

# Caracterización molecular y filogenética del gen 18S ARNr del nemátodo entomopatógeno *Heterorhabditis indica* aislado en el norte de Perú

Molecular and phylogenetic characterization of the 18S rRNA gene of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indica* isolated in northern Peru

José Stalyn Córdova Campos<sup>2</sup>; Joel Michel Riojas-González<sup>1,2</sup>; Pedro S. Castillo-Carrillo<sup>1</sup>  
Rosa Emelda Cornejo-Hidalgo<sup>1</sup>; César Augusto Mogollón-Farías<sup>2</sup>; Segundo Melecio García-García<sup>2</sup>  
Erwin Saúl Rosillo-Urbina<sup>2</sup>; Yair Eusebio Ruiz-Turpo<sup>2</sup>; Archi Alejandro Ruiz-Polo<sup>2</sup>

1. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Tumbes. Ciudad Universitaria, Av. Universitaria S/N, Tumbes, Perú.
2. Estación Experimental Agraria Los Cedros. Dirección de Recursos Genéticos y Biotecnología. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Panamericana Norte Kilómetro 12, Tumbes. Perú.

\* Autor corresponsal: [jcordova@inia.gob.pe](mailto:jcordova@inia.gob.pe) (J. S. Córdova Campos).

ORCID de los autores:

J. S. Córdova-Campos: <https://orcid.org/0000-0002-5891-4679>

P. S. Castillo-Carrillo: <https://orcid.org/0000-0002-0255-1047>

C. A. Mogollón-Farías: <https://orcid.org/0009-0000-5390-9208>

E. S. Rosillo-Urbina: <https://orcid.org/0009-0008-5011-7588>

A. A. Ruiz-Polo: <https://orcid.org/0009-0005-1273-2625>

J. M. Riojas-González: <https://orcid.org/0009-0007-9966-9554>

R. E. Cornejo-Hidalgo: <https://orcid.org/0000-0002-2010-0442>

S. M. García-García: <https://orcid.org/0009-0003-6300-9221>

E. Ruiz Turpo: <https://orcid.org/0009-0003-6477-8583>

## RESUMEN

La caracterización molecular y filogenética de especies de nematodos entomopatógenos (NEPs) permiten la diferenciación de genotipos circulantes así como el mapeo de su distribución geográfica. Además, de los genotipos más agresivos en la infección de insectos. El objetivo de este estudio fue realizar la caracterización molecular y filogenética del gen 18S del ARNr del nemátodo entomopatógeno *Heterorhabditis indica* aislado en el norte de Perú. Se analizaron 851 bases nitrogenadas de una secuencia consenso del gen 18S del ARNr de una cepa de *H. indica*, aislada de bosques de algarrobo ubicados en el norte del Perú, la cual ha demostrado actividad entomopatógena contra *Galleria mellonella* (polilla de la cera). La secuencia consenso fue sometida a un análisis de similitud mediante la herramienta BLAST del GenBank del NCBI, empleando como criterios de búsqueda un 90% de identidad y cobertura. Las secuencias con dichos criterios fueron sometidas a un alineamiento múltiple con la secuencia consenso utilizando el software MEGA v.11. Posteriormente, el alineamiento múltiple se insertó en el software DnaSP v.5 para su caracterización a nivel de variabilidad monomórfica y polimórfica, y así identificar y diferenciar haplotipos. En el alineamiento múltiple, se eliminaron 74 bases no alineadas en sus extremos, de las que quedaron 777 en las que se identificaron y excluyeron 10 huecos (gaps), obteniéndose una matriz final de 767 bases para la caracterización molecular y filogenética. En el análisis de similitud se identificaron 6 secuencias con identidad de 84,89% a 85,11% y coberturas de 92% a 99%. En la caracterización, se encontró 58 sitios conservados (monomórficos) y 109 mostraron variabilidad (polimórficos), lo cual representa posibles eventos mutacionales. Asimismo, se identificaron seis haplotipos distintos (Hap-1 a Hap-6), con un índice de diversidad haplotípica (Hd) de 0,9524, evidenciando que la secuencia consenso evaluada presentó un solo haplotipo (Hap-2) por lo que se le asignó un código de diferenciación genotípica (C05HI). En la filogenética, la secuencia se emparentó con una secuencia registrada en el GenBank (OK493747.1), formando un grupo monofilético. Se sugiere la ampliación de estudios de *H. indica* C05HI el cual puede ser encontrado en suelos de bosques de algarrobo en el norte de Perú. Así mismo, se recomienda que organismos estatales implementen en sus programas de capacitación, asistencia y/o control de plagas de la especie de nematodo analizada.

**Palabras clave:** ARNr; entomopatógeno; monomorfismos; polimorfismos; mutaciones; nematodo.

## ABSTRACT

The molecular and phylogenetic characterization of entomopathogenic nematode (EPN) species allows for the differentiation of circulating genotypes as well as the mapping of their geographic distribution, including the identification of the most aggressive genotypes in insect infection. The aim of this study was to perform the molecular and phylogenetic characterization of in 18S rRNA gene of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indica* isolated from northern Peru. A total of 851 nucleotides from a consensus sequence of the 18S rRNA gene of a *H. indica* strain, collected from algarrobo (carob tree) forests in northern Peru and previously shown to exhibit entomopathogenic activity against *Galleria mellonella* (wax moth), were analyzed. The consensus sequence was subjected to a similarity search using the BLAST tool from the NCBI GenBank database, applying a threshold of 90% for both identity and coverage. Sequences meeting these criteria were aligned with the consensus sequence through multiple sequence alignment using MEGA v.11 software. The resulting alignment was then analyzed using DnaSP v.5 software to assess monomorphic and polymorphic variability, allowing the identification and differentiation of haplotypes. During the alignment process, 74 unaligned bases at the sequence ends were removed, and 10 gap positions were excluded, yielding a final matrix of 767 aligned bases for molecular and phylogenetic analysis. The similarity analysis identified six sequences with identity ranging from 84.89% to 85.11% and coverage values between 92% and 99%. In the molecular characterization, 658 sites were found to be conserved (monomorphic), while 109 were variable (polymorphic), representing potential mutational events. Additionally, six distinct haplotypes (Hap-1 to Hap-6) were identified, with a haplotype diversity index (Hd) of 0.9524, indicating that the analyzed consensus sequence belonged to a single haplotype (Hap-2), to which a genotypic differentiation code (C05HI) was assigned. In the phylogenetic analysis, the sequence was closely related to a registered sequence in GenBank (accession number OK493747.1), forming a monophyletic group. It is recommended that further studies be conducted on *H. indica* C05HI, which may be present in algarrobo forest soils in northern Peru. Likewise, it is suggested that governmental institutions incorporate this nematode species into their training, technical assistance, and/or pest control programs.

**Keywords:** ARNr; entomopathogen; monomorphisms; polymorphisms; mutations; nematode.

Recibido: 17-02-2025.

Aceptado: 09-06-2025



## INTRODUCCIÓN

El crecimiento demográfico y las crecientes exigencias del mercado alimentario han impulsado un notable incremento en la producción agrícola a nivel global, proyectando que la población mundial alcanzará entre 9,4 y 10 mil millones de personas para el año 2050, lo que supone una presión significativa sobre los sistemas de producción de alimentos (UN Human Rights Council, 2017).

En ese contexto, las personas se ven expuestas a un número creciente de productos agroquímicos a través de diversas fuentes, como los alimentos y el entorno. Esta exposición puede ser continua y acumulativa, incluso a niveles bajos, lo que plantea riesgos potenciales para la salud a largo plazo. (Reffstrup, Larsen & Meyer, 2009; Bautista, Mesa & Gómez, 2018), siendo los plaguicidas una de las principales sustancias responsables de esta exposición (Correa-Núñez & Rojas-Jaimes, 2022). Desde hace varias décadas, se ha intensificado la preocupación social y científica respecto al uso extensivo e inadecuado de plaguicidas en la agricultura. Esta inquietud se fundamenta en numerosos estudios que han documentado los efectos negativos derivados de su aplicación, tales como la disminución de la calidad del agua (Rice, Horgan & Rittenhouse, 2010), la contaminación progresiva de los suelos agrícolas, la selección de poblaciones de insectos resistentes y el incremento de riesgos para la salud humana, incluyendo efectos neurotóxicos y endocrinos (Torres & Capote, 2004; Elbaz et al., 2009; Delgado et al., 2020). Estos impactos no solo comprometen la sostenibilidad de los agroecosistemas, sino que también afectan la seguridad alimentaria y la biodiversidad (Solís, Ramírez & Rodríguez, 2024). En respuesta a esta problemática, la investigación científica ha orientado sus esfuerzos hacia el desarrollo de alternativas ecológicas de control de plagas, entre las cuales destacan los nematodos entomopatógenos (NEPs) por su alta especificidad y bajo impacto ambiental.

