

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR Y ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE UN NEMATODO AISLADO DE RAÍZ DE JITOMATE GRAPE (*Solanum lycopersicum* L.)

Francisco Javier Mondragón-Rojas^{1,3}, Stefani Aletse Meza-Zamora¹, Beatriz Flores-Samaniego², Laura Jeanette García-Barrera¹, Patricia Ibarra-Torres³, Miguel David Dufoo-Hurtado³. ¹ Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada - Instituto Politécnico Nacional, Tepetitla de lardizábal, Tlaxcala, C.P. 90700. ² Centro de investigación Desarrollo tecnológico e innovación Mezfer, Celaya, Gto., C.P. 38000. ³ Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica de Guanajuato, Cortazar, Gto., C.P. 38496, mdufoo@upgto.edu.mx.

Palabras clave: identificación taxonómica, 18s, Meloidogyne sp.

Introducción. El cultivo de jitomate (*S. lycopersicum* L.) es uno de los principales productos con importancia económica y cultural en México (1). A pesar de ello, diversas plagas y enfermedades influyen en su productividad, entre ellas se consideran a los nemátodos, que atacan a las raíces del cultivo, comprometiendo la disponibilidad de absorción de nutrientes e impactando en la calidad del fruto cosechado. Conocer la especie del nemátodo aislado de tomate permitirá desarrollar productos específicos para su control.

El objetivo de este trabajo fue identificar de forma molecular y realizar el análisis filogenético de un nemátodo aislado de raíz de jitomate.

Metodología. La muestra de raíz de jitomate grape orgánico se tomó de un invernadero y se evaluó la presencia de nemátodos. Una vez obtenidos los nemátodos se realizó la extracción del ADN de un nemátodo hembra empleando un kit específico (Qiagen cat #69506). Se llevó a cabo la amplificación del ADNr de la subunidad pequeña (18S) (2) empleando los iniciadores Nem_18S_F CGCGAATRGCTCATTACAACAGC y Nem_18S_R GGGCGGTATCTGATCGCC. Se purificó el amplicón con el kit Zymobionics D4305 y se secuenció en un equipo AB3130 empleando la Técnica de Sanger y tecnología capilar. La secuencia obtenida se comparó con las reportadas en las bases de datos del NCBI (3). El análisis filogenético se realizó haciendo pruebas de alineamiento múltiple en el programa Jalview (4).

Resultados. Se obtuvo una concentración de ADN de 25.31 ng/μL y se ajustó a 50 ng por reacción de PCR. El fragmento de ADNr amplificado por PCR tuvo un tamaño de ~900pb (figura 1). De acuerdo al análisis de alineamiento con las secuencias en el NCBI, la muestra del nemátodo resultó tener una identidad del 100% con *Meloidogyne enterolobii* y un valor E de 0.00.

El análisis filogenético (figura 2) demostró que existe una gran similitud de las muestras con las secuencias del gen 18s del ADNr de nemátodos del género *Meloidogyne* reportadas en el NCBI. Se pueden

observar 4 grandes grupos correspondientes a las diversas especies de *Meloidogyne*. La secuencia del ADNr aislado tiene mayor grado de homología al grupo de la especie *enterolobii* y menor grado de homología con la especie *luci*.

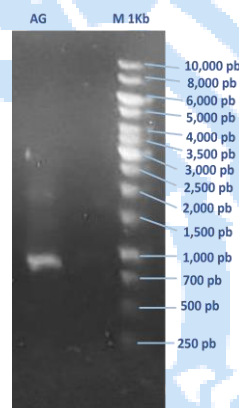


Fig. 1. Amplificación de región 18S de ADNr en muestras de nemátodo aislado de raíz de jitomate. M: marcador de peso molecular 1 kb. AG: amplicón.

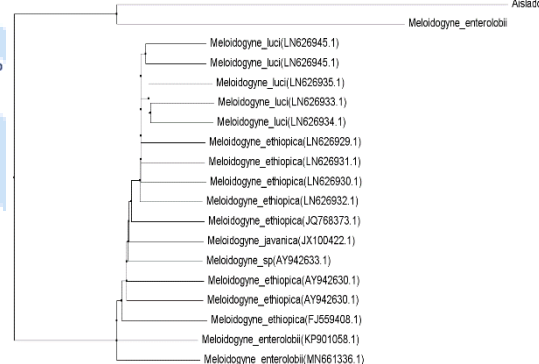


Fig. 2. Análisis filogenético de comparación de secuencias del gen 18s

Conclusiones. El uso de secuencias de 18s para la identificación taxonómica es una herramienta molecular con gran precisión. De esta forma se logró identificar como *Meloidogyne enterolobii* al nemátodo aislado de cultivo de jitomate.

Agradecimiento. F. J. M. R. agradece al IPN el financiamiento obtenido por medio de la beca Institucional de Posgrado.

Bibliografía.

1. SIAP (2021) <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
2. Floyd, R. M., Rogers, A. D., Lamshead, P. J. D., & Smith, C. R. (2005). *Molecular Ecology Notes*, 5(3): 611–612.
3. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] – [cited 2023 Mar 01]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
4. Waterhouse AM, Procter JB, Martin DMA, Clamp M, Barton GJ (2009) Jalview Version 2. *Bioinformatics*. 25: 1189-1191.