestres (PS) que son nativos del oeste de Sudamérica y las islas Galápagos. El ancestro silvestre más cercano al jitomate cultivado para producción intensiva es *S. pimpinellifolium* proveniente de la costa de Perú y Ecuador, estudios indican que existen tres grupos genéticos de los cuales provienen, las regiones costeras del norte de Ecuador, la región montañosa del sur de Ecuador, norte de Perú y la región costera de Perú (Blanca *et al.*, 2012). Las dos variedades botánicas en las cuales se divide *S. lycopersicum* son: *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* y *Solanum lycopersicum* var. *lycopersicum*, ambas originarios de la región andina (Cuadro 1) (Rick, 1990). *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* es el antecesor del jitomate cultivado, por su abundancia en América Central y por la forma de la flor. Investigaciones genéticas recientes han demostrado que las plantas conocidas como cerasiforme es una mezcla de varios cultivares de jitomates silvestres (Nesbitt y Tanksley, 2002). Se ha colectado de ambientes húmedos de Ecuador y Perú, en el borde oriental de la cuenca del Amazonas, además de las costas y valles peruanos más secos y la costa ecuatoriana con alta humedad (Nakazato, 2012). En cuanto a la domesticación el jitomate sufrió una primera en Sudamérica y una segunda en Mesoamérica (Sim *et al.*, 2011; Blanca *et al.*, 2015).

El aprovechamiento de los PS, tiene como principio generar variedades de jitomate comerciales, con capacidades de producción mejoradas y mayor tolerancia al estrés ambiental (Sim *et al.*, 2009). Los PS tiene una amplia diversidad genética, en contraste, en las variedades cultivables ocurre lo opuesto (García-Martínez *et al.*, 2006; Bai y Lindhout, 2007), por ello los PS son la fuente más importante de diversidad genética para usarse en el mejoramiento genético, ya que se pueden encontrar genes de resistencia contra el estrés biótico y abiótico, o como fuente de otros atributos de importancia agronómica (Foolad, 2007; Bergougnoux, 2014). En regiones de Norte y Sudamérica, algunos de los PS ampliamente distribuidos son: *S. cheesmaniae*, *S. pimpinellifolium* L.; *S. chmielewskii*, *S. habrochaites*, *S. chilense* *S. peruvianum* L. y *S. penelli* Correll (Peralta *et al.*, 2005; Sánchez *et al.*, 2006).

El jitomate y sus PS son parte de un grupo monofilético, donde se incluye el clado de las papas. Cabe destacar que la amplia diversidad se debe al cambio climático y ambiental global en el que se hayan (Paran y Knaap, 2007). Según D'Arcy (2001), la forma silvestre se

debe nombrar como *Solanum lycopersicum* var. cerasiforme. Los PS se distribuyen a través de Ecuador, Perú, Chile y las Islas Galápagos (Peralta y Spooner, 2007). Estos genotipos tienen una amplia adaptación a diversos ambientes, debido a que crecen en diferentes altitudes, en montañas estrechas y geográficamente aisladas unas de otras, y también están adaptadas a condiciones ambientales específicas de suelo, condiciones que han dado como resultado una amplia diversidad genética entre estas especies (Bai y Lindhout, 2007; Bergoug-noux, 2014).

Cuadro 1 . Principales parientes silvestres de jitomate (Bauchet y Causse, 2012).

Especie	Distribución geográfica
<i>S. pimpinellifolium</i> (<i>L. pimpinellifolium</i>)	Nativo del sur de Ecuador y del norte de Perú, Se encuentra distribuido en valles y costas del pacifico.
<i>S. lycopersicum</i> var. cerasiforme (<i>L. esculentum</i> var. cerasiforme)	En todo el mundo, en las regiones de trópicas y subtropicales. Nativo de los Andes.
<i>S. arcanum</i> (<i>L. peruvianum</i>)	Nativo del norte de Bolivia y se distribuye al norte de Perú, en la costa y al interior de los Andes.
<i>S. chmielewski</i> (<i>L. chmielewski</i>)	Nativo del sur de Perú y del norte de Bolivia, se encuentra en suelos secos y en áreas drenadas.
<i>S. neorickii</i> (<i>L. parviflorum</i>)	Nativo del sur de Ecuador, sur y centro de Perú, se distribuye en regiones forestales.
<i>S. pennellii</i> (<i>L. pennellii</i>)	Nativo de la costa de Perú y actualmente distribuido en laderas secas y rocosas.
<i>S. habrochaites</i> (<i>L. hirsutum</i>)	Proveniente del sur de Ecuador y del sur y centro de Perú. Se puede encontrar en zonas secas y suelos drenados.
<i>S. chilense</i> (<i>L. chilense</i>)	Originario del sur de Perú y al norte de Chile, se distribuye en los cauces secos.
<i>S. huaylance</i> (<i>L. peruvianum</i>)	Nativo de Perú y se haya en laderas rocosas alrededor del callejón de Huaylas.
<i>S. peruvianum</i> (<i>L. peruvianum</i>)	Originario del centro de Perú y del norte de Chile, se puede encontrar en cauces secos.
<i>S. corneliumulleri</i> (= <i>L. peruvianum</i> , <i>L. glandulosum</i>)	Proveniente del sureste de Perú, se encuentra distribuido en lugares muy altos de hasta 3000 msn, como el Vertiente occidental de los Andes o en endientes más bajas, como los bordes de deslizamientos.
<i>S. cheesmaniae</i> (<i>L. cheesmaniae</i>)	Especie endémica de las Islas Galápagos y se distribuye en las orillas de los mares.
<i>S. lycopersicum</i> (<i>L. esculentum</i>)	Originario de Ecuador y Perú, actualmente está distribuido en todo el mundo.

2.1.3. Principales enfermedades

En todo el mundo, son diversos los factores que limitan la producción del cultivo, por ejemplo, las enfermedades inducidas por hongos, bacterias, virus y nematodos fitopatógenos. Las enfermedades bacterianas más comunes son las inducidas por *Pseudomonas syringae*, esta bacteria produce en el área de la superficie foliar, tallo y en los frutos pequeñas lesiones circulares de color café a negro conocidas como “mancha bacteriana”, ya avanzada la enfermedad atrofia el crecimiento de la planta y afecta directamente la calidad de los frutos (Shankar *et al.*, 2014; Griffin *et al.*, 2017). *Clavibacter michiganensis* pv. *michiganensis*, es otra bacteria que causa en jitomate el “cancro bacteriano”, enfermedad caracterizada por presentar marchitamiento foliar, rizado de la hoja, amarillamiento en la médula del tallo, lesiones de color marrón a negro en hojas, como tal en los frutos se puede apreciar un halo que va de color amarillo a blanco (Hwang *et al.*, 2018). Otra enfermedad que compromete la producción es el “marchitamiento bacteriano” inducido por *Ralstonia solanacearum* (Shankar *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2017).

Con respecto a las enfermedades de etiología fúngica, destacan las causadas por *Alternaria alternata*, que causa el cancro en el tallo, observándose a lo largo de toda la planta manchas de color café, alrededor del tallo se forman anillos, que avanzan progresivamente, hasta derrumbarlo (Encinas-Basurto *et al.*, 2017; Poudel *et al.*, 2018). *Thielaviopsis basicola*, dicha enfermedad causa serios problemas, que comienzan alterando el tejido afectado, que puede ser la raíz, donde aparecen lesiones que van de un color de rojo a café, seguido del amarillamiento a lo largo de toda la planta, además de la pérdida de hojas (Trojak-Goluch *et al.*, 2016). La antracnosis de jitomate, es otra de las enfermedades muy populares que afectan a dicho cultivo, el agente causal de esta enfermedad es *Colletotrichum gloeosporioides*, los síntomas son muy visibles en los frutos y algunas veces en el área foliar del jitomate característicos por presentar depresiones circulares, que van desde un color marrón hasta negro, en las raíces se puede apreciar que el tejido interno se ve pardo y deteriorado con abundante pequeños puntos negros debajo de la superficie de la raíces (Shankar *et al.*, 2014; Alkan *et al.*, 2015). De entre los oomicetos, *Phytophthora infestans* es el más relevante, causa la enfermedad conocida como “tizón tardío”. Los síntomas se hacen evidentes en las hojas, ya que aparecen manchas pálidas de color marrón, dichas manchas van creciendo y se unen

hasta que el tejido muere, puede aparecer moho blanco cerca de las manchas; en los frutos las lesiones tienen un color verde oliva (Shankar *et al.*, 2014).

Entre los virus más comunes que afectan el cultivo de jitomate destaca el virus de remolacha (BBTV), afectando la parte superior de las hojas, volviéndolas rizadas; cuando este virus invade la planta hospedante los síntomas característicos consisten en hojas gruesas y arrugadas, que toman un color amarillo, el tallo y frutos también suelen tomar dichos síntomas (Beris *et al.*, 2018). El virus del mosaico del tomate (ToMV) es otra de las enfermedades más comunes en el cultivo, es una cepa estrechamente relacionada con el virus del mosaico del tabaco (TMV), ToMV se caracteriza por causar en las hojas el aspecto de mosaico que va de verde claro a oscuro, distorsionando las hojas jóvenes, acompañado del retraso en el crecimiento; en los frutos inmaduros se pueden observar puntos de color negro y manchas amarillas (Shankar *et al.*, 2014; Nischwitz *et al.*, 2017). El virus X de la papa en jitomate (PVX), se transmite principalmente por insectos vectores del tipo masticadores y saltamontes. Al establecerse en el cultivo dicho virus causa el moteado de las hojas, leve retraso en el crecimiento de la planta y en algunos casos el follaje puede presentar color amarillo dependiendo de la cepa del virus, en las áreas moteadas se pueden apreciar pequeñas manchas pardas (Cueto-Ginzoet *et al.*, 2015). Finalmente se encuentran los nematodos fitoparásitos, destacando los agalladores (*Meloidogyne* spp y *Nacobbus aberrans*) y los formadores de quistes (*Globodera rostochiensis*) (Baranowski *et al.*, 2018).

2.2. Nematodos agalladores

Por los síntomas que induce en las raíces de sus hospedantes, *Meloidogyne* comprende el grupo típico de nematodos agalladores (NAGs). Varias especies de *Meloidogyne*, han sido reportadas en todo el mundo, tienen amplio rango de distribución, y destacan por su gran habilidad parasítica. Sus hospedantes de importancia agrícola son: papa, jitomate, chile, sandía y frijol, por mencionar algunos; y dentro de las especies con mayor ocurrencia en climas tropicales son *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. enterolobii* y en climas templados *M. hapla* (Castagnone *et al.*, 2013; Freitas *et al.*, 2017).

1.2.1. *Meloidogyne enterolobii*

M. enterolobii es uno de los NAGs más agresivos por el amplio rango de hospedantes que parasita, la efectividad para reproducirse y la formación de grandes agallas. En contraste con otras especies de *Meloidogyne*, induce un daño más severo en las raíces (Castagnone-Sereno, 2012). *M. enterolobii* puede superar el gen de resistencia *Mi-1* (que confiere resistencia a las especies comunes de NAGs) y dañar muchos cultivos económicamente importantes (Li *et al.*, 2016). Se estima que las pérdidas en rendimiento oscilan entre el 50-65%; en casos ya muy avanzados el cultivo se vuelve inviable (Kiewnick *et al.*, 2008). Es fácilmente transmisible por suelo y material vegetal infestado, como plántulas, bulbos y tubérculos. La reciente intercepción de esta plaga en varios países como: Alemania, Países Bajos, Reino Unido, ilustra que tiene el potencial de ingresar a diferentes regiones. *M. enterolobii* sobrevive en condiciones de invernadero y una vez que se ha introducido, generalmente es difícil de controlar o erradicar (EEPO, 2008).

M. enterolobii fue inicialmente encontrado parasitando raíces de *Enterolobium contortisiliquum* en la isla de Hainan en China en 1983, y generó confusión al momento de ser identificado a lo largo de los años, anteriormente se relacionaba erróneamente con *M. incognita*, un sigiloso análisis morfológico condujo a su identificación como una nueva especie. De tal identificación surgió la descripción de *M. enterolobii*, se detallaron nuevas especies de nematodos agalladores similares, pero parecían diferir de él en ciertas características morfológicas. Por otra parte, otra especie muy similar fue detectada por primera vez en berenjena en Puerto Rico y fue nombrada *M. mayaguensis*. Desde entonces, una significativa cantidad de datos moleculares y morfológicos se han acumulado y la relación taxonómica de *M. enterolobii* y *M. mayaguensis* fue consensuada. Hoy día, generalmente se acepta que *M. enterolobii* y *M. mayaguensis* son la misma especie. *M. enterolobii* ha sido encontrado en varias regiones de China, Vietnam, Florida, América Central y del Sur, Francia y Suiza (Elling, 2013). En México se tienen reportes en los siguientes hospedantes: sandía (*Citrullus lanatus*), en el Estado de Veracruz (Ramirez - Suarez *et al.*, 2013). Se reportó afectando plantas de jitomate cv. Ramsés en el valle de Culiacán, Sinaloa (Martínez *et al.*, 2015). En Chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) reportado

en Sinaloa (Villar-Luna *et al.*, 2016). En el cultivo de pitaya (*Stenocereus* spp.) en Jalisco (Ramirez- Suarez *et al.*, 2016).

2.2.2. Taxonomía

La taxonomía quedó establecida gracias a las descripciones hechas por Yang y Eisenback (1983), nombrando la especie descubierta como *M. enterolobii*, mientras que Rammah y Hirschmann, (1988) lo describieron como *M. mayaguensis* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de *M. enterolobii*

Reino:	Animalia
Phylum:	Nematoda
Clase:	Secernentea
Orden:	Tylenchida
Familia:	Meloidogynidae
Género:	<i>Meloidogyne</i>
Especie:	<i>enterolobii</i>

2.2.3. Ciclo de vida

El ciclo comienza después de la embriogénesis, la primera etapa del juvenil (J1), muda dentro del huevo y da origen al juvenil de segundo estadio (J2), los J2 emergen del huevo y penetran las raíces usando una combinación de daño físico (mediante el uso de su estilete) y la ruptura de la pared celular por acción de la secreción de enzimas celulolíticas y pectolíticas. Los J2 migran a la punta de la raíz y hacen un giro en forma de U cuando alcanzan la región meristemática apical, alcanzando el centro del cilindro vascular en la zona de diferenciación. En ese punto es donde comienzan la formación de los sitios especializados de alimentación (SEA), que consisten de varias células gigantes multinucleadas, por tanto, las células involucradas sufren hipertrofia e hiperplasia dando lugar al síntoma típico del agallamiento. Al alimentarse los J2 se hinchan y mudan a J3, y posteriormente a J4 (Perry *et al.*, 2009). En el estadio J4 se alcanza la etapa reproductiva, siendo ese momento en el que se diferencian sexualmente. Los machos son vermiformes y abandonan la raíz, en cambio las hembras adultas continúan alimentándose y agrandándose para hincharse, tomando una

forma parecida a la de una pera. En la etapa adulta la hembra deposita los huevecillos en una matriz gelatinosa producida por su glándula rectal. Dentro del huevo, la embriogénesis conduce al desarrollo de juveniles de primera etapa comenzando de esta forma un nuevo ciclo (Chitwood y Perry, 2009). En general, el ciclo de vida de *Meloidogyne* spp puede durar de tres semanas a pocos meses, dependiendo de factores ambientales, el hospedante, temperatura y humedad (Skantar y Handoo, 2008).

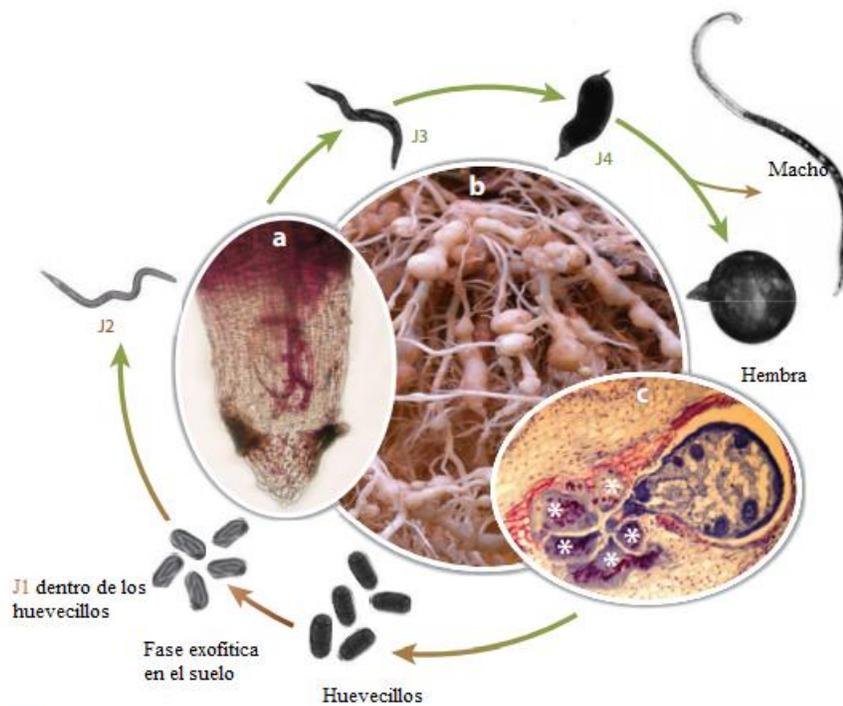


Figura 2. Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. (Castagnone-Sereno *et al.*, 2013).

1.3. *Nacobbus aberrans*

N. aberrans es económicamente importante en regiones tropicales y subtropicales de América del Norte y del Sur. En México causa daños principalmente a cultivos de frijol, chile y jitomate (Manzanilla-López *et al.*, 2002). El rango de hospedantes, incluye al menos 84 especies de plantas; en Europa es considerada plaga de cuarentena, y se han encontrado casos en invernaderos de Inglaterra y Holanda (Manzanilla-López *et al.*, 2002; Lax *et al.*, 2013).

2.3.1. Taxonomía

Nacobbus fue descrito en un inicio por Thorne en 1955 en Utah, EE. UU, llamándole *Anguillulina aberrans* donde parasitaba a *Atriplex confertifolia*. Actualmente el género consta de solo dos especies válidas, *N. dorsalis* y *N. aberrans* (Luc, 1987; Siddiqi, 2000) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Clasificación taxonómica de *N. aberrans*

Reino:	Animal
Phylum:	Nematoda
Clase:	Secernentea
Orden:	Tylenchida
Suborden:	Tylenchina
Familia:	Pratylenchidae
Subfamilia:	Nacobbinae
Género:	<i>Nacobbus</i>
Especie:	<i>Aberrans</i>

2.3.2. Ciclo de vida

El ciclo comienza con la etapa de huevecillo, dentro de este se haya el estadio juvenil de primera etapa (J1). Al eclosionar los huevecillos, el J2 migra e invade la raíz intracelularmente. Las mudas posteriores a J3, J4, ocurren dentro o fuera de la raíz. Este nematodo durante todo su ciclo de vida, exceptuando la fase de hembra madura, tiene la peculiaridad de entrar y salir de las raíces, generando lesiones que necrosan el tejido y forman cavidades en la corteza de la raíz, característica de un endoparásito (Inserra *et al.*, 1983). La única fase en la que *N. aberrans* se vuelve sedentario es al alcanzar la fase de hembra madura, formando los SEA llamados sincitios, manipulando las células de la planta hospedante, gracias a una serie de enzimas y proteínas que secreta a través de su estilete (efectores). Los sincitios se forman al estimular la división celular de la planta, disolviendo parcialmente la pared celular de la planta, generando una fusión de protoplastos celulares y estos sitios de alimentación son los que dan lugar a las agallas (hipertrofia e hiperplasia). En este sentido, *N. aberrans* es estrictamente un nematodo agallador de raíces. Las hembras se hinchan y

liberan los huevecillos al exterior de la raíz, comenzando nuevamente el ciclo (Jones *et al.*, 2013). La duración del ciclo de vida del nematodo dependerá del hospedante y los factores abióticos, en condiciones óptimas (22-24°C) puede oscilar entre 37 - 90 días (Costilla, 1985; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

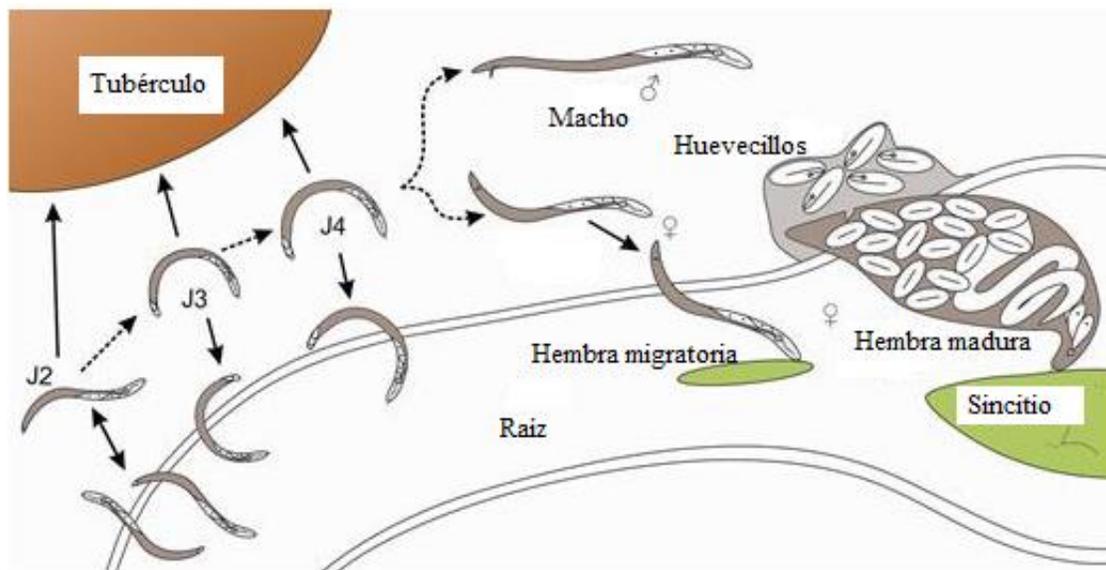


Figura 3. Ciclo de vida de *N. aberrans* (Eves-van den Akker *et al.*, 2014).

2.4. Estrategias de manejo de nematodos agalladores

Las sustancias nematicidas más empleadas comprenden: hidrocarburos halogenados, fosfatos orgánicos, ditiocarbamatos y compuestos nitrogenados (Ravelo, 2003). El uso de estos productos tiene varias desventajas: resultan ser tóxicos para los humanos y el entorno; alteran el equilibrio biológico del suelo; son costosos y en ocasiones requieren especificidad de equipos.

Entre las estrategias de control básicas al confirmar la presencia de nematodos agalladores (NAGs) en el cultivo son las del control de tipo cultural, que consiste en eliminar plantas enfermas dentro del área de cultivo, para evitar la difusión de nematodos, regar con abundante agua las plantas en los periodos de calor, para reducir la marchitez. Otras son el

exponer las raíces y el suelo a la radiación solar, controlar la nutrición del cultivo de jitomate y eliminar la presencia de malezas que alberguen nematodos (Abawi *et al.*, 2008). La rotación de cultivos resulta ser difícil de implementar, ya que *Meloidogyne* spp, es un nematodo que tiene una amplia gama de hospedante y para ser efectiva, la rotación debe durar al menos cuatro años (Blancard, 2012).

Por otra parte, el control biológico, implica generalmente el uso de agentes vivos para reducir la población por debajo del umbral de daño, o bien, cuando las densidades de población son bajas, se impide que éstas aumenten hasta alcanzar el umbral de daño (Gaur y Perry, 1991). Entre los microorganismos usados para el control de nematodos son los hongos de los cuales destacan: *Arthrobotrys irregularis*, *A. dactyloides*, *A. conoid*, *Glomus fasciculatum*, *Hirsutella minnesotensis*, *Paecilomyces, Marquandii* y *P. lilacinus*, algunas bacterias como: *Bacillus penetrans*, *B. thuringiensis*, y *Streptomyces costaricensis*. Un ejemplo del empleo de estos casos es con *Verticillium chlamydosporium* que infecta a los huevecillos y al estadio J2 de *M. hapla* (Blancard, 2012). El empleo de los extractos de plantas que han tenido éxito en la interrupción del desarrollo de nematodos agalladores son provenientes de las hojas y raíces de: *Azadirachta indica*, *Chromolaena odorata*, *Deris elliptica*, *Euphorbia antiquorum*, *Inula viscosa*, *Peganum harmala*, *Ruta graveolens*, *Senecio cineraria* y *Swietenia mahogani* (Blancard, 2012).

En la actualidad la resistencia genética sigue siendo una de las estrategias clave y más promisorias para el control de nematodos (Evans *et al.*, 1994; Blancard, 2012). Actualmente las variedades resistentes, están comercialmente disponibles. Esta resistencia proviene de la especie silvestre *Solanum peruvianum*, característica conferida por el gen dominante "Mi" (*Mi-1*); esto genera una respuesta de hipersensibilidad en el sitio de penetración del nematodo, de tal forma que las larvas ya no pueden entrar a la raíz; o bien la respuesta puede ocurrir en el interior de la raíz y bloquear el desarrollo del nematodo. Dicho gen se haya localizado en el cromosoma 6 de la especie silvestre y se sabe que es efectivo solo contra *M. incognita*, *M. arenaria*, y *M. javanica*. Actualmente se han reportado casos donde se ha roto la resistencia conferida en plantas portadoras de dicho gen; algunas de las causas más probables son la transferencia incompleta del gen y la influencia de la temperatura superior

a los 28 °C. La familia de genes *Mi*, que va de *Mi-2* a *Mi-8*, siguen siendo funcionales a 33 °C.

N. aberrans tiene un amplio rango de hospedantes, por tanto, es importante buscar plantas control que no son hospederas, que funcionan como cultivos trampa, con la finalidad de reducir las poblaciones de *N. aberrans*. Se han usado como cultivos antagónicos: la avena (*Hordeum vulgare*) *Chrysanthemum cinerariaefolium* o *Tagetes erecta* (Manzanilla-López *et al.*, 2002). En la actualidad ya se opta por cultivares resistentes que provienen de plantas silvestres y que recientemente se han reportado en frijol (Cid del Prado, 2016) y en algunas líneas de chile (*C. annuum*) (Gómez - Rodríguez *et al.*, 2017). El uso del manejo integrado de plagas (MIP) combina los diferentes tipos de control, de tal manera que logre una reducción exitosa de las poblaciones de *N. aberrans*. Franco- Navarro (2016), propone que la combinación de *P. chlamydosporia*, nematocidas sintéticos y técnicas de protección en cultivos amigables como el compostaje, mostró una disminución notoria de los nematodos.

2.5. Alteraciones transcripcionales inducidas por *Meloidogyne* spp. y *N. aberrans*

Los NAGs (*Meloidogyne* spp. y *N. aberrans*) han desarrollado múltiples estrategias que les permiten infectar y sobrevivir con éxito en las raíces de sus plantas hospedantes. Pueden secretar numerosas proteínas, denominadas efectores, los cuales tienen diversas funciones, como la supresión de las defensas de las plantas, todo ello mediante la formación de un SEA; la formación del SEA es un prerequisite para completar exitosamente su ciclo de vida. En la actualidad las herramientas moleculares han permitido conocer las numerosas proteínas que secretan los nematodos para conocer específicamente su funcionalidad, de tal forma que nos permita entender las respuestas de la interacción planta-patógeno, y como de esa manera se puede dar el parasitismo o se pueda dar la resistencia de la planta. Entre los efectores que producen los NAGs, están, por ejemplo, β -1,4-endoglucanasas, pectato liasas, poligalacturonasas y expansinas, que están involucrados en la degradación de la pared celular y de la invasión intercelular de los J2 en los tejidos de la raíz (Jaubert *et al.*, 2002).

Durante la interacción planta-nematodo, ocurre una serie de señalizaciones, ya que los efectores del nematodo copian las funciones de las moléculas propias de las plantas, alteran el ciclo celular, las hormonas, las estructuras celulares, el metabolismo y el transporte de nutrientes (Caillaud *et al.*, 2008; Hewezi y Baum, 2013). Gracias a los sitios especializados de alimentación, ocurren alteraciones celulares y dan lugar al agallamiento radical (Caillaud *et al.*, 2008; Favery *et al.*, 2016). Se ha comparado que el aumento del tamaño de las células alteradas es hasta 400 veces más grande que una célula vascular normal de la raíz (Abad *et al.*, 2009). Las estructuras que inducen los nematodos agalladores son los SEA llamados sincitios y células gigantes. Aunque estos dos tipos de sitios de alimentación comparten algunas características estructurales la principal función es la de suministro de nutrientes para el nematodo. Se ha visto que en plantas susceptibles como *Arabidopsis*, maíz y frijol infectadas con *Meloidogyne incognita*, presentan las alteraciones en las paredes celulares, donde se forman los SEA, de tal forma que incluyen la presencia de homogalacturonano péctico altamente esterificado, xiloglucano y arabinan péctico (Caillaud *et al.*, 2008).

Para que ocurra el establecimiento exitoso del nematodo dentro de la raíz, usualmente debe existir una represión de genes de defensa, mientras que aquellos relacionados con el metabolismo primario del hospedante son sobre-expresados (Barcala *et al.*, 2010; Portillo *et al.*, 2013). Se ha visto en jitomate, que en plantas tratadas con los inductores ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA), ácido benzoil (1,2,3) tiadiazol-7-carbamoditioico S-metilo éster (BTH), las plantas son susceptibles al ataque de *M. javanica*, presentando una represión de genes dependientes de ácido salicílico *PR-1b* y *PR-2*, y una expresión de los genes *PR-3* y *PR-5* (Sanz-Alfárez, 2008). Por otro lado, en plantas de arroz, el nematodo *M. graminicola* reprimió las vías del ácido jasmónico (AJ), suprimiendo la expresión del gen *JiOsPRI*, lo que promueve la susceptibilidad de las plantas (Nahar *et al.*, 2011). Se ha expuesto que través de las vías de señalización el AS, puede activar el sistema de defensa de las plantas contra nematodos agalladores; en este sentido, Molinari *et al.* (2014), demostraron que los genes *PR* específicamente de señalización y respuesta de AS fueron fuertemente inducidos en plantas de tomate que albergan el gen R *Mi-1*, provocando una resistencia sistémica adquirida, mientras en la interacción con *M. incognita* hubo una represión de los genes relacionados con la patogénesis (PR) asociados a la SAR dependiente de SA.

En plantas de Chile CM334 infectadas con *N. aberrans*, también se ha comprobado la represión de los genes *PR-1*, *WRKY1* y *POX*, al ser susceptibles al nematodo y lo opuesto ocurrió en plantas resistentes al oomiceto *P. capsici* (Villar-Luna *et al.*, 2014). Otro ejemplo es en plantas de camote (*Ipomoea batatas* L.), inoculadas con *M. incognita*, Lee *et al.* (2018), encontraron que los genes relacionados con la patogénesis *PR1*, *PR2* (beta-1,3-glucanasa), *PR4* (quitinasa) y *PR5* (taumatina), durante la infección con el nematodo, no se expresaron.

Se ha visto que en agallas formadas por *M. incognita* en *A. thaliana*, al evaluar la expresión génica, los genes que son de una misma ruta metabólica pueden estar sobre-expresados y sub-expresados, lo que indica que no todos los genes pertenecientes a una misma ruta metabólica se comportan de forma similar (Jammes *et al.*, 2005; Caillaud *et al.*, 2008). Otro ejemplo de lo mencionado es que en jitomate susceptible a *M. javanica*, Bar-Or *et al.* (2015), observaron que a los 5 y 10 días dpi, existe una regulación similar en los grupos de los mismos genes tanto en la regulación positiva como la negativa; por tanto, los eventos en la formación y mantenimiento de los sitios de alimentación están relacionados con el desarrollo del nematodo, y las células gigantes alcanzan su tamaño máximo y actividad al comienzo de la puesta de huevos. En J2 de *M. incognita*, se indujo la supresión de un gen efector (específico de la glándula subventral) el cual conduce a la alteración transcripcional de otros efectores no relacionados, de tal manera que se observó una reducción en la penetración de *M. incognita* en plantas de jitomate (Shivakumara *et al.*, 2016). Dentro de los genes efectores importantes para infección y patogenicidad de los nematodos agalladores se hayan los genes: *msp-16* / péptido 16D10, HIGS del gen *msp-9* y *msp-40*. Dichos genes han sido probados en distintas plantas modelo como lo son *Arabidopsis*, uva y papa (Huang *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2013; Dinh *et al.*, 2014).

Otro de los cambios transcripcionales que se han estudiado en la planta *Arabidopsis*, es la identificación de una proteína recientemente identificada como Mi-EFF1 de *M. incognita* la cual es secretada por el nematodo dentro de la célula gigante y está dirigida a los núcleos, donde puede manipular la función nuclear de la célula hospedante y a su vez se dirigen a las proteínas vegetales directamente para reprogramar las funciones celulares, este caso ocurre de igual manera en los nematodos formadores de quites (Hewezi *et al.*, 2008; Jaouannet *et al.*, 2012). La formación de los SEA proporciona un suministro prolongado de

nutrientes por parte de la planta hospedera, por tanto, se requiere de una represión de las vías de defensa, por lo cual existe una abundancia en los transcriptomas de genes sensibles a AS y AJ. Chinnapandi *et al.* (2017), encontraron que en plantas de jitomate inoculadas con *M. javanica*, se da la regulación positiva de WRKY45 en los sitios de alimentación y en las células vecinas está involucrado en la represión de las respuestas de defensa de las plantas, activándose directa o indirectamente, por secreciones de nematodos, además, señalan que SIWRKY45 es un factor de transcripción potencial por parte del nematodo invasor haciendo favorable su desarrollo en la raíz.

Un estudio molecular de qRT - PCR en plantas de *Arabidopsis thaliana* indicó que el nematodo *Heterodera schachtii* promueve la activación de la RSA dependiente de AS tanto en las raíces como en las hojas de las plantas infectadas, generando un aumento en los transcritos de *PR - 2* y *PR - 5* (marcadores de RSA dependiente de AS) (Hamamouch *et al.*, 2011). Se ha visto que *M. incognita* al infectar plantas de *A. thaliana*, parece disminuir la eficiencia de RSA dependiente de AS y AJ, evidenciando niveles reducidos de *PR-1* y *PR-5*. Un caso muy similar ocurrió en la interacción compatible jitomate-*M. javanica*, donde se evidenció la respuesta de RSA y de los cambios en la expresión de varios genes *PR* que responden al AS, *PR-1b*, *PR-2* y *PR-5*, de tal manera que se determinó baja regulación de la expresión génica en *PR-1b* y *PR-2*, excepto en el gen *PR-5* donde el nematodo indujo su expresión (Sanz-Alferez *et al.*, 2008). La aplicación exógena de AS en brotes de plantas de frijol infectadas con *M. incognita* promueven la activación de RSA y los genes marcadores se ven sobre expresados. Por otro lado, Al-Idrus *et al.* (2017), observaron en la inoculación con *M. incognita* en bananos Cavendish, que la RSA se cierra, ya que se manipula este sistema de inmunidad por la infección de nematodos, evitando así que el AS induzca la vía de expresión génica que conduce a la producción de proteínas PR.

2.6. Resistencia sistémica adquirida (RSA)

La RSA, es un mecanismo de señalización a larga distancia de defensas contra factores bióticos que son fitopatógenos hongos, bacterias, virus, nematodos, entre otros. Esta característica única hace de la RSA un rasgo altamente deseable en la producción agrícola

(Gao *et al.*, 2015). La RSA implica la generación de una señal (o señales) en el sitio de interacción, que subsecuentemente se translocan a los tejidos lejanos, activando las respuestas de defensa que dan como resultado una resistencia de amplio espectro. La producción de esta señal móvil se da en el floema generándose dentro de las primeras seis horas de la infección en las hojas primarias, transfiriendo la señal rápidamente a los tejidos no infectados (Chanda *et al.*, 2011; Kachroo y Robin, 2013; Wang *et al.*, 2014).

Las plantas están constantemente expuestas a una serie de patógenos, que en función de sus estilos de vida se pueden dividir ampliamente en biotróficos y necrotróficos. Los patógenos biotróficos dependen de los nutrientes de las células hospedantes vivas, mientras que los necrotróficos se alimentan de células muertas. Las plantas emplean distintas respuestas inmunitarias para contrarrestar estos patógenos. Esta primera línea de defensa implica el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PMAPs), tales como flagelina bacteriana, lipopolisacáridos y peptidoglicanos. Los PMAPs son reconocidos por proteínas transmembranales especializadas en la planta, denominados receptores de reconocimiento de patrones (RRP). El reconocimiento de PMAPs mediado por RRP desencadena la señalización que conduce a la activación de la resistencia basal denominada inmunidad activada por PMAPs (Schwessinger y Ronald, 2012). Algunos de los efectores de nematodos, tienen actividad inmunosupresora y desempeñan un papel esencial en el éxito del parasitismo, actuando en diferentes fases. En una primera fase los PAMPs son identificados por los RRP, lo que origina la inmunidad activada por PAMPs; en una segunda fase los nematodos adaptados secretan efectores específicos para evitar o suprimir la respuesta de la planta, en la fase tres, los efectores son reconocidos por receptores concretos del gen de la resistencia intracelular (R), dando lugar a la inmunidad activada por el efector (ITE) (Portillo *et al.*, 2013). Lo anterior se asocia con la resistencia de la enfermedad y la respuesta de la muerte celular provocada por la respuesta hipersensible (RH). De tal manera que la planta se obliga a producir las NADPH oxidasas *RbohD* y *RbohF* que dan lugar a las especies reactivas de oxígeno (ROS). De esta forma el nematodo ajusta el patrón de muerte celular, en la planta al invadir a la raíz, evitando las respuestas de defensa inducidas por AS (Morales *et al.*, 2013; Niu *et al.*, 2016).

El AS se encuentra entre las señales involucradas en la RSA, además de varios componentes que provienen de la vía del AS, como el derivado metilado de la AS y el diterpenoide deshidroabietinal, el ácido azelaico del ácido dicarboxílico de nueve carbonos (C9), un derivado del aminoácido ácido pipercolico, los radicales libres, el óxido nítrico (ON) y las especies reactivas de oxígeno galactolípidos (Gao *et al.*, 2015; Chaturvedi *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2014). La biosíntesis de las fitohormonas después del ataque de nematodos se prolonga en todas las partes de la planta (incluyendo los sitios no infectados), con la finalidad de conferir la RSA, dando como resultado preparación para futuros ataques, provocando una comunicación a larga distancia con las señales mediadas por AS/ AJ/ etileno (ET) (Gozzo, 2003). Las respuestas de defensa mediadas por AS dan como resultado la percepción de las señales mediante un mecanismo de amplificación por retroalimentación de las respuestas de defensa, de tal manera que se da la expresión de genes de defensa inducidos por AS generando una inducción y acumulación sistémica de marcadores AS, como las proteínas relacionadas con la patogénesis PR-1, PR-2 y PR-5 (Sels *et al.*, 2008).

En la RSA, local y sistémica, se produce abundante acumulación de AS después de la infección por patógenos, de tal manera que se induce la expresión de múltiples genes relacionados con la patogénesis (PR), los cuales se consideran marcadores de la vía de señalización de AS. Los genes PR-1, PR-2 y PR-5 han sido utilizados como marcadores de dicha ruta, ya que han sido probados para inducir la capacidad de defensa en plantas (Wubben *et al.* 2008; Hewezi *et al.*, 2010). En *Arabidopsis thaliana* se han estudiado las diferentes rutas metabólicas, más relevantes en la interacción con fitopatógenos, ya sean del tipo biotrófico o necrotrofico. Para el tipo biotrófico se da la RSA la cual está asociada con la acumulación dependiente de AS. Se sabe que los factores de transcripción se unen a un elemento sensible de AS y que NPR1 / NIM1 regula la expresión del gen de defensa al interactuar con los factores de transcripción bZIP. Los mutantes *ssi1* y *acd6* muestran fenotipos dependientes de SA, donde se ha visto que la resistencia a *P. parasitica* se mantiene en el doble mutante *cpr6 npr1*, PR-1, PR-2 y PR-5 pueden estar implicados en la resistencia a este patógeno (Thomma *et al.*, 2001). Por otro lado, los genes PR-3, PR-4 y PR-12 que codifican las proteínas antimicrobianas son regulados por AJ y etileno. La vía de defensa dependiente de AJ / etileno que no comprende PR-3, PR-4 y PR-12, es otro mecanismo de resistencia, llamado resistencia sistémica inducida (RSI), es incitado naturalmente por

algunas bacterias de rizósfera no patógenas. Se ha demostrado que RSI y RSA se pueden activar simultáneamente, lo que resulta en un nivel de protección adicional contra patógenos. Mientras que AS promueve la muerte celular, el AJ participa en la represión de la muerte celular dependiente de superóxido y, por lo tanto, en la contención de la lesión ocasionada por los patógenos necrotróficos. El AJ y etileno parecen afectar de manera diferencial la muerte celular ya que el etileno, como SA, está involucrado en la promoción de la muerte celular (Rao *et al.*, 2000).

La acumulación de proteínas PR-1, PR2 y PR-5, se consideran actualmente como marcadores bioquímicos más confiables para RSA. En concreto, la señalización AS y los genes de respuesta fueron fuertemente inducidos en plantas de jitomate portadoras del gen *Mi-1* (Molinari *et al.* 2014). El gen *NPR1* ha sido identificado recientemente como un receptor de AS en el núcleo celular, ya que, NPR1 interactúa con factores de transcripción TGA que pueden unirse a un elemento cis requerido para la capacidad de respuesta de AS (Vlot *et al.* 2009).

2.6.1. Proteínas relacionadas con patogénesis

Las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR), son aquellas proteínas que solo son detectables cuando existe una alta concentración de estas en los tejidos afectados y tejidos sanos, y usualmente son activadas en respuesta a la infección por patógenos. No obstante, también han sido detectadas cuando existe una aplicación exógena de ciertas fitohormonas, que desencadene una señal de respuesta. Se ha visto que las proteínas PR responden frente a un elicitador adecuado, acumulándose en espacios extracelulares y en pH bajos (Van Loon y Van Strien, 1999; Sels *et al.*, 2008). Numerosos estudios revelan que las PR tienen un elevado potencial frente al ataque de fitopatógenos, las PRs presentan diferentes tamaños que van de 5 a 75 kDa, también se ha observado que exhiben diferentes funciones en la interacción planta-patógeno (Cuadro 4) (Sels *et al.*, 2008).

Cuadro 4. Principales propiedades de las familias de proteínas relacionadas con la patogénesis (Sels *et al.*, 2008).

Familia	Tipo de miembro	Tamaño (kDa)	Función	Actividad microbiana
PR-1	Tabaco PR-1 ^a	15	Antifúngico	Desconocida
PR-2	Tabaco PR-2	30	b-1,3-Glucanasa	b-1,3-Glucano
PR-3	Tabaco P, Q	25–30	Quitinasa	(class I,II, IV, V, VI, VI)
PR-4	Tabaco ‘R’	15–20	Quitinasa class I,II	Quitinasa
PR-5	Tabaco S	25	Taumatina-like	Membrana
PR-6	Inibitor del jitomate I	8	Inhibitor de proteinasas	
PR-7	Jitomate P69	75	Endoproteinasa	
PR-8	Quitinasa de pepino	28	Quitinasa class III	Quitinasa
PR-9	Tabaco ‘peroxidasa formadora de lignina’	35	Peroxidasa	
PR-10	‘PR1 del perejil’	17	‘Ribonucleasa’	
PR-11	Quitinasa de tabaco calse V	40	Quitinasa class I	Quitinasa
PR-12	Rábano Rs-AFP3	5	Defensa	Membrana
PR-13	Arabidopsis THI2.1	5	Thionin	Membrana
PR-14	Cebada LTP4	9	Proteína de transferencia de lípidos	Membrana de
PR-15	Cebada OxOa (germin)	20	Oxalato oxidasa	
PR-16	Cebada OxOLP	20	Oxalato oxidasa	
PR-17	Tabaco PRp27	27	Desconocida	

Las PRs se han clasificado en 14 familias, según la composición de aminoácidos y las propiedades que presentan, que van de PR-1 a PR-14, han sido evidenciadas en diferentes plantas, tales como tabaco, tomate, pepino, perejil, rábano, *Arabidopsis* y cebada. Se sabe que las familias de PR-2 a PR-14 tienen funciones específicas y actividad enzimática, por ejemplo, β -1,3-glucanasa (PR-2), quitinasas (PR-3, PR-4, PR-8, PR-11) y una peroxidasa (PR-9), PR-10 es una ribonucleasa (Gozzo, 2003).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Se usaron semillas de jitomate silvestre “tinguaraque” (TGM-N) (JSilv). Adicionalmente, se incluyeron semillas del cv. Río grande (JRg) como referencia de susceptibilidad a los nematodos agalladores *Meloidogyne enterolobii*, *M. incognita*, y *N. aberrans*. Las semillas se desinfectaron superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio (1%, v/v) y se germinaron en una cámara húmeda bajo condiciones asépticas a $26\pm 1^\circ\text{C}$ con fotoperiodo de 14 h luz. Las plántulas de 10 días de edad se trasplantaron en macetas conteniendo 25 cc de arena estéril (una plántula por maceta). El riego se realizó cada 24 h con agua esterilizada, y la fertilización quincenalmente con una solución de Nitrofoska (12-12-17, 3.15 g por litro de agua).

3.2. Inoculación con nematodos agalladores

El inóculo de *M. enterolobii* (población Ahome, Sinaloa), *M. incognita* (población (Los Mochis, Sinaloa), y *N. aberrans* (población CP Campus Montecillo) procedió de raíces agalladas de jitomate cv. Río grande (cultivo monoxénico). La extracción de huevos se realizó según Hussey y Barker (1973), y los juveniles de segundo estadio (J2) se obtuvieron con la técnica de Baermann usando cajas Petri de vidrio e incubando los huevos en agua destilada estéril a $25\pm 1^\circ\text{C}$. Las plantas se inocularon cuando tuvieron veintiún días de edad, colocando una suspensión de 500 J2 en la base del tallo.

3.3. Experimentos

Se establecieron dos experimentos independientes (Exp 1 y Exp 2), cada uno de ellos se repitió una vez. El diseño experimental fue completamente al azar. El Exp 1 fue para determinar el tipo de interacción jitomate-nematodo agallador, y comprendió los tratamientos: 1) JSilv+*M. enterolobii*, 2) JSilv+*M. incognita*, 3) JSilv+*N. aberrans*, 4) JRg+*M. enterolobii*, 5) JRg+*M. incognita*, y 6) JRg+*N. aberrans* (cada uno con cinco repeticiones) Las variables evaluadas fueron número de nematodos en el interior de las raíces a los 2, 7 y 14 días posteriores a la inoculación (dpi), y a 60 dpi se registró el número de agallas y huevos por gramo de raíz.

Para contabilizar los nematodos, las raíces se tiñeron por el método hipoclorito de sodio-fucsina ácida (Byrd *et al.*, 1983), se registró el número de nematodos y el estadio correspondiente bajo un microscopio óptico 10x (Zeiss Primo Star, Germany). Para determinar el número de huevos, de cada raíz se realizó la extracción como se describió anteriormente, y se contabilizaron bajo un microscopio estereoscopio (Zeiss, Germany).

El Exp 2 fue para determinar los niveles de expresión génica en la interacción jitomate-nematodo agallador. Se evaluaron los tratamientos: 1) JSilv+*M. enterolobii*, 2) JSilv+*M. incognita*, 3) JSilv+*N. aberrans*, 4) JRg+*M. enterolobii*, 5) JRg+*M. incognita*, 6) JRg+*N. aberrans*, 7) JSilv sin inoculación, y 8) JRg sin inoculación (se usaron cinco repeticiones por tratamiento). El material vegetal se muestreó a 2, 7, y 14 dpi con el nematodo. Las raíces y follaje se congelaron con N₂ líquido y se almacenaron en ultracongelación hasta su uso. En este experimento, se incluyeron plantas adicionales inoculadas con cada nematodo para verificar la eficacia de la inoculación, realizando una tinción de raíces en los diferentes tiempos post-inoculación.

3.3.1. Expresión génica relativa de *PR-1*, *PR-2*, y *PR-5*. Inicialmente se realizó la extracción de RNA total de raíces ultracongeladas en los distintos tiempos de evaluación. La extracción se realizó usando el RNeasy® Plant mini kit (Qiagen), incluyendo una digestión con DNasa (Qiagen), todo el procedimiento fue de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La pureza e integridad del RNA se verificó por espectrofotometría (260 nm), y por electroforesis en gel de agarosa a 1% (TAE 1x) respectivamente. La retrotranscripción (síntesis de cDNA) se realizó a partir de RNA total usando oligo dT₁₂₋₁₈ (Invitrogen), dNTP Mix (Bioline), agua libre de nucleasas, y la enzima M-MLV reverse transcriptase (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los niveles de expresión génica (niveles de mRNA) se determinaron en un termociclador CFX Connect™ Real-Time PCR Detection (Bio-Rad). La mezcla de reacción fue en un volumen de 25 µL y consistió de 0.63 U de amplificasa (Biotecmol), 10 pM de cada oligonucleótido, SYBR® Green I (1:75000) (Molecular Probes™-Invitrogen™) como fluoróforo, 5 µL de cDNA, y agua libre de nucleasas. Los oligonucleótidos específicos se describen en el Cuadro 7. Las condiciones de amplificación fueron una desnaturalización inicial a 95° C por 3 min, seguido de 35 ciclos a 95° C por 15 s, alineamiento a 65° C por 35 s, y extensión a 72° C por 35 s. Para descartar la

formación de productos inespecíficos, se incluyó un análisis de disociación. Los niveles de expresión génica relativa se calcularon con el método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Schmittgen y Livak, 2008), usando como referencia interna el gen Actina para normalizar la expresión del gen de interés, y las plantas *Control* (sin inoculación) para calibrar su expresión.

Cuadro 5. Oligonucleótidos utilizados para el análisis de expresión génica

Gen	No. de acceso [†]	Secuencia (5'-----3')	Producto de PCR (pb)
<i>PR-1</i>	Y08804	Fw- GGATCGGACAACGTCCTTAC Rv- GCAACATCAAAAGGGAAATAAT	193
<i>PR-2</i>	NM001247229	Fw- AAGTATATAGCTGTTGGTAATGAA Rv- ATTCTCATCAAACATGGCGAA	606
<i>PR-5</i>	NM001247422	Fw- GCAACAACACTGTCCATACACC Rv- AGACTCCACCACAATCACC	192
<i>ACT</i>	BT013524	Fw- GCTTTGCCGCATGCCATTCT Rv- GATACCTGCAGCTTCCATACC	315

[†]NCBI (National Center for Biotechnology Information). *PR-1*: función desconocida; *PR-2*: β -1,3-glucanasa; *PR-3*: tipo taumatina; *ACT*: actina. Mollinari *et al.* (2014)

3.4. Análisis estadístico

Los datos de número de nematodos, agallas y huevecillos (previamente transformados a $\log_{10}(x + 1)$), así como los niveles de expresión génica relativa fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), y a un análisis de comparación de medias con el método de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el programa SAS versión 9.0 (SAS Institute Inc., 2002).

4. RESULTADOS

4.1. Invasión de raíces de jitomate por nematodos agalladores

El número de individuos de *M. enterolobii* en el jitomate silvestre a los 2 días post-inoculación (dpi), fue de 4.36 y los estadios que predominaron en las raíces fueron J2 (Figura 4A), lo cual fue menor, en comparación con el jitomate comercial (cv. Río grande) con 33.85, para este caso también abundaron los estadios J2 (Figura 4E). A 7 dpi se manifestó un incremento en el número de nematodos encontrados, en contraste al primer tiempo, siendo 23.42 en los tratamientos de jitomate silvestre; un valor reducido en comparación al comercial con 36.24. A los 14 dpi, el número de nematodos contabilizados en este tiempo de muestreo fue superior al segundo (34.78) en el jitomate silvestre, encontrando mayor número en el jitomate comercial (51.13) (Cuadro 6). Además de que también se encontraron hembras adultas y escasos estadios adultos (Figura 4). A los 7 dpi en jitomate silvestre abundaron los estadios J3 (Figura 4B) y a los 14 dpi los J4 (Figura 4C), en cambio en raíces de jitomate comercial a los 7 dpi predominaron los J3 (Figura 4F) y a los 14 dpi J4 y hembras (Figura 4G).

Cuadro 6. Número de nematodos en raíces de jitomate inoculadas con nematodos agalladores.

Tratamiento	Nematodos/g de raíz		
	2dpi	7dpi	14dpi
<i>JSilvNa</i>	31.36 (1.48±0.08 ^a)	24.02 (1.40±0.03 ^b)	9.74 (1.03±0.08 ^b)
<i>JRgNa</i>	23.65 (1.38±0.05 ^a)	26.06 (1.43±0.07 ^a)	16.79 (1.25±0.02 ^a)
<i>JSilvMe</i>	4.36 (0.73±0.01 ^b)	23.42 (1.39±0.02 ^a)	34.78 (1.54±0.14 ^b)
<i>JRgMe</i>	33.85 (1.52±0.07 ^a)	36.24 (1.56±0.10 ^a)	51.13 (1.72±0.01 ^a)
<i>JSilvMi</i>	57.17 (1.75±0.06 ^a)	48.67 (1.69±0.02 ^a)	28.49 (1.47±0.02 ^a)
<i>JRgMi</i>	63.52 (1.76±0.12 ^a)	43.51 (1.64±0.04 ^a)	15.45 (1.20±0.03 ^b)

JSilv: jitomate silvestre; JRg: cv. Río grande. Na: *N. aberrans*; Me: *M. enterolobii*; Mi: *M. incognita*. 2, 7, y 14: días post-inoculación con el nematodo. Los valores representan la media ± error estándar (n= 5). Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$). El ANOVA se realizó utilizando datos transformados [$\log_{10}(x + 1)$] y se muestran entre paréntesis.

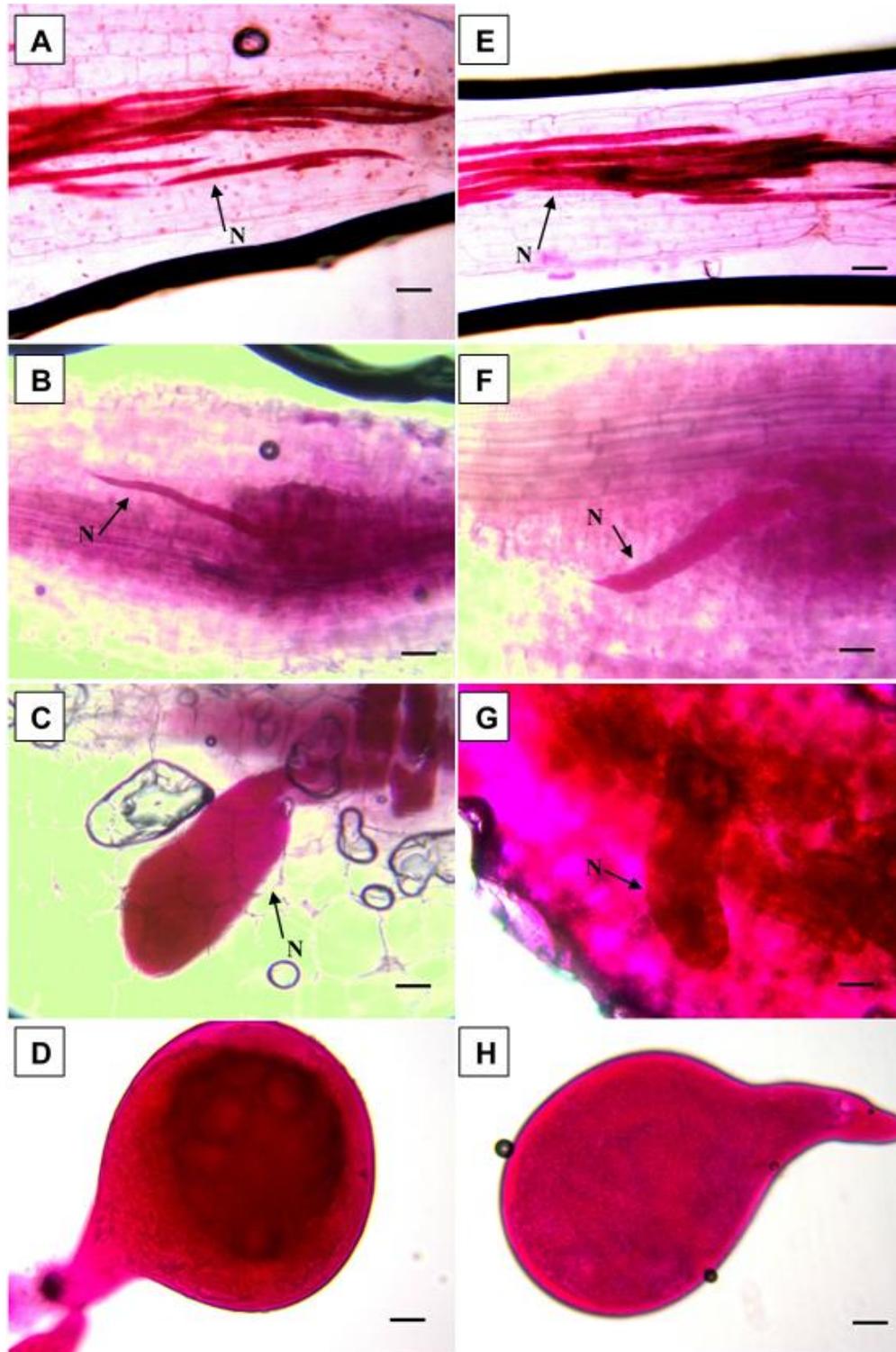


Figura 4. Desarrollo de *M. enterolobii* en raíces de jitomate silvestre (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) (A-D); cv. Río grande (E-H). A-E: 2 dpi; B-F: 7 dpi; C-G: 14 dpi; D-H: 60 dpi. N=nematodo. Raíces teñidas por el método hipoclorito de sodio-fucsina ácida (Byrd *et al.*, 1983). Barra de escala= 50 μ m.

En la interacción jitomate silvestre- *M. incognita*, a 2 dpi el número de individuos fue creciente y proporcional (57.17) observando la abundancia de los estadios a J2 (Figura 5A); en cuanto a la cantidad de nematodos en el genotipo comercial fue ligeramente superior al silvestre (63.52), donde los estadios encontrados fueron J2 (Figura 5E). A los 7 dpi, los juveniles de cuarto estadio pertenecientes a *M. incognita*, ya se evidenciaban en las raíces de jitomate silvestre (Figura 5B). En este caso el mayor número de nematodos se evidencio en el genotipo silvestre con 48.67 nematodos, mientras que para el comercial los valores fueron 43.51, cabe señalar que en este genotipo se encontraron J3 y J4) (Figura 5F). A 14 dpi, se presentó una disminución en el número de nematodos encontrados, en comparación al segundo tiempo de muestreo, en raíces de jitomate silvestre fue de 28.49, mientras que en el jitomate comercial fue de 15.45 (Cuadro 6). La presencia de abundantes J4 y escasas hembras inmaduras, se observaron en este tiempo de evaluación, en el jitomate silvestre (Figura 5C) y jitomate comercial (Figura 5G).

Por otro lado, los juveniles del segundo estadio de *Nacobbus aberrans* en raíces de jitomate silvestre (Figura 6A) y cv. Rio grande (Figura 6E), se encontraron a los 2 dpi y el número de nematodos fue de 23.65 para el jitomate silvestre menor al registrado en cv. Río grande 31.36 (Cuadro 6). A 7 dpi, en ambos genotipos el estadio predominante fue el J3, (Figura 6B silvestre y Figura 6F comercial), con un promedio de individuos de 24.02 en el jitomate silvestre, solo ligeramente inferior al número de nematodos encontrados en el genotipo comercial (26.06) (Cuadro 6). A 14 dpi, hubo una disminución del número de nematodos encontrados en contraste al segundo tiempo de muestreo, el estadio predominante fue el J4, con un numero de nematodos de 9.74 en el genotipo silvestre y de 16.79 nematodos hallados el genotipo comercial (Figura 6) (Cuadro 6). La anatomía del J4 en raíces de jitomate silvestre se muestra en la Figura 6C y la correspondiente al jitomate comercial corresponde a la Figura 6G.

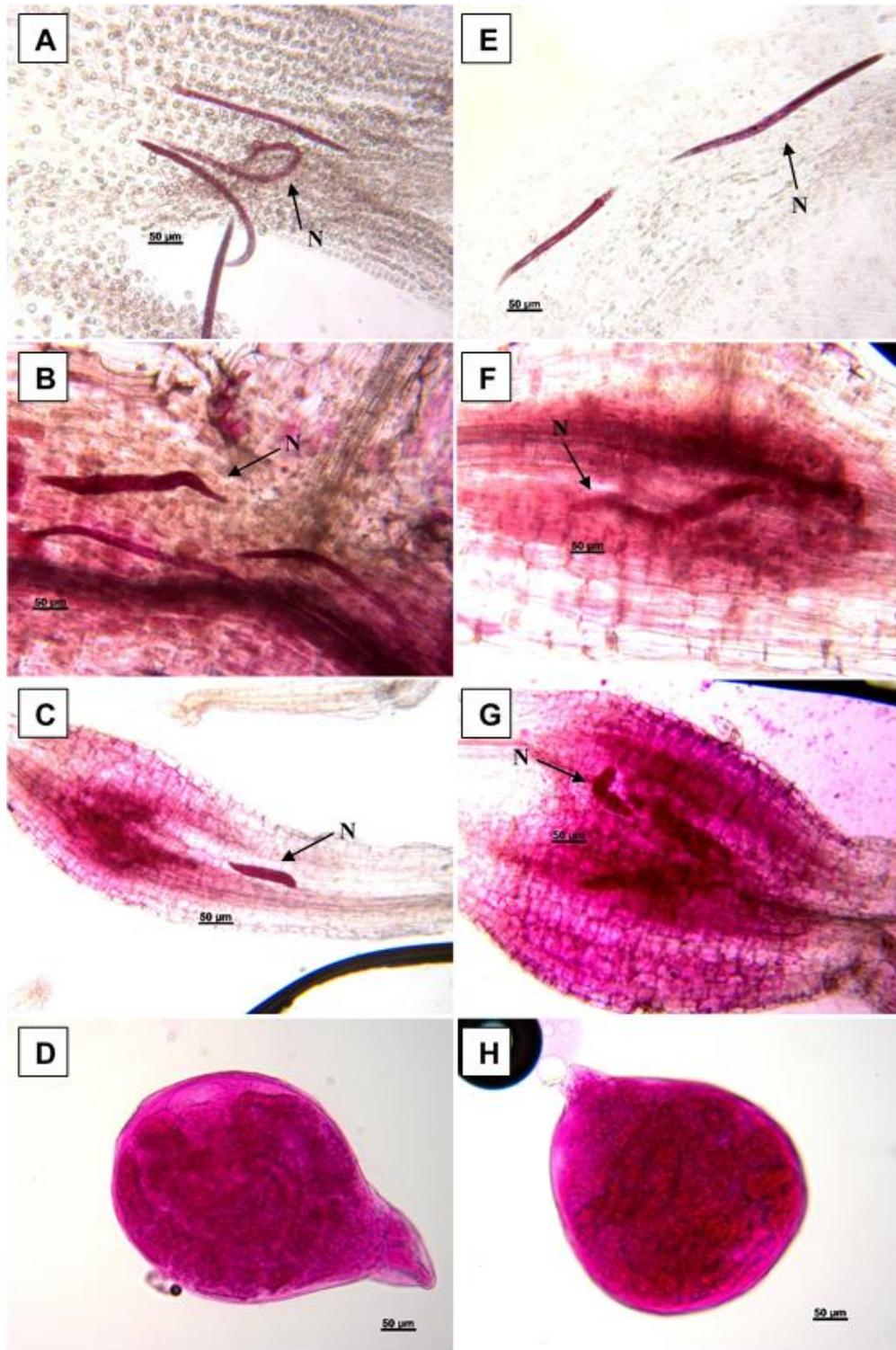


Figura 5. Desarrollo de *M. incognita* en raíces de jitomate silvestre (*S. lycopersicum* var. cerasiforme) (A-D); cv. Río grande (E-H). A-E: 2 dpi; B-F: 7 dpi; C-G: 14 dpi; D-H: 60 dpi. N=nematodo. Raíces teñidas por el método hipoclorito de sodio-fucsina ácida (Byrd *et al.*, 1983). Barra de escala= 50 µm.

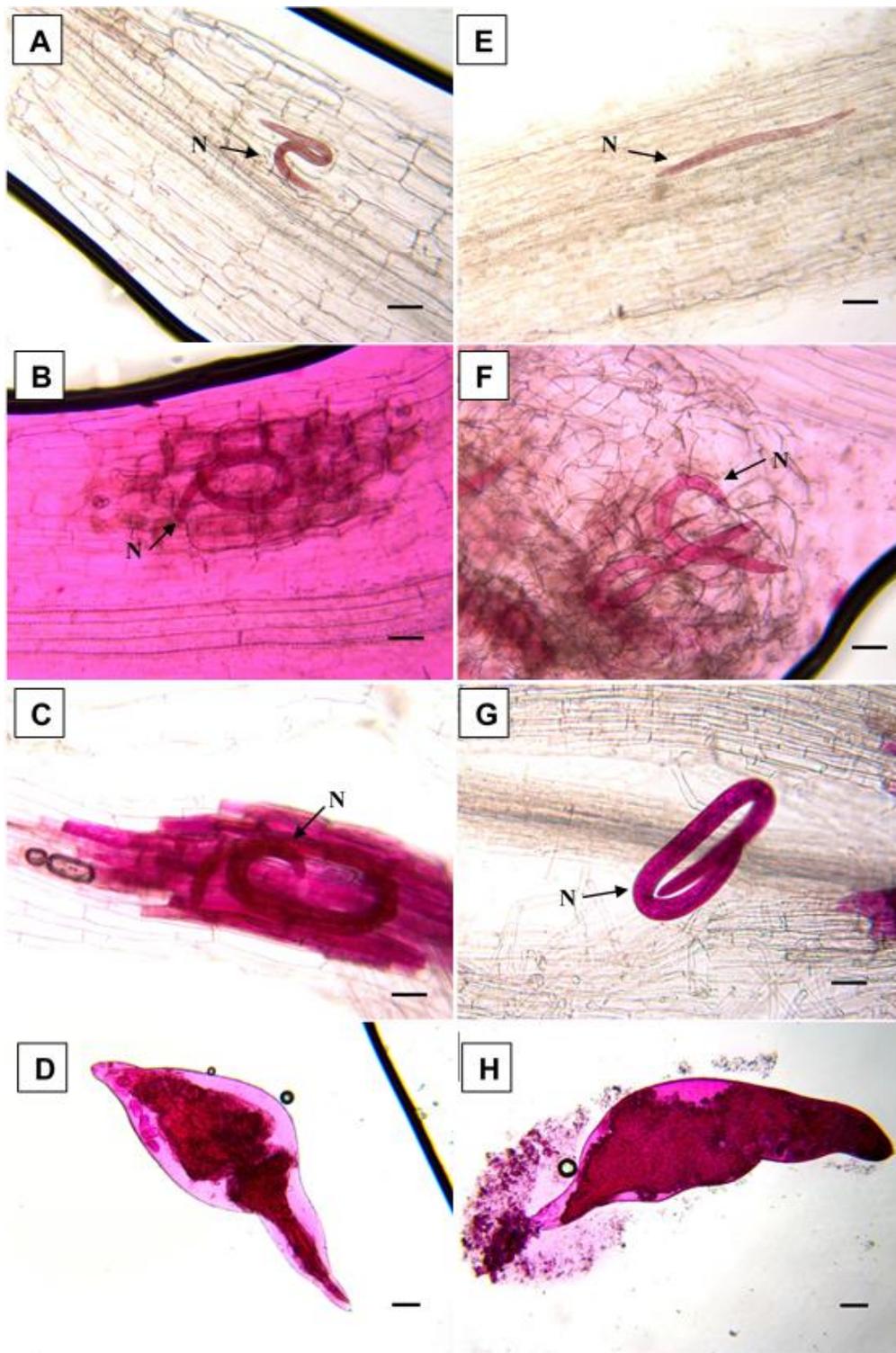


Figura 6. Desarrollo de *N. aberrans* en raíces de jitomate silvestre (*S. lycopersicum* var. cerasiforme) (A-D); cv. Río grande (E-H). A-E: 2 dpi; B-F: 7 dpi; C-G: 14 dpi; D-H: 60 dpi. N=nematodo. Raíces teñidas por el método hipoclorito de sodio-fucsina ácida (Byrd *et al.*, 1983). Barra de escala= 50 μ m.

4.2. Agallamiento y producción de huevos en raíces de jitomate infectadas con nematodos agalladores

El agallamiento inducido por *M. enterolobii* en raíces de jitomate silvestre y del cv. Río grande (comercial) fue marcado a los 60 dpi (Figura 7). En este caso para el genotipo silvestre el número de agallas por gramo de raíz fue de 30.92, mientras que el genotipo comercial fue de 51.59 (Cuadro 7) ($p < 0.05$). En cuanto a la hembra *M. enterolobii*, encontrada dentro de las raíces a los 60 dpi, se puede apreciar la anatomía típica que presenta en la Figura 4D correspondiente al jitomate silvestre y la Figura 4H al jitomate comercial. Con respecto a *M. incognita* en ambos genotipos fue evidente la sintomatología en las raíces (Figura 7). En el genotipo silvestre el número de agallas por gramo de raíz fue de 28.84 y para el comercial fue de 24.21 (Cuadro 7) ($p < 0.05$). Respecto a la morfología de la hembra de *M. incognita*, dentro de las raíces agalladas a los 60 dpi fue evidente en jitomate silvestre (Figura 5D) y en el comercial (Figura 5H). Para *N. aberrans* el agallamiento de raíces fue de tipo rosario, típico del nematodo, siendo 24.08 el número promedio de agallas por gramo de raíz correspondiente al genotipo silvestre y 28.29 para el comercial (Cuadro 7) (Figura 7). En cuanto a la hembra *N. aberrans*, que ocasiona el agallamiento radical se evidenció tanto en jitomate silvestre (Figura 6D), como en el comercial (Figura 6H) a los 60 dpi.

Cuadro 7. Agallamiento y huevos en raíces de jitomate a 60 dpi con nematodos agalladores.

Tratamiento	Agallas/g de raíz	Huevos/g de raíz
<i>JSilvNa</i>	24.08 (1.40±0.01 ^a)	4162.79 (3.61±0.03 ^a)
<i>JRgNa</i>	28.29 (1.46±0.03 ^a)	4445.55 (3.64±0.04 ^a)
<i>JSilvMe</i>	30.92 (1.50±0.02 ^b)	7873.62 (3.89±0.02 ^a)
<i>JRgMe</i>	51.59 (1.72±0.03 ^a)	7444.49 (3.87±0.03 ^a)
<i>JSilvMi</i>	28.84 (1.47±0.02 ^a)	7687.80 (3.88±0.02 ^b)
<i>JRgMi</i>	24.21 (1.40±0.02 ^b)	9926.78 (3.99±0.03 ^a)

JSilv: jitomate silvestre; JRg: cv. Río grande. Na: *N. aberrans*; Me: *M. enterolobii*; Mi: *M. incognita*. Los valores representan la media ± error estándar (n= 8). Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$). El ANOVA se realizó utilizando datos transformados [$\log_{10}(x + 1)$] y se muestran entre paréntesis.

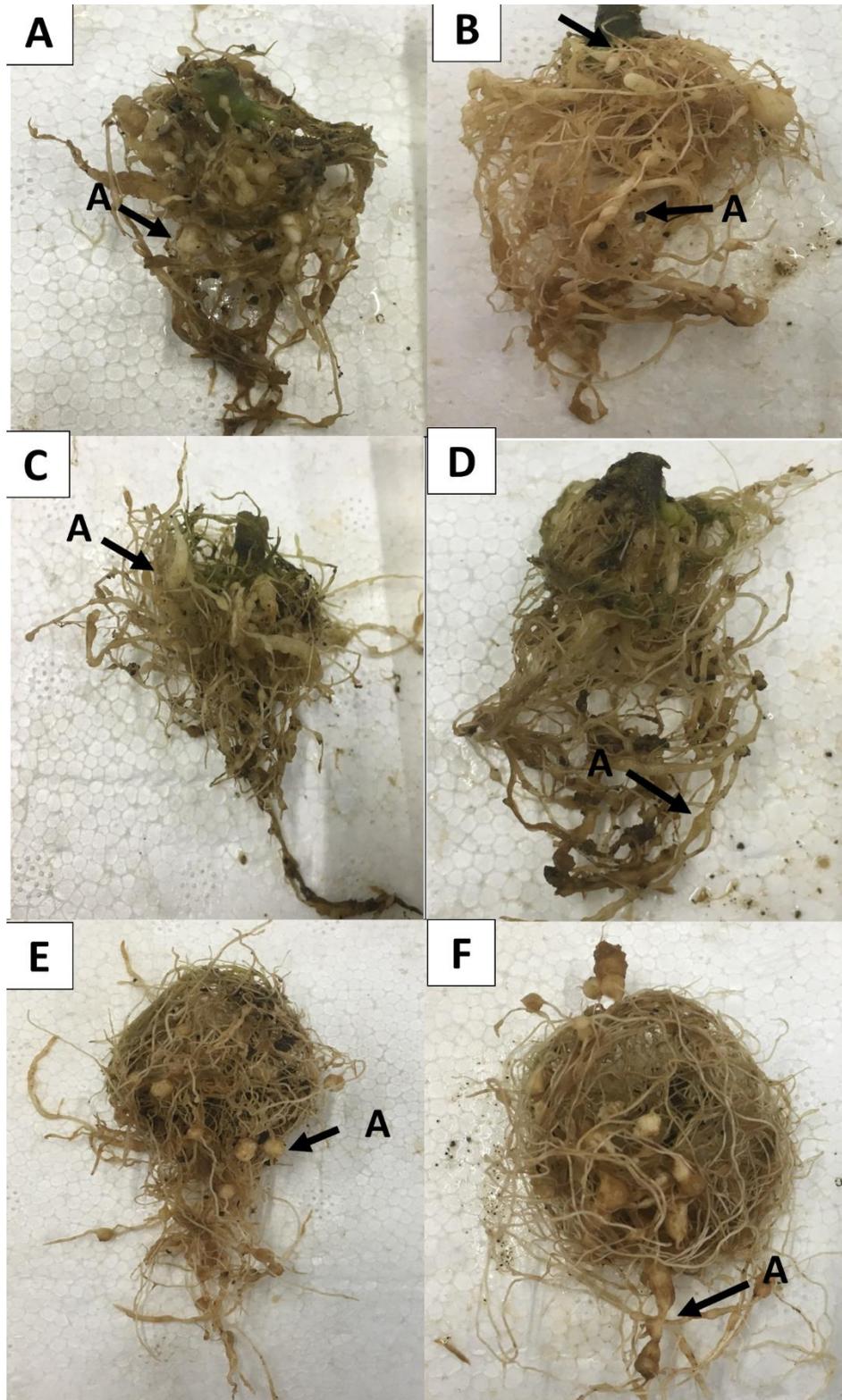


Figura 7. Agallamiento de raíces de jitomate silvestre (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) (B, D, F), y del cv. Río grande (A, C, E) a 60 dpi con *M. enterolobii* (A y B), *M. incognita* (C y D), y *N. aberrans* (E y F). A=agalla.

Con relación a la producción de huevos a 60 dpi, en raíces del jitomate silvestre el número de huevos de *M. incognita* fue 7687.80, y de 9926.78 para el comercial ($p<0.05$). En cambio, para *M. enterolobii*, el número fue de 7873.62 en el genotipo silvestre, y 7444.49 en el comercial. El genotipo silvestre inoculado con *N. aberrans* presentó 4162.79 huevos por gramo de raíz, mientras que para el comercial fue de 4445.55. Para los tratamientos con *M. enterolobii* y *N. aberrans* el número de huevecillos por raíz fueron estadísticamente similares en ambas líneas de jitomate (Cuadro 7).

4.3. Expresión génica relativa de PR-1, PR-2, y PR-5 en raíces de jitomate infectadas con nematodos agalladores

La expresión del gen *PR-1* fue diferencial en los tres diferentes tiempos de evaluación en ambos genotipos de jitomate infectados con los nematodos agalladores. En raíces de jitomate silvestre infectado por *M. enterolobii* (*JSilvMe*), el gen fue sobre-expresado a 2 dpi, y fue disminuyendo a los 7 y 14 dpi; lo opuesto fue registrado en el control susceptible cv. Rio grande (*JRgMe*) el cual exhibió altos niveles de transcritos en los últimos tiempos de evaluación ($p<0.05$) (**Figura 8A**). En plantas infectadas con *M. incognita*, la expresión de *PR-1* en el tratamiento *JSilvMi* fue creciente conforme transcurrió el tiempo, registrándose la mayor sobre-expresión a los 14 dpi; en contraste en el tratamiento *JRgMe*, la expresión fue tardía y únicamente a 7 dpi fue superior a *JSilvMi* ($p<0.05$); en ambos genotipos de jitomate este gen fue reprimido a 2 dpi, al presentarse valores inferiores a los del control (*JSilv* y *JRg* sin inoculación) (**Figura 8B**). Con respecto a aquellos tratamientos que involucraron a *N. aberrans*, los niveles de transcritos en el tratamiento *JSilvNa* fueron constantes a lo largo del tiempo y siempre fueron inferiores a los registrados en *JRgNa* ($p<0.05$), en este último tratamiento a 7 dpi fue donde se detectó la mayor sobre-expresión (**Figura 8C**).

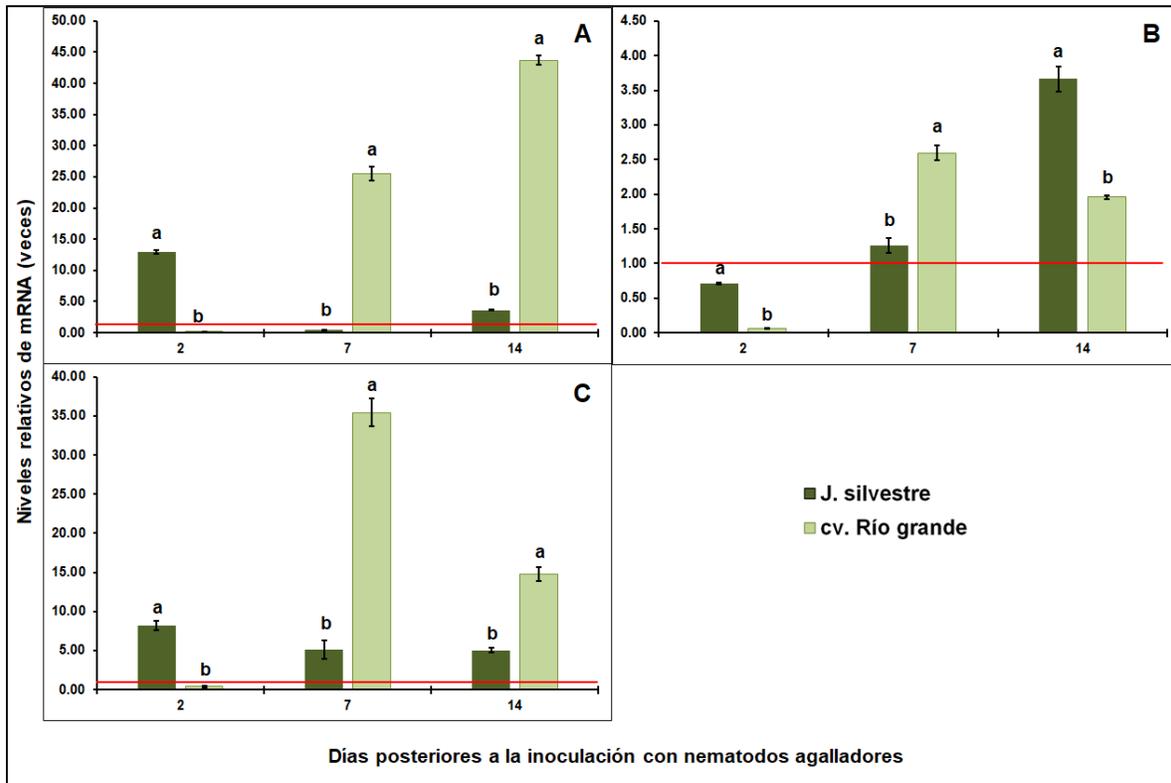


Figura 8. Niveles de expresión relativa del gen *PR-1* en raíces de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (jitomate silvestre) y *S. lycopersicum* (cv. Río grande) infectadas con *Meloidogyne enterolobii* (A), *M. incognita* (B), y *N. aberrans* (C). Valores por debajo de la línea roja indican represión génica, y arriba de la línea roja sobre-expresión. Cada barra representa la media de tres repeticiones y la línea en cada barra es el error estándar. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).

El gen *PR-2*, a los 2 y 7 dpi tuvo una sobreexpresión en plantas de jitomate silvestre inoculadas con *M. enterolobii*, en contraste con el jitomate comercial, donde únicamente tuvo una sobreexpresión inferior a los 2 dpi. A los 14 dpi en ambos genotipos la expresión del gen fue reducida (Figura 9A). En la interacción jitomate- *M. incognita*, a los 2 y 7 dpi el genotipo silvestre registró la mayor acumulación de transcritos en comparación con el genotipo comercial (Figura 9B). A 14 dpi solo se sobreexpresó ligeramente el gen *PR-2* en el genotipo silvestre. De tal forma que si hubo diferencias significativas entre ambas líneas de jitomate. En plantas de jitomate infectadas con *N. aberrans*, hubo incrementos en los niveles de transcritos de *PR-2* a 7 y 14 dpi con respecto al jitomate comercial (Figura 9C).

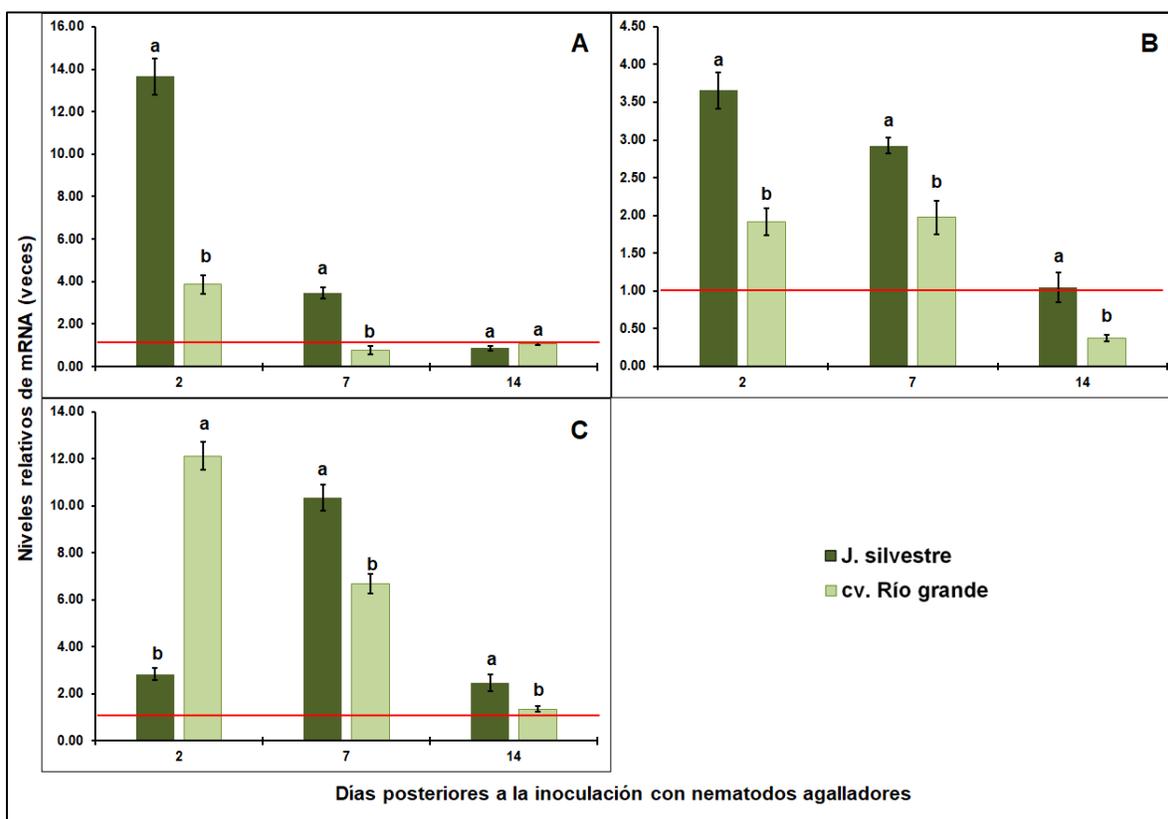


Figura 9. Niveles de expresión relativa del gen *PR-2* en raíces de *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (jitomate silvestre) y *S. lycopersicum* (cv. Río grande) infectadas con *Meloidogyne enterolobii* (A), *M. incognita* (B), y *Nacobbus aberrans* (C). Valores por debajo de la línea roja indican represión génica, y arriba de la línea roja sobre-expresión. Cada barra representa la media de tres repeticiones y la línea en cada barra es el error estándar. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).

Para el caso del gen *PR-5*, los niveles de sobreexpresión en la interacción jitomate-*M. enterolobii*, a los 2 dpi fue menor en el jitomate silvestre, en comparación con el comercial. Sin embargo, a los 7 dpi, dicho gen se manifestó mayormente en el genotipo silvestre, mientras que a los 14 dpi solo se sobreexpresó en el genotipo silvestre (Figura 10A). En el caso de *M. incognita* en las plantas de jitomate, el genotipo silvestre mantuvo la transcripción constante del gen *PR-5* a los 7 y 14 dpi, solo a los 2 dpi, en el genotipo silvestre el gen fue reprimido, mientras que para el jitomate comercial la represión de dicho gen fue a los 14 dpi (Figura 10B). Finalmente, en la interacción de jitomate con *N. aberrans*, a los 2, 7 y 14 dpi en el jitomate comercial se detectó la mayor expresión del gen, lo contrario fue registrado en el jitomate silvestre (Figura 10C).

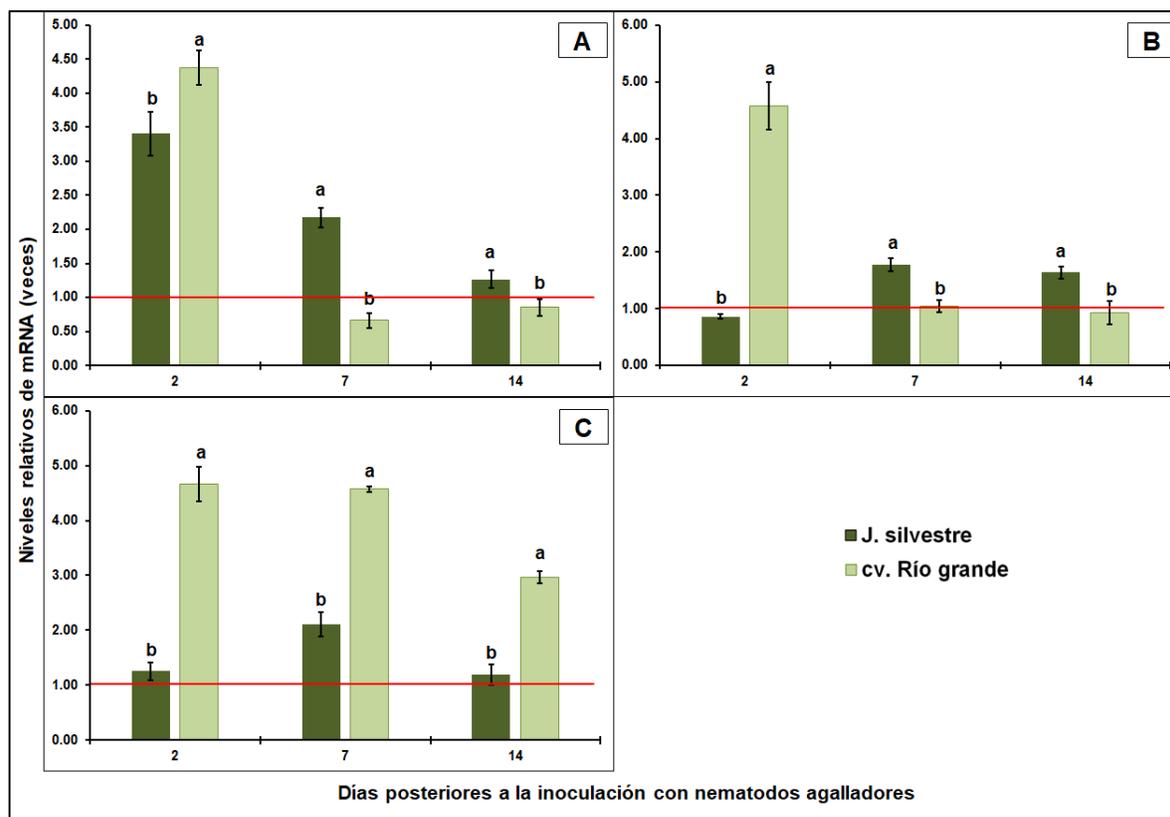


Figura 10. Niveles de expresión relativa del gen *PR-5* en raíces de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (jitomate silvestre) y *S. lycopersicum* (cv. Río grande) infectadas con *Meloidogyne enterolobii* (A), *M. incognita* (B), y *Nacobbus aberrans* (C). Valores por debajo de la línea roja indican represión génica, y arriba de la línea roja sobre-expresión. Cada barra representa la media de tres repeticiones y la línea en cada barra es el error estándar. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).

5. DISCUSIÓN

Los nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp y *Nacobbus aberrans*) son los parásitos más agresivos para las plantas cultivables, ya que transforman el tejido radical, formando un suministro de nutrientes que altera el desarrollo vegetal; limitando de esta forma la producción de cultivos en todo el mundo (Shurtleff y Averre, 2000; Manzanilla-López *et al.* 2002; Manzanilla-López, 2010). Actualmente con la disminución en el uso o la prohibición de muchos productos químicos debido a los impactos ambientales adversos, es de suma importancia explorar estrategias como la resistencia genética a estos fitoparásitos (Moens *et al.* 2009). La resistencia genética sigue siendo una de las estrategias clave y más promisorias para el control de nematodos agalladores (Evans *et al.*, 1994; Blancard, 2012). En jitoamte, usualmente esta resistencia proviene de la especie silvestre *Solanum peruvianum*; característica conferida por el gen dominante "Mi" (*Mi-1*). En el presente trabajo se evaluó la respuesta de un genotipo local de jitomate silvestre (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) a la infección con *M. enterolobii*, *M. incognita* y *N. aberrans*.

M. enterolobii invadió con éxito las raíces tanto del jitomate silvestre como del cv. Río grande. El número de individuos en los tres tiempos de evaluación fue creciente. Esto se asocia a lo descrito en la literatura, se genera un incremento en el número de nematodos encontrados, coincidiendo con lo reportado por El-sherif *et al.*, (2007), Crozzoli, (2010) y Sangronis *et al.* (2013). Esto se debe a que las condiciones son idóneas para el desarrollo del nematodo, además que se ha relacionado con la susceptibilidad de la planta hospedante (Ehwaeti *et al.*, 1998). Se ha visto que esta especie de nematodo es muy agresiva, ya que en una evaluación con un nivel de inóculo de 500 J2 de *M. enterolobii* y *M. javanica* en un conjunto de portainjertos con el gen *Mi-1* respectivamente se encontró que *M. javanica* no pudo completar su ciclo de vida, mientras que el desarrollo de *M. enterolobii* no se vio afectado por las hembras que pusieron una cantidad abundante de huevos, 24 días después de la inoculación, rompiendo dicha barrera de resistencia (Cantu *et al.*, 2009). En cuanto a la morfología de *M. enterolobii* observada en este trabajo, se asemeja con la ya documentada (Yang y Eisenback, 1983; Karssen *et al.*, 2012). Los juveniles de segundo estadio fueron vermiformes, alargados, afilado en ambos extremos con cola muy larga y estrecha. Por otro lado, la hembra adulta de este género, presenta una anatomía parecida a la de una pera a

globular, el tamaño es variable, con cuello prominente de tamaño variable, sin protuberancia posterior (Karssen *et al.*, 2012). Las raíces de ambos genotipos de jitomate también fueron invadidas por *M. incognita*, el desarrollo del nematodo fue evidente detectándose todos los estadios. Este nematodo presentó las características típicas descritas originalmente por Eisenback y Triantaphyllou (1991); y Hirschmann (1986); detallando la longitud y morfología de estas poblaciones en los juveniles de segundo estadio, son alargados y la punta de la cola tiene un aspecto redondo y puntiagudo, siendo el extremo de la cola bien definido (Handoo *et al.*, 2005; Dos Santos *et al.*, 2012).

Las raíces de ambos genotipos de jitomate también fueron invadidas por *N. aberrans*, detectándose todos los estadios. Los estadios se compararon con las características que describen Manzanilla-López *et al.* (2002), notándose que los J2 fueron vermiformes, los juveniles de cuarto estadio J4 presentaron la forma de “C”, mientras que la hembra adulta fue en forma de saco. En las raíces de jitomate silvestre el número de individuos fue mayor en el primer tiempo de muestreo (2dpi), en contraste al comercial; en cambio a los 7 y 14 dpi, fue inferior la cantidad de nematodos hallados en el genotipo silvestre en comparación al jitomate comercial. Lo anterior es similar a lo reportado por Inserra *et al.*, (1984), donde la población final de *N. aberrans* fue inferior a la población inicial. Cabrera, *et al.* (2016), evaluaron la respuesta de los cultivares de tomate a la infección con *N. aberrans* agregando un nivel de inóculo de 100 J2, evidenciando así el desarrollo del patógeno. Cabe destacar que el nematodo *N. aberrans*, tiene la capacidad de endoparásito migratorio y sedentario (Manzanilla-López *et al.* 2002).

En cuanto a la presencia de agallas y huevecillos, en todos los tratamientos evaluados fue abundante. En ambos genotipos de jitomate, el agallamiento inducido por *M. incognita* fue similar al descrito en la literatura, presentado raíces con agallas prominentes (Dropkin, 1989). Para *M. enterolobii*, el agallamiento fue más notorio en el genotipo silvestre, mientras que en el comercial fue reducido. *M. enterolobii*, induce agallas típicas en las raíces de las plantas infestadas, donde en ataques severos, se pueden encontrar agallas extremadamente grandes y numerosas (Cetintas *et al.*, 2007); en los tratamientos evaluados con este nematodo los resultados fueron concordantes. En general el agallamiento por *Meloidogyne* ha sido descrito en la literatura como cuentas de un collar, evidente de un exitoso desarrollo dentro de un

hospedante idóneo (Abad *et al.*, 2009; Moens *et al.*, 2009; Nicol *et al.*, 2011; Hernández-Ochandía *et al.*, 2012). Un estudio de Warmerdam *et al.*, (2018) encontraron que a las seis semanas después de la inoculación, el número promedio de masas de huevos de *M. incognita* en *Arabidopsis* osciló entre cinco y 45 por planta, haciéndolo ver como susceptible. Por el contrario, se ha visto que en plantas de chile infectadas con *M. incognita*, el nematodo no indujo agallas en la raíz, y no se observó formación de masa de huevecillos en el cv. 'Charleston Belle', mientras que *M. mayaguensis* (= *M. enterolobii*) produjo agallas visibles, y numerosas masas de huevecillos en 'Charleston Belle', demostrando su agresividad y capacidad de superar las barreras de defensa de la planta hospedante ((Brito *et al.*, 2007); esto último se relaciona con lo observado de esta investigación.

N. aberrans también completó su ciclo de vida en raíces de jitomate silvestre. Esto concuerda con lo reportado por Cazares-Alvarez *et al.* (2019) donde cinco poblaciones locales de tinguaraque resultaron susceptibles a este nematodo. La presencia de hembras adultas y masas de huevecillos fue notable, se sabe que el ciclo de vida difiere al de *Meloidogyne* spp. siendo que los J2, al ingresar a la raíz tiene la peculiaridad de migrar intracelularmente, deteniéndose solo en el estadio de hembra inmadura, para comenzar a establecer el sitio de alimentación (sincitios), volviéndose sedentario, para producir huevecillos en la matriz gelatinosa y dar inicio a una nueva generación (Manzanilla-López *et al.*, 2002; Eves-van den Akker *et al.*, 2014). En las raíces infectadas de jitomate en ambos genotipos con *N. aberrans* mostraron las típicas agallas tipo rosario, además de masas de huevecillos. No se observaron sitios de alimentación asociados en los estadios J3 y J4, ya que probablemente no se alimentan, lo anterior se relación con lo reportado por Vovlas *et al.*, (2007), Williamson y Roberts (2009) y Lax *et al.*, (2014). Cabrera, *et al.* (2016), evaluaron cultivares de jitomate confrontados con *N. aberrans* y a los 90 dpi eran evidentes las denominadas agallas y las masas de huevecillos, siendo susceptibles al completar su ciclo de vida.

La susceptibilidad y resistencia a nematodos, está determinada por la formación de agallas y la producción de masas de huevecillos, por ejemplo, se han examinado diferentes especies de jitomate infectadas con *M. incognita*, donde las resistentes no presentaban irritación en las raíces ni producción de masas de huevecillos, indicando un alto grado de

resistencia. Sin embargo, en otras variedades de jitomate, solo se observaron algunas agallas sin masas de huevos, atribuyendo el termino de moderadamente resistente, en cambio en aquellas plantas con elevado número de agallas y masas de huevos fueron susceptibles (Sakhuja *et al.*, 1991) Caso similar ha ocurrido en plantas de jitomate inoculadas con *Meloidogyne* (Talavera *et al.*, 2009; Dejene y Abrar, 2015). Los resultados obtenidos del experimento de infección, con respecto al desarrollo de NAGs en raíces de jitomate silvestre y de cv. Río grande, indicaron que los nematodos evaluados en este trabajo, concluyeron exitosamente su ciclo de vida, ya que se hallaron hembras adultas y masas de huevecillos a los 60 dpi. Con el nematodo *N. aberrans*, también se ha observado el mismo comportamiento, sobre todo en plantas portadoras del gen de resistencia *Mi-1*, de tal forma que sobrepasa las barras de resistencia mostrando los signos de agallamiento y la producción de huevos; se ha demostrado que este gen es inefectivo para *N. aberrans* y *M. enterolobii* (Veremis *et al.*, 1997; Cabrera *et al.*, 2019). Los NAGs evaluados en el presente estudio se caracterizan por ser agresivos con sus hospedantes susceptibles, en el caso de *Meloidogyne*, se sabe que el comienzo para el ciclo de vida, consiste en la infectividad de los J2s para ingresar a la raíz de la planta huésped, de tal manera que establecen su sitio de alimentación al interior de los tejidos meristemáticos, generando la formación de células gigantes; los J2 al ser sedentarios sufren de tres mudas para ser adultos (Ibrahim y El-Saedy, 1987). Las hembras adultas generan abundantes masas de huevecillos en una matriz gelatinosa, mientras que los machos salen de la raíz.

Los nematodos agalladores han evolucionado para mantener una relación muy compleja con sus hospedantes induciendo la formación de sitios de alimentación que aseguren su supervivencia (Abad *et al.*, 2003). El desarrollo de estos sitios está asociado con la capacidad del nematodo para manipular la maquinaria transcripcional de la planta hospedante; tal es el caso de *Arabidopsis* donde la supresión del gen *miR396*, favorece el desarrollo del nematodo, para alcanzar todos los estadios y la etapa adulta, con la formación de sincitios de alimentación (Hewezi *et al.* 2008; Hewezi *et al.* 2012). En nuestros resultados, en plantas infectadas por *M. enterolobii* los máximos niveles de transcritos de *PR-1* se registraron en el genotipo comercial, ya que el genotipo silvestre solo se expresó a los 2 dpi, decreciendo a los 7 y 14 dpi, mientras que el comercial en un inicio se mantuvo reprimido el gen (2dpi), y constante a los 7 y 14 dpi. Cabe señalar que, a los 2 dpi, es el tiempo donde el número de

nematodos encontrados en el *JSilvMe*, fue muy bajo, en cambio fue mayor en número de nematodos encontrados en el *JRgMe*. En la interacción de jitomate con *M. incognita* el máximo nivel de expresión de *PR-1* se registró en el genotipo silvestre a los 14 dpi; cabe señalar que en un inicio ningún genotipo tuvo expresión relevante del gen (regulación negativa), pero a los 7 y 14 dpi, se sobreexpresaron. A los 14 dpi, el número de nematodos encontrados, se redujo notablemente, en el caso del genotipo comercial; lo opuesto ocurrió en el silvestre. En el caso de la interacción con *Nacobbus aberrans* los transcritos del gen *PR-1* fueron a los 2dpi mayores en el genotipo silvestre, reprimiendo el gen en el genotipo comercial, sin embargo, a los 7 y 14 dpi, el genotipo comercial elevó la cantidad de transcritos del gen *PR-1*. El número de nematodos fue muy bajo en el caso del jitomate silvestre a los 7 y 14 dpi. La sobreexpresión de *PR-1* se relaciona con la activación de la resistencia sistémica adquirida (RSA) dependiente de ácido salicílico (AS), siendo evidente para estos resultados (Molinari *et al.*, 2014). Hamamouch *et al.* (2011), relacionan que la sobreexpresión del gen *PR-1*, en plantas de *A. thaliana* infectadas con *M. incognita*, disminuye la susceptibilidad al nematodo, donde además encontraron una sobreexpresión tardía a los 8 y 9 dpi, caso similar a lo ocurrido en el presente estudio. Kyndt, (2012), también observó un aumento de los niveles de expresión génica *PR-1* y *PR-10* después de la baja regulación inicial en arroz durante la infección por *M. graminícola*. Xie *et al.* (2016), lo relacionan con las vías de señalización de AS lo cual podría ser manipuladas por el efector Misp12, que inyectan los nematodos en las células de la raíz para soportar el parasitismo de nematodos en las últimas etapas. También se ha encontrado que la falta de inducción del gen *PR-1* se debe a que el patógeno inhibió los procesos de defensa de la planta hospedante estableciendo una interacción del tipo compatible (Sanz-Alfárez *et al.*, 2007). Estudios recientes se han centrado en la expresión génica en raíces de jitomates resistentes y susceptibles a *Globodera rostochiensis* que el AS puede inducir *PR-1* en los cultivares resistentes, mientras que cultivares susceptibles no mostraron el mismo nivel de regulación positiva del gen (Uehara *et al.*, 2010). Se ha visto que en plantas de *Arabidopsis*, las respuestas de defensa dependientes de AS desencadenadas por la infección en este caso del virus CaMV, pueden ser ineficaces para restringir la multiplicación y propagación del virus. Al haber transcripción del gen *PR-1* en las interacciones planta-patógeno, se hace evidente la participación de RSA, mediada por AS (Cameron, 2000; Mukhtar *et al.*, 2009).

En un estudio se evaluó la capacidad de infección de los nematodos *M. incognita* y *H. schachtii* en *Arabidopsis*, monitoreando la vía de señalización del AS, para lo cual se evaluó la expresión de los genes *PR-2*, *PR-3* y *PR-5*, peculiarmente el gen *PR-2* respondió en las plantas infectadas por los nematodos, generando altos niveles de transcripción, esto se le atribuye a la diferencia en el nivel de infectividad y/o a los diferentes mecanismos de parasitismo, en este trabajo concluyeron que *M. incognita* activó RSA dependiente de AS y AJ en las raíces (Davis *et al.*, 2008; Hamamouch *et al.*, 2011). Estos resultados concuerdan con las sobre-expresiones detectadas en ambos genotipos de jitomate infectados con *M. enterolobii*, *M. incognita* y *N. aberrans*. Las proteínas codificadas por los genes *PR-2* y *PR-3* - quitinasas y *PR-1* son importantes en la patogénesis, ya que estas enzimas destruyen las paredes celulares de los fitopatógenos (especialmente en combinación) y también participan en la formación de oligosacarinas que regulan las respuestas inmunes de las plantas. El gen *PR-2* codifica para la enzima β - glucanasa; a la cual se le atribuyen a degradar paredes celulares de los patógenos; lo cual se puede relacionar con una tasa de disminución de nematodos al paso del tiempo (Dzhavakhiya *et al.*, 2007; Zinovieva *et al.*, 2017).

El producto del gen *PR-5* presenta una función similar a la taumatina; se ha visto que tiene la peculiaridad de ser estable bajo condiciones de estrés osmótico, de tal forma que puede inhibir las enzimas digestivas del patógeno (Dzhavakhiya *et al.*, 2007). En la evaluación del gen *PR-5* en el presente estudio, mostro a los 2 dpi en el genotipo comercial un elevado nivel de expresión, lo opuesto en el silvestre; en relación al número de nematodos por gramo de raíz fue menor en el genotipo silvestre. A los 7 y 14 dpi fue el genotipo silvestre el cual tuvo índices altos de expresión, en la interacción con el nematodo *M. enterolobii*, ya que se mantienen los transcritos del gen hasta el último día de evaluación, algo similar ocurrió en la interacción con el nematodo *M. incognita* el genotipo silvestre presento un elevado nivel de expresión a los 7 y 14 dpi, de tal forma que se incrementó el transcrito del gen *PR-5*, mientras que en el caso del genotipo comercial dicho gen tuvo una regulación negativa. Finalmente, *N. aberrans* indujo un nivel de transcrito mayor y constante en todos los tiempos de evaluación en el jitomate comercial, sin embargo, el jitomate silvestre presento un menor número de J3 y J4 a los 7 y 14 dpi. En estudios moleculares más puntuales en plantas de jitomate se ha destacado que la expresión de *PR-5* también se induce a una temprana

infección, aunque a niveles más bajos en las raíces (Molinari *et al.*, 2014). Se ha visto que después de la infección, *G. rostochiensis* y *G. pallida* la cantidad de transcripciones de *PR-5* aumentó ligeramente en un grado similar en todas las líneas de papa evaluadas (Sobczak *et al.*, 2005). Przybylska y Obrępańska, (2018) observaron que la respuesta de *M. arenaria* en plantas de maíz presento niveles de expresión altos y constantes de los genes que codifican las proteínas PR (*PR-1*, *PR-3*, *PR-4*, *PR-5*, *PR-10*) en cultivares resistentes en todos los tiempos. Además, descubrieron que la mayoría de los genes que codifican las proteínas PR a tiempos tempranos la defensa de la planta se ve comprometida más tarde en las células vegetales infectadas. Cabe señalar que los genes *PR-1* y *PR-5* para la vía AS, se regulaban negativamente a las 24 hpi, en plantas tolerantes. El hecho de que en algunos casos la supresión de defensa de la planta esta mediada por la capacidad del patogeno para establecerse exitosamente dentro de la planta hospedante se da particularmente en los primeros días de infección, por ejemplo, el nematodo *M. incognita* inoculado en *A. thaliana*, a los 5 y 14 dpi, apago la vía de AS y AJ (Hamamouch *et al.*, 2011).

6. CONCLUSIONES

Los nematodos agalladores *M. enterolobii*, *M. incognita* y *N. aberrans* completaron su ciclo de vida en raíces del jitomate silvestre (TGM-N) (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) al igual que en el cv. Rio grande; siendo evidente la presencia de hembras adultas, formación de agallas y producción de huevos. Por tanto, los tres nematodos establecieron una interacción de tipo compatible con este genotipo silvestre.

M. enterolobii, *M. incognita* y *N. aberrans* modificaron los patrones de expresión de los genes *PR-1*, *PR-2*, y *PR-5* (marcadores de la resistencia sistémica adquirida dependiente de ácido salicílico) en raíces de ambos genotipos de jitomate (TGM-N y cv. Rio grande). Los cambios en los niveles de expresión génica sugieren que estos nematodos estimulan o reprimen la resistencia sistémica adquirida (RSA) dependiente de AS en raíces del jitomate silvestre. Sin embargo, la estimulación de la RSA no tuvo significancia biológica sobre los nematodos, pues no se evitó su establecimiento y reproducción.

7. LITERATURA CITADA

Abad, P, Castagnone-Sereno P, Rosso MN, Engler JA, Favery B. (2009). Invasion, Feeding and Development. Pp. 163-181. En Root-knot Nematodes. Moens M, RN Perry, JL Starr (Eds). CAB International.

Abad, P, Favery B, Rosso MN, Castagnone-Sereno P, 2003. Parasitismo y respuesta del huésped del nematodo del nudo de la raíz: base molecular de una interacción sofisticada. *Patología Molecular de Plantas*, 4 (4): 217-224.

Abawi, S, G., Ludwig J.W, Gugino, B, K, (2008). “Diagnosis, biology, and management of root-knot and lesion nematodes on potato” del Dept. of Plant Pathology and Plant-Microbe Biology, NYSAES, Cornell University, Geneva, NY.

Al-Idrus, A, Carpentier, S, C, Ahmad, M, T, Panis, B, Mohamed, Z, (2017). Elucidation of the compatible interaction between banana and *Meloidogyne incognita* via high-throughput proteome profiling. *PloS one*, 12(6): 0178438.

Alkan, N, Friedlander, G, Ment, D, Prusky, D, Fluhr, R. (2015). Simultaneous transcriptome analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* and tomato fruit pathosystem reveals novel fungal pathogenicity and fruit defense strategies. *New Phytologist*, 205(2): 801-815.

Atamian, HS, Eulgem T, Kaloshian I (2012). SIWRKY70 is required for Mi-1-mediated resistance to aphids and nematodes in tomato. *Planta*, 235:299–309

Bai, Y. P. Lindhout (2007). Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? *Annals of Botany* 100:1085-1094.

Barbary, A, Djian-Caporalino, C, Palloix, A, Castagnone-Sereno, P, (2015). Host genetic resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in Solanaceae: from genes to the field. *Pest Management Science*, 71(12): 1591–1598.

Barcala, M, García, A, Cabrera, J, Casson, S, Lindsey, K, Favery, B, Escobar, C, (2010). Early transcriptomic events in microdissected *Arabidopsis* nematode-induced giant cells. *The Plant Journal*, 61(4): 698-712.

Bar-Or, C, Kapulnik, Y, and Koltai, H, (2005). A broad characterization of the transcriptional profile of the compatible tomato response to the plant parasitic root knot nematode *Meloidogyne javanica*. *European Journal of Plant Pathology*, 111(2): 181.

Bauchet, G, Causse, M, (2012). Genetic diversity in tomato (*Solanum lycopersicum*) and its wild relatives.

Bergougnoux V. (2014) The history of tomato: from domestication to biopharming. *Biotechnology Advances* 32:170-189.

Bergougnoux V. (2014). The history of tomato: from domestication to biopharming. *Biotechnology Advances*, 32:170-189.

Beris, D, Theologidis, I, Skandalis, N, Vassilakos, N, (2018). *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI600 induces salicylic acid dependent resistance in tomato plants against Tomato spotted wilt virus and Potato virus Y. *Scientific reports*, 8(1): 10320.

Blanca J, Cañizares J, Cordero L, Pascual L, Díez MJ, Nuez F, (2017). Variation revealed by SNP genotyping and morphology provides insight into the origin of the tomato. *PLoS One*, 2012;7: e48198. doi: 10.1371/journal.pone.0048198

Blanca, J, Montero-Pau, J, Sauvage, C, Bauchet, G, Illa, E, Díez, M. J. y Cañizares, J. (2015). Genomic variation in tomato, from wild ancestors to contemporary breeding accessions. *BMC genomics*, 16(1): 257.

Blancard, D. (2012). Tomato diseases: identification, biology and control: A Colour Handbook. CRC Press. 637-640.

Blok, V, C, Jones, J, T, Phillips, M, S, Trudgill, D, L, (2008). Parasitism genes and host range disparities in biotrophic nematodes: the conundrum of polyphagy versus specialisation. *BioEssays*, 30: 249–259.

Bridhe J, Starr J.L, (2007). Plant nematodes of agricultural importance: a colour handbook. *Manson Publishing Ltd*, 152 p.

Brito, J, A, Stanley, J, D, Kaur, R, Cetintas, R., Di Vito, M, Thies, J, A, Dickson, D, W, (2007). Effects of the *Mi-1*, *N* and *Tabasco* genes on infection and reproduction of

Meloidogyne mayaguensis on tomato and pepper genotypes. *Journal of nematology*, 39(4): 327.

Byrd Jr, D, W, T, Kirkpatrick, K, R, Barker (1983). An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology*, (15):142.

C, H, Foyer, G, Noctor, (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses, *Plant Cell*, 17 1866e1875.

Cabrera, V, A, Dottori, N, Doucet, M, E, (2016). Histopathology of roots of three tomato cultivars infected with two separate isolates of the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *European Journal of Plant Pathology*, 148(2): 393–403. doi:10.1007/s10658-016-1097-1

Cabrera, V, A, Dottori, N, Doucet, M, E, (2019). Influence of two *Nacobbus aberrans* isolates from argentina on the growth of three tomato cultivars. *Nematropica*, 49(1): 42-48.

Cabrera-Hidalgo, A, D, J, Marbán-Mendoza, N, Valdovinos-Ponce, G, y Valadez-Moctezuma, E, (2016). Genetic variability and phylogenetic analyses of *Nacobbus aberrans* sensu lato populations by molecular markers. *Nematropica* 45(2): 263-278.

Caillaud, M, C, Dubreuil, G, Quentin, M, Perfus-Barbeoch, L, Lecomte, P, de Almeida Engler, J, Abad, P, Rosso, M.N, Favery, B, (2008). Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of Plant Physiology*, 165: 104-113.

Caillaud, M. C, Dubreuil, G, Quentin, M., Perfus-Barbeoch, L, Lecomte, P, de Almeida Engler, J, Favery, B, (2008). Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of plant physiology*, 165(1): 104-113.

Cameron, R, K, (2000). Salicylic acid and its role in plant defense responses: what do we really know?. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 56(3): 91-94.

Cantu, Rr; Wilcken, Srs; Rosa, Jmo, Goto, R. (2009). Reação de porta-enxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. *Summa Phytopathologica* 35: 216-218.

Castagnone-Sereno P, (2012). *Meloidogyne enterolobii* (=M. mayaguensis): profile of an emerging, highly pathogenic, root-knot nematode species. *Nematology*, 14(2):133-138.

Castagnone-Sereno, P., Danchin, E. G., Perfus-Barbeoch, L., Abad, P. (2013). Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*: new insights from the genomic era. *Annual review of phytopathology*, 51: 203-220.

Castagnone-Sereno, P., Danchin, E. G., Perfus-Barbeoch, L., y Abad, P. (2013). Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*: new insights from the genomic era. *Annual review of phytopathology*, 51, 203-220.

Cazares-Álvarez, E. E., Méndez-Inocencio, C., Zepeda-Jazo, I., Fernández-Herrera, E., Medina-Medrano, J. R., Villar-Luna, E., (2019). Aptitud de cinco poblaciones de jitomate silvestre (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) como hospedante del nematodo *Nacobbus aberrans* sensu lato. *Revista Mexicana de Fitopatología*, Mexican Journal of Phytopathology, 37(3): 1-12.

Chanda, B., Xia, Y., Mandal, M. K., Yu, K., Sekine, K. T., Gao, Q. M., ... y Kachroo, A. (2011). Glycerol-3-phosphate is a critical mobile inducer of systemic immunity in plants. *Nature genetics*, 43(5), 421.

Chandra, P., Sao, R., Gautam, S. K., & Poddar, A. N. (2010). Initial population density and its effect on the pathogenic potential and population growth of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* in four species of cucurbits. *Asian Journal of Plant Pathology*, 4(1), 1-15.

Chaturvedi, R., Venables, B., Petros, R. A., Nalam, V., Li, M., Wang, X., et al. (2012). An abietane diterpenoid is a potent activator of systemic acquired resistance. *Plant J.* 71, 161–172.

Chinnapandi, B., Bucki, P., & Braun Miyara, S. (2017). SIWRKY45, nematode-responsive tomato WRKY gene, enhances susceptibility to the root knot nematode; *M. javanica* infection. *Plant signaling & behavior*, 12(12), e1356530.

Chitwood, D. J., Perry, R. N., (2009). Reproduction, physiology and biochemistry. *Root-knot nematodes*, 182-200.200.

Chitwood, D.J. and Perry, R.N. (2009) Reproduction, physiology and biochemistry. In: Root-Knot Nematodes (Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L., eds), pp. 182–200. Wallingford, Oxfordshire: CAB International.

Cid del Prado VI, 2016. *Nacobbus aberrans* in horticultural crops and its management in Mexico. *Journal of Nematology*, 48, 311.

Costilla, M, A, (1985a). El falso nematode del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 y su relación con el cultivo de papa en el Noroeste argentino. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 62, 79-97.

Crozzoli, R, 2010. La nematología agrícola en Venezuela. Trabajo de Ascenso. Universidad Central de Venezuela. *Facultad de Agronomía. Maracay, Venezuela*. 534 pp.

Cueto-Ginzo, A. I, Aparisi, F., Achón, M. A., Pallás, V., Arcal, L., Lade, S., y Medina, V. (2015). Characterization of a new Spanish Potato virus X strain inducing symptoms in tomato. *Journal of Plant Pathology*, 97(2).

D'Arcy, W, Solanaceae. En: W. D. Stevens, C. Ulloa U., A. Pool y O. M. Montiel (2001). Flora de Nicaragua. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. Vol. 85, tomo III. St. Louis, Missouri.

D'Arcy W., (1991) *The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography*. In Solanaceae III: taxonomy, chemistry, evolution, ed. J. G. Hawkes, R. N. Lester, M. Nee, and N. Estrada, 75–137. Kew: Royal Botanic Gardens.

Dejene, M., & Abrar, S. (2015). Integrated Management of Root-Knot-Nematode [*Meloidogyne Incognita* (Kofoid & White) Chitwood] in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) Through Botanical and Intercropping (Doctoral dissertation, Haramaya University).

Devran, Z., Söğüt, M.A., Mutlu, N. (2010) Response of tomato rootstocks with the Mi resistance gene to *Meloidogyne incognita* race 2 at different soil temperatures. *Phytopathology Mediterranea*. 49:11–17.

Dhivya, R., Sadasakthi, A., & Sivakumar, M. (2016). Reaction of wild *Solanum* rootstocks and tomato scions against root knot nematode (*Meloidogyne incognita* Kofoid and White). *Advance Research Journal of Crop Improvement*, 7(1), 10-13.

Dinh P, T, Y, Zhang L, Brown C, R, Elling A, A, (2014). Plant-mediated RNA interference of effector gene *Mc16D10L* confers resistance against *Meloidogyne chitwoodi* in diverse genetic backgrounds of potato and reduces pathogenicity of nematode offspring. *Nematology* 16 669–682.

Dos Santos, M, F, A, Furlanetto, C, Almeida, M, R, A, Carneiro, M. D. G., Mota, F, C, Gomes, A, C, M, M, Carneiro, R. M. D. G. (2012). Biometrical, biological, biochemical and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. *European Journal of Plant Pathology*, 134(4), 671–684. doi:10.1007/s10658-012-0018-1

Dropkin VH, 1989. Introducción a la nematología vegetal. Nueva York, EE. UU: Academic Press.

Dzhavakhiya, V, G, Ozeretskovskaya, O. L., & Zinovyeva, S. V. (2007). Immune response. In *Comprehensive and Molecular Phytopathology* (pp. 265-314). Elsevier.

Ehwaeti, ME; Phillip, SM; Trudgill, DL. 1998. Dynamics of damage to tomato by *Meloidogyne incognita*. *Fundam. appl. nematol.* 21:627-635.

Eisenback, J, D, Triantaphyllou, H, H, (1991). Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races. In W. R. Nickle (Ed.), *Manual of agricultural nematology* (pp. 191–274). New York: Marcel Dekker.

Elling, A, A, (2013). Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology*, 103(11), 1092-1102.

El-Sherif, AG; Refaei, AR; El-Nagar, ME; Hagar, M; Salem, M. (2007). The role of eggs inoculum level of *Meloidogyne incognita* on their reproduction and hostreaction. *African Journal of Agricultural Research* 2(4):159-163.

Encinas-Basurto, D, Valenzuela-Quintanar, M, I, Sánchez-Estrada, A, Tiznado-Hernández, M, E, Rodríguez-Félix, A, Troncoso-Rojas, R, (2017). Alterations in volatile metabolites profile of fresh tomatoes in response to *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 1912 infection. *Chilean journal of agricultural research*, 77(3): 194-201.

Evans K., Trudgill D.L., Webster J.M. (eds), 1993. *Plant parasitic nematodes in temperate agriculture*, CABI Publishing, 656 p.

Eves-van den Akker, S., Lilley, C. J., Danchin, E. G., Rancurel, C., Cock, P. J., Urwin, P. E., y Jones, J. T. (2014). The transcriptome of *Nacobbus aberrans* reveals insights into the evolution of sedentary endoparasitism in plant-parasitic nematodes. *Genome biology and evolution*, volumen 6, 2181-2194.

Favery, B, Quentin, M, Jaubert-Possamai, S, Abad, P. (2016). Gall-forming root-knot nematodes hijack key plant cellular functions to induce multinucleate and hypertrophied feeding cells. *Journal of insect physiology*, 84, 60-69.

Foolad M, R, (2007) Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics* 52 p.

Franco-Navarro F, Velasco-Azorsa R. Cid del Prado-Vera I, (2016). *Pochonia chlamydosporia* vs *Nacobbus aberrans*: experiences in the control of the false root-knot nematode in Mexico. *Journal of Nematology*, 48, 322

Freitas, V, M, Silva, J, G, Gomes, C, B, Castro, J, M, Correa, V, R, Carneiro, R, M, (2017). Host status of selected cultivated fruit crops to *Meloidogyne enterolobii*. *European Journal of Plant Pathology*, 148(2): 307-319.

Freitas, V. M., Silva, J. G., Gomes, C. B., Castro, J. M., Correa, V. R., y Carneiro, R. M. (2017). Host status of selected cultivated fruit crops to *Meloidogyne enterolobii*. *European journal of plant pathology*, 148(2), 307-319.

Gao, Q, M, Xia, Y, Yu, K, Navarre, D, Kachroo, A, Kachroo, P, (2014). Galactolipids are required for nitric oxide biosynthesis and systemic acquired resistance. *Cell Rep*. 9: 1681–1691. doi: 10.1016/j.celrep.2014.10.069

Gao, Q, M, Zhu, S., Kachroo, P, Kachroo, A, (2015). Signal regulators of systemic acquired resistance. *Frontiers in plant science*, 6, 228.

García-Martínez S, L, Andreani, M. Garcia-Gusano, F, Geuna J, J, Ruiz, (2006) Evaluation of amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeats for tomato germplasm fingerprinting: utility for grouping closely related traditional cultivars. *Genome* 49:648-656.

Gaur H,S, y N, Perry, (1991). The use of soil solarization for control of plant parasitic nematodes. *Nematological* 60:153-167.

Gheysen G, Mitchum M, G, (2009). “Molecular insights in the susceptible plant response to nematode infection,” in *Plant Cell Monographs, Cell Biology of Plant Nematode Parasitism* eds Berg R. H., Taylor C. G., editors. (Berlin Heidelberg: Springer) 45–81.

Gheysen, G, Fenoll, C. (2002). Gene expression in nematode feeding sites. *Annual Review of Phytopathology*, 40: 191-219.

Gleason, H, A., y Cronquist, A, (1991). *Manual of vascular plants of northeastern North America and adjacent Canada*. New York Botanical Garden, Bronx, New York, USA.

Gomez-Rodriguez O, Corona-Torres T and Heber Aguilar-Rincon V, (2017). Differential response of pepper (*Capsicum annuum* L.) lines to *Phytophthora capsici* and root-knot nematodes. *Crop Protection*, 92, 148–152.

Goverse, A, de Almeida Engler, J, Verhees, J, van der Krol, S., Helder, J., Gheysen, G, (2000). Cell cycle activation by plant parasitic nematodes. *Plant Molecular Biology*, 43: 747-761.

Gozzo, F, (2003). Systemic acquired resistance in crop protection: from nature to a chemical approach. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(16): 4487-4503.

Grandillo, S, R, Chetelat, (2011). *Solanum* sect. *Lycopersicon* Wild Crop Relatives: *Genomic and Breeding Resources*. C. Kole, Springer Berlin Heidelberg: 129-215.

Griffin, K, Gambley, C, Brown, P, y Li, Y, (2017). Copper-tolerance in *Pseudomonas syringae* pv. tomato and *Xanthomonas* spp. and the control of diseases associated with these pathogens in tomato and pepper. A systematic literature review. *Crop Protection*, 96, 144-150.

Hamamouch, N, Li, C, Seo, P, J, PARK, C, M, y Davis, E, L, (2011). Expression of Arabidopsis pathogenesis-related genes during nematode infection. *Molecular Plant Pathology*, 12(4), 355-364.

Handoo, Z, A, Skantar, A, M, Carta, L, K, Erbe, E, F, (2005). Morphological and molecular characterization of a new root-knot nematode, *Meloidogyne thailandica* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), parasitizing ginger (*Zingiber* sp.). *Journal of Nematology*, 37(3): 343.

Hernández-Bautista, A, Lobato-Ortiz, R, Cruz-Izquierdo, S, García-Zavala, J, J, y Chávez-Servia, J. L. (2014). Variación fenotípica, heterosis y heredabilidad de una cruce interespecífica de jitomate. *Interciencia*, 39(5): 327- 332.

Hernández-Ochandía, D., Arias, Y., Gómez, L., Peteira, B., Miranda, I., & Rodríguez, M. G. (2012). Elementos del ciclo de vida de población cubana de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en *Solanum lycopersicum* L. *Revista de Protección Vegetal*, 27(3): 188-193.

Hewezi T, Howe P, Maier TR, Hussey RS, Mitchum MG, (2008) Cellulose binding protein from the parasitic nematode *Heterodera schachtii* interacts with *Arabidopsis* pectin methylesterase: cooperative cell wall modification during parasitism. *The Plant cell* 20: 3080–3093.

Hewezi T, Howe PJ, Maier TR, Hussey RS, Mitchum MG, Davis EL, Baum TJ (2010) *Arabidopsis* spermidine synthase is targeted by an effector protein of the cyst nematode *Heterodera schachtii*. *Plant Physiology*. 152:968–984.

Hewezi, T, and Baum, T, J, (2013). Manipulation of plant cells by cyst and root-knot nematode effectors. *Mol. Plant Microbe Interact.* 26, 9–16.

Hirschmann, H, (1986). *Meloidogyne hispanica* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae) the ‘Seville Root-Knot Nematode’. *Journal of Nematology*, 18, 520–532.

Huang G, Z, Gao B, Maier T, Allen R, Davis E, L, Baum T, J, (2003). A profile of putative parasitism genes expressed in the esophageal gland cells of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 16 376–381

Hwang, IS, Lee, HB, Song, E., y Oh, CS (2018). Explorando nuevos factores de virulencia de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* para identificar genes implicados en la patogenicidad en tomate. *식물 병리 병리 학회 춘계 학술* 2018, 201, 41-41.

Ibrahim IKA, El-Saedy MA, 1987. Desarrollo de *Meloidogyne incognita* y *M. javanica* en las raíces de la soja. *Nematologica Mediterranea*, 15: 47-50.

Ibrahim IKA, Handoo ZA, (2016). Ocurrencia de nematodos fitoparásitos en algunas plantas de cultivo en el norte de Egipto. *Pakistan Journal of Nematology*, 34 (2): 163-169.

Inserra, R, N, Di-Vito, M, Ferris, H, (1983). Influence of *Nacobbus aberrans* densities on growth of sugarbeet and kochia in pots. *Journal of Nematology*, volumen (16): 393-395.

Inserra, R, N, Griffin, G, D, Vovlas, N, Anderson, J. L, Kerr, E. D. (1984). Relationship between *Heterodera schachtii*, *Meloidogyne hapla*, and *Nacobbus aberrans* on sugarbeet. *Journal of nematology*, 16(2), 135.

Inserra, R, N, N, Vovlas, G, D, Griffin, J. L. Anderson, (1983). Development of the false rootknot nematode, *Nacobbus aberrans*, on sugarbeet. *J. Nematol.* 15:288-296.

Jammes, F, Lecomte, P, de Almeida-Engler, J, Bitton, F, Martin-Magniette, M, L, Renou, J.P., Abad, P., Favery, B. 2005. Genome-wide expression profiling of the host response to root-knot nematode infection in Arabidopsis. *Plant Journal*, 44: 447-458.

Jaouannet M, Perfus-Barbeoch L, Deleury E, Magliano M, Engler G, et al. (2012) A root-knot nematode-secreted protein is injected into giant cells and targeted to the nuclei. *The New phytologist* 194: 924–931.

Jaubert, S, Ledger, TN, Laffaire, JB, Piotte, C, Abad, P, Rosso, MN. 2002. Direct identification of stylet secreted proteins from root-knot nematodes by a proteomic approach. *Molecular and Biochemical Parasitology* **121**: 205– 211.

Ji, P, y Csinos, A, S, (2015). Effect of oxathiapiprolin on asexual life stages of *Phytophthora capsici* and disease development on vegetables. *Annals of Applied Biology*, 166(2), 229-235.

Jones JT, et al. (2013) Top 10 nematodos parásitos de las plantas en la patología molecular de plantas. *Plant Molecular Pathology*, número (14); 946 - 961.

Kachroo, A., y Robin, G, P, (2013). Systemic signaling during plant defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 527-533.

Karssen, G, Liao, J, Kan, Z, van Heese, E, Y, den Nijs, L, J, (2012). On the species status of the root-knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* Rammah & Hirschmann, 1988. *ZooKeys*, (181), 67.

Karssen, G, Wesemael, W, Moens, M, (2013). Root-knot nematodes. *Plant nematology*, (Ed. 2), 73-108.

Khan, M.R, (2003). Life cycle, pathogenicity and management of root knot nematode *Meloidogyne incognita* race 2 infecting Balsam (*Impatiens balsamina* L.). *Indian Journal Nematology*, 33: 72-73.

Khan, R, M, Khan, A, M, Khan, M, W, (1986). Interaction between *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis* and *Tylenchorhynchus brassicae* on tomato. *Revue de Nématologie* 9(3):245-250.

Khan, T, A, S, Nisar, M, S, Ashraf, (2004). Effect of population levels of *Meloidogyne javanica* on plant growth and nematode multiplication on cucurbits. *Pak. Journal Nematology*, 22: 83-89.

Kiewnick S, Karssen G, Brito J, A, Oggenfuss M, Frey J, E, (2008). First report of root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* on tomato and cucumber in Switzerland. *Plant Disease*, 92(9).

L, C, van Loon, M, Rep, M, J, Pieterse, (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants, *Ann. Rev. Phytopathology* 44; 135-162.

Lavrova, V, V, Matveeva, E, M, Zinovieva, S, V, (2017). Activity of components of the antioxidant system in the roots of potato plants at short-term temperature drop and invasion with parasitic nematodes. *In Doklady Biochemistry and Biophysics* (Vol. 476, No. 1, pp. 329-332).

Lax, P, Marro, N, Agaras, B, Valverde, C, Doucet, M, E, y Becerra, A. (2013). Biological control of the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans* by *Pseudomonas protegens* under controlled conditions. *Crop protection*, número (52), 97-102.

- Lax, P, Rondan Duenas, J, C, Gardenal, C, N, Doucet, M, E, (2014). Phylogenetic relationships among populations of the *Nacobbus aberrans*. Nematoda, *P ratylenchidae* complex reveal the existence of cryptic species. *Zoologica Scripta*, 43(2): 184-192.
- Lee, I, H, Shim, D, Jeong, J, C, Sung, Y, W, Nam, K, J, Yang, J, W, Kim, Y, H, (2019). Transcriptome analysis of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)-resistant and susceptible sweetpotato cultivars. *Planta*, 249(2): 431-444.
- Li, R, Rashotte, A, M, Singh, N, K, Weaver, D, B, Lawrence, K, S, y Locy, R, D, (2015). Integrated signaling networks in plant responses to sedentary endoparasitic nematodes: a perspective. *Plant cell reports*, 34(1), 5-22.
- Li, X., Yang, D., Niu, J., Zhao, J, y Jian, H, (2016). De novo analysis of the transcriptome of *Meloidogyne enterolobii* to uncover potential target genes for biological control. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1442.
- Lin J, Mazarei M, Zhao N, Zhu JJ, Zhuang X, Liu W, Pantalone VR, Arelli PR, Stewart CN Jr, Chen F (2013) Overexpression of a soybean salicylic acid methyltransferase gene confers resistance to soybean cyst nematode. *Plants Biotechnology Journal*. 11:1135–1145
- López-Pérez, J, A, Le Strange, M, Kaloshian, I, Ploeg, A, T, (2006). Differential response of Mi gene-resistant tomato rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*) *Crop Prot*. 25:382–388.
- Luc M, (1987). A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *Revue de Nematologie*, 10: 203–218.
- Manzanilla-López R, H (2010), Speciation within *Nacobbus*: consilience or controversy? *Nematology*.; 12:321–334.
- Manzanilla-López, R, H, Costilla, M, A, Doucet, M, Franco, J, Inserra, R, N, Lehman, P, S, Evans, K, (2002). The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica*, 32(2): 149-228.
- Martin, W, R, Hayes, C, K, (2017). U.S. Patent No. 9,681,668. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Martínez Gallardo, J, Á, Díaz Valdés, T, Allende Molar, R, García Estrada, R, S, Carrillo Fasio, J, A, (2015). Primer reporte de *Meloidogyne enterolobii* parasitando tomate en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(SPE11), 2165-2168.

Moens M, Perry R, N, Starr J, L, (2009). *Meloidogyne* Species - a diverse group of novel and important Plant Parasites. Pp. 1-17 En Root-knot Nematodes. Moens M, RN Perry, JL Starr (Eds). CAB International.

Molinari, S, Fanelli, E, y Leonetti, P, (2014). Expression of tomato salicylic acid (SA)-responsive pathogenesis-related genes in Mi-1-mediated and SA-induced resistance to root-knot nematodes. *Molecular plant pathology*, 15(3): 255-264.

Morales, J, Kadota, Y, Zipfel, C, Molina, A, Torres, M, A, (2016). The *Arabidopsis* NADPH oxidases RbohD and RbohF display differential expression patterns and contributions during plant immunity. *Journal of Experimental Botany*, 67(6): 1663-1676.

Mukhtar, M, S, Nishimura, M, T, Dangl, J, (2009). NPR1 in plant defense: it's not over'til it's turned over. *Cell*, 137(5): 804-806.

Nahar, K, Kyndt, T, De Vleeschauwer, D, Höfte, M, Gheysen, G, (2011). The jasmonate pathway is a key player in systemically induced defense against root knot nematodes in rice. *Plant physiology*, 157(1): 305-316.

Nakazato T, Franklin R, A, Kirk B, C, Housworth E, A. Population structure, demographic history, and evolutionary patterns of a green-fruited tomato, *Solanum peruvianum* (Solanaceae), revealed by spatial genetics analyses. *Am J Bot*.

Nesbitt TC, Tanksley Dakota del Sur. Secuenciación comparativa en el género *Lycopersicon*: implicación para la evolución del tamaño del fruto en la domesticación de tomates cultivados, *Genética*, 2002, vol. 162 (pág. 365-379).

Nischwitz, C, Olson, B, Taylor, R, (2017). Tobacco Mosaic Virus/Tomato Mosaic Virus: Symptoms, Transmission and Prevention of Infection.

Oliveira, J, T, A, Andrade, N, C, Martins-Miranda, A, S, Soares, A, A, Gondim, D, M, F, Araújo-Filho, J, H, Vasconcelos, I, M, (2012). Differential expression of antioxidant enzymes and PR-proteins in compatible and incompatible interactions of cowpea (*Vigna*

unguiculata) and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 51: 145-152.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). FAOSTAT (2016).

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). FAOSTAT (2018).

Pacheco, S, E, C, Acosta, M, G, C, López, M, J, V, Cornejo, F, J, J, Pérez, R, F, O, Proaño, K, I, (2018). Identification of Mi-1 homologs in various *Solanum* species. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 39(1).

Paran I, van der Knaap E. (2007) Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *Journal Expert Botanic* 58: 3841–3852.

Paran, I, E. van der Knaap (2007). "Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper." *Journal of Experimental Botany* 58(14): 3841-3852.

Park YH, West MA, St Clair DA (2004) Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Genome* 47: 510–518.

Peralta I, E, D, M, Spooner (2007) *History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae)*. In: Genetic Improvement of Solanaceous Crops, Vol. 2: Tomato. M. K. Razdan and A. K. Mattoo (eds.). Science Publishers. Enfield, New Hampshire, USA. pp:1-24.

Peralta I, E, D, M, Spooner, S, Knapp (2008) Taxonomy of Wild Tomatoes and their Relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, and sect. *Lycopersicon*; Solanaceae). *Systematic Botany Monographs* Vol. 84. American Society of Plant Taxonomists. Ann Arbor, Michigan, USA. 186 p.

Peralta, I, E, D, M, Spooner, (2000). "Clasificación de wild tomatoes: a review". *Kurtziana*, 28(1): 45-54.

- Peralta, I, E, S, Knapp, D, M, Spooner, (2005). “New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: *Solanaceae* from Northern Peru”. *Systematic Botany*, 30(2): 424-434.
- Perez-Rodriguez I, Doroteo-Mendoza A, Franco-Navarro F, Santiago-Santiago V and Montero-Pineda A, (2007). Isolates of *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* from Mexico as potential biological control agents of *Nacobbus aberrans*. *Nematropica*, 37
- Perry, R, N, Moens, M, (2011). Introduction to plant-parasitic nematodes; modes of parasitism. In *Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions* (pp. 3-20). Springer, Dordrecht.
- Perry, R. N, Moens, M, Starr, J, L, (Eds.). (2009). *Root-knot nematodes*. CABI.
- Ploeg, A, T, Maris, P, C, (1999) Effects of temperature on the duration of the life cycle of a *Meloidogyne incognita* population. *Nematology* 1: 389–393.
- Portillo, M, (2013). Distinct and conserved transcriptomic changes during nematode-induced giant cell development in tomato compared with *Arabidopsis*: a functional role for gene repression. *New Phytology* 197: 1276–1290.
- Poudel, B, Velázquez-del Valle, M, G, Hernández-Lauzardo, A, N, Zhang, S, (2018). First Report of *Alternaria* tomato Causing Leaf Spot on Sunflower in Mexico. *Plant Disease*, (ja) 103(5): 1029-1029.
- POV (2001) *Guidelines for the Conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability (Tomato)*. Geneva, Switzerland
- Prasad, S, K, J, M, Webster, (1967). Effect of temperature on rate of development of *Nacobbus serendipiticus* in excised tomato roots. *Nematologica* 13:85-90.
- Przybylska, A, Kornobis, F, Obrepalska-Stęplowska, A, (2018). Analysis of defense gene expression changes in susceptible and tolerant cultivars of maize (*Zea mays*) upon *Meloidogyne arenaria* infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 103, 78–83. doi: 10.1016/j.pmpp.2018.05.005
- Quiml, v, H, (1981). Biological cycle and behavior of *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 11:86.

Ramirez-Suárez, A, Rosas-Hernández, L, Alcasio-Rangel, S, Powers, T, O, (2014): First report of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* parasitizing watermelon from Veracruz, México. *Plants Disears*, 98: 428. DOI: 10.1094/PDIS-06-13-0636- PDN.

Ramirez-Suarez, A., Alcasio-Rangel, S., Rosas-Hernandez, L., Lopez-Buenfil, J. A., y Brito, J. A. (2016). First Report of *Meloidogyne enterolobii* Infecting Columnar Cacti *Stenocereus queretaroensis* in Jalisco, Mexico. *Plant Disease*, 100(7), 1506-1506.

Rao, M, V, Lee, H, I, Creelman, R, A, Mullet, J, E, Davis, K, R, (2000). Jasmonic acid signaling modulates ozone-induced hypersensitive cell death. *The Plant Cell*, 12(9): 1633-1646.

Revelo, J, 2003. Manejo integrado del nemátodo del quiste de la papa en Ecuador. *Nematrónica*. volumen (1),105 p.

Rick, C, M, (1976). Natural variability in wild species of *Lycopersicon* and its bearing on tomato breeding. *Genetica Agraria (Italy)*.

Rick, C, M, Holle, M, (1990). Andean *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme: genetic variation and its evolutionary significance. *Economic Botany*, 44(3): 69.

Ros, M, Raut, I, Santísima-Trinidad, A, B, Pascual, J, A, (2017). Relationship of microbial communities and suppressiveness of *Trichoderma* fortified composts for pepper seedlings infected by *Phytophthora nicotianae*. *PloS one*, 12(3), e0174069.

Rose L, E, Langley C, H, Bernal A, J, Michelmore R, W, (2005). Natural variation in the Pto pathogen resistance gene within species of wild tomato (*Lycopersicon*). I. Functional analysis of Pto alleles. *Genetics*.171(1):345–357. doi: 10.1534/genetics.104.039339.

SAGARPA, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Avances de la Producción Agrícola (2017).

SAGARPA, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Avances de la Producción Agrícola (2017).

SAGARPA, Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON) (2017).

Salazar-Antón, W., & Guzmán-Hernández, T. D. J. (2013). Efecto de poblaciones de *Meloidogyne* sp. en el desarrollo y rendimiento del tomate. *agronomía mesoamericana*, 24(2), 419-426.

Sánchez, P, P, K, Oyama, J, Núñez F, J. Formoni, S, Hernández V, J, Márquez G, J, A, Garzón T, (2006). “Sources of resistance to whitefly (*Bemisia spp.*) in wild populations of *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (Dunal) Spooner G.J. Anderson et R.K. Jansen in Northwestern México”. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 711-719.

Sangronis, E, Crozzoli, R, Aguirre, Y, (2013). Efecto de densidades poblacionales de *Meloidogyne enterolobii* en el crecimiento de perejil (*Petroselinum sativum* L.) en maceteros. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 14(2).

Sanz-Alfárez, S, Mateos, B, Alvarado, R, Sánchez, M (2007). SAR induction in tomato plants is not effective against root-knot nematode infection. *European Journal of Plant Pathology*, 120(4), 417–425. doi:10.1007/s10658-007-9225-6.

Sanz-Alfárez, S, Mateos, B, Alvarado, R, y Sánchez, M, (2008). SAR induction in tomato plants is not effective against root-knot nematode infection. *European Journal of Plant Pathology*, 120(4): 417-425.

Schwessinger, B, Ronald, P, C, (2012). Plant innate immunity: perception of conserved microbial signatures. *Annual review of plant biology*, 63, 451-482.

Sels, J, Mathys, J, De Coninck, B, M, Cammue, B, P, De Bolle, M, F, (2008). Plant pathogenesis-related (PR) proteins: a focus on PR peptides. *Plant physiology and biochemistry*, 46(11): 941-950.

Shankar, R., Harsha, S, y Bhandary, R, (2014). A practical guide to identification and control of tomato diseases. *Tropica seeds pvt. ltd.*

Shurleff, M, C, C, W, Averre, III, (2000). Diagnosing plant disease caused by plant parasitic nematodes. *The American Phytopathol Society*, pp: 187.

SIACON. (2016). Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Fecha de consulta (octubre, 2018). <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>.

Siddiqi MR, 2000. Tylenchida: Parasites of plants and insects, 2nd Edition. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Sikora, R, A, E. Fernandez (2005). Nematode parasites of vegetables. Pp 319-392. In Luc, M., R. A. Sikora and J. Bridge (eds). *Plant-Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. 2nd Edition. CAB International.

Sim SC, Robbins MD, Chilcott C, Zhu T, Francis DM (2009) Oligonucleotide array discovery of polymorphisms in cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) reveals patterns of SNP variation associated with breeding. *BMC Genomics* 10: 466.

Sim S-C, Robbins MD, Van Deynze A, Michel AP, Francis DM, (2011). Population structure and genetic differentiation associated with breeding history and selection in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) *Heredity* (Edinb). 106:927–35. doi: 10.1038/hdy.2010.139.

Skantar, A, M, Carta, L, K, Handoo, Z, A, (2008). Molecular and Morphological Characterization of an Unusual *Meloidogyne arenaria* Population from Traveler's Tree, *Ravenala madagascariensis*. *Journal of nematology*, 40(3), 179.

Sobczak, M, Avrova, A. Jupowicz, J, Phillips, M, S, Ernst, K, Kumar, A, (2005). Characterization of Susceptibility and Resistance Responses to Potato Cyst Nematode (*Globodera* spp.) Infection of Tomato Lines in the Absence and Presence of the Broad-Spectrum Nematode Resistance HeroGene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18(2), 158–168. doi:10.1094/mpmi-18-0158

T, Kyndt, K, Nahar, A, Haegeman, D, De Vleeschauwer, M, Höfte, G, Gheysen, (2012). Comparing systemic defence-related gene expression changes upon migratory and sedentary nematode attack in rice, *Plant Biology*. 14 (s1) 73–82.

Talavera, M, Verdejo-Lucas, S, Ornat, C, Torres, J, Vela, M, D, Macias, F, J, Sorribas, F, J, (2009). Crop rotations with Mi gene resistant and susceptible tomato cultivars for management of root-knot nematodes in plastic houses. *Crop protection*, 28(8): 662-667.

Thomma, B, P, Penninckx, I, A, Cammue, B, P, Broekaert, W, F, (2001). The complexity of disease signaling in Arabidopsis. *Current opinion in immunology*, 13(1): 63-68.

Torrico Ferrufino, A, M, (2013). Estudio morfológico y molecular de la diversidad genética del tomate silvestre (*Solanum* spp.) Boliviano (Doctoral dissertation, POSAGR; M03).

Trojak-Goluch, A, Laskowska, D, Kurska, K, (2016). Morphological and chemical characteristics of doubled haploids of flue-cured tobacco combining resistance to *Thielaviopsis basicola* and TSWV. *Breeding science*, 66(2), 293-299.

Uehara, T, Sugiyama, S, Matura, H, Arie, T, Masuta, C, (2010). Resistant and susceptible responses in tomato to cyst nematode are differentially regulated by salicylic acid. *Plant Cell Physiol.* 51: 1524– 1536.

V, V, Mosolov, T, A, Valueva, (2008). Proteinase inhibitors in plant biotechnology: a review, *Apple Biochem Microbiology.* 44: 233-240.

Van Loon, L, C, Van Strien, E, A, (1999). The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and molecular plant pathology*, 55(2): 85-97.

Veremis, J, C, Cap, G, B, Roberts, P. A. (1997). A search for resistance in *Lycopersicon* spp. to *Nacobbus aberrans*. *Plant disease*, 81(2): 217-221.

Villar Luna, H, (2014). Comparación de la expresión de los genes de defensa EAS, HMG2, WRKY-a, PR-1 y POX, y acumulación de capsidiol en la interacción compatible CM334-*Nacobbus aberrans* e incompatible CM334-*Meloidogyne incognita*.

Villar-Luna, E, Gómez-Rodríguez, O, Rojas-Martínez, R, I, y Zavaleta-Mejía, E, (2016). Presence of *Meloidogyne enterolobii* on Jalapeño pepper (*Capsicum annuum* L.) in Sinaloa, Mexico. *Helminthologia*, 53(2), 155-160.

Vlot AC, Dempsey DA, Klessig DF (2009) Salicylic Acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu Rev Phytopathology* 47:177–206

VM Williamson, PA Roberts (2009). Mecanismos y genética de la resistencia. RN Perry, M. Moens, JL Starr (Eds.), *Nematodos de nudo de raíz*, CAB International, Oxford, Reino Unido. 2: 301 – 325.

Vovlas, N, Nico, A, I, De Luca, F, De Giorgi, C, Castillo, P, (2007). Diagnosis and molecular variability of an Argentinean population of *Nacobbus aberrans* with some observations on histopathology in tomato. *Journal of nematology*, 39(1): 17.

Vrain, T, C, (1977). A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. *Journal of Nematology* (9):249.

Wang (2014) C. Wang, M. El-Shetehy, M.B. Shine, K. Yu, D. Navarre, D. Wendehenne, A. Kachroo, P. Kachroo Free radicals mediate systemic acquired resistance *Cell Rep*, 7 (2014), pp. 348-355

Wang'ombe, M, W, (2019). Identification of plant recognition receptors for nematode derived molecular patterns (Doctoral dissertation, Universitäts-und Landesbibliothek Bonn).

Warmerdam, S, Sterken, M, G, van Schaik, C, Oortwijn, M, E, Sukarta, O, C, Lozano-Torres, J. L., ... & Bakker, J. (2018). Genome-wide association mapping of the architecture of susceptibility to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 218(2): 724-737.

Williamson VM, Kumar A, (2006). Nematode resistance in plants: The battle underground. *Trends in Genetics*. 22: 396–403.

Wubben, M.J.E, Jin, J, Baum, T, J, (2008) Cyst nematode parasitism of *Arabidopsis thaliana* is inhibited by salicylic acid (SA) and elicits uncoupled SA-independent pathogenesis-related gene expression in roots. *Molecular Plant Microbiology Interact*. 21: 424– 432.

Xie, J, Li, S, Mo, C, Wang, G, Xiao, X, Xiao, Y (2016). A novel *Meloidogyne incognita* effector Misp12 suppresses plant defense response at latter stages of nematode parasitism. *Frontiers in plant science*, 7, 964.

Yang Y, Jittayasothorn Y, Chronis D, Wang X, Cousins P, Zhong G. Y. (2013). Molecular characteristics and efficacy of *16D10* siRNAs in inhibiting root-knot nematode infection in transgenic grape hairy roots. *PLoS ONE*.

Yang, B, Eisenback, J, D, (1983). *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (*Meloidogynidae*), a root-knot nematode parasitizing pacara earpod tree in China. *Journal Nematology*, 15:381-391.

Zheng, X, Zhu, Y, Liu, B, Lin, N, Zheng, D, (2017). Invasive properties of *Ralstonia solanacearum* virulent and avirulent strains in tomato roots. *Microbial pathogenesis*, 113, 144-151.