Se ha comprobado que algunas especies de hongos y nematodos pueden actuar como agentes biológicos eficaces en el control de plagas en entornos agrícolas (Půža & Tarasco, 2023), tal es el caso de *Steinernema riobrave* y *Rhabditis blumi* que son nematodos entomopatógenos (NEPs) de las

larvas de *Heliothis virescens* (Gutiérrez et al., 2025) o nematodos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* que son entomopatógenos de *Eurhizococcus colombianus* (Restrepo et al., 2022). Estudios realizados en condiciones controladas de invernadero con *Heterorhabditis* spp. para el manejo de larvas de *Phyllophaga elenans* en los estadios L2 y L3 mostraron una tasa de mortalidad del 50% al aplicar una dosis de 481 nematodos por larva (Rodríguez et al., 2009). De manera similar, este mismo género de nematodo ha sido evaluado para el control de *Cosmopolites sordidus* (el picudo del banano), en condiciones in vitro, demostrando que es capaz de infectar y causar la muerte de los estadios larvales más avanzados (L5) en esta especie de insecto (Amador et al., 2015).

Sin embargo, estudios dirigidos a la identificación molecular, caracterización y/o análisis filogenéticos de nematodos entomopatógenos (NEPs), realizados en Perú son escasos, como se ha demostrado en la Libertad, donde se evaluaron tres cepas nativas que se multiplicaron en larvas de *Galleria mellonella* y se enfrentaron a ninfas de *Proarna bergie* para su control en espárragos, donde se evidenció su efecto letal, siendo *Heterorhabditis indica* la especie nematoda identificada mediante PCR dirigida al gen 18S ARNr (Cedano, 2019).

Debido a la aplicación de los NEPs en insectos predadores de cultivos agrícolas y la limitada información disponible sobre su caracterización molecular y filogenética en especies nativas del norte de Perú como *Heterorhabditis indica*, se diseñó este estudio con el fin de contribuir y/o ampliar el conocimiento sobre genotipos circulantes de dicha especie de nematodo, utilizando el gen 18S ARNr como región diana para el análisis. Así mismo, la información obtenida en el presente estudio podrá ser empleada y consultada como base teórica para el desarrollo de estudios posteriores dirigidos al registro de genotipos de NEPs para su integración en los programas y/o estrategias del manejo de plagas. El objetivo del estudio fue realizar caracterización molecular y filogenética del gen 18S ARNr del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis indica* aislado en el norte de Perú.

## METODOLOGÍA

### Diseño del estudio

Se realizó un estudio in silico con un diseño no experimental, de nivel descriptivo y enfoque cualitativo, basado en el análisis bioinformático de una secuencia consenso del gen 18S ARNr, con una longitud de 851 bases nitrogenadas. La secuencia corresponde al material genético de una cepa del nematodo *H. indica*, aislada de suelos de bosques de algarrobo en el distrito de Corrales (coordenadas: E-555240, N-9602910), en el departamento de Tumbes. Dicha cepa posee la característica de que se ha identificado previamente mediante taxonomía clásica (Grifaldo et al., 2020) y se ha

evaluado frente a larvas de *Galleria mellonella* (gusano de la cera), demostrando un efecto letal.

### Obtención de las secuencias del gen 18S ADN y su consenso

El material genético analizado se encontró en formato de lectura de texto (FASTA), el cual pertenece a investigaciones realizadas por la Universidad Nacional de Tumbes en conjunto con la subdirección de recursos genéticos de la Estación Experimental Agraria (EEA) Los Cedros del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) del Ministerio de Agricultura. Ambas instituciones se ubican en Tumbes, norte de Perú.

```
>05NEMAT_SSU26R_10_B02 (CONSENSO DE 851 PB)
CGGTCCAAGAATTTACCTCTCACGCAGGGATACGAATGCCCCGNTCGTCCCTGTTAACCATTA
CTCAGTCCACAAAACCAATAAAAAGAGGACCGAAATCCTTTTCTATTATTCCATGCACAATCATTCAA
GCTAGACACCTGTATTGAGCACTCTGATTTTCTCAGAGTAAACTCGCCAGCCACCCGCCGCAACC
GGCCAAGGCTACGACAGGAAAACCTGCAAAACACCTTGGAGCGAAGTACACGCCANAAGGAGG
ACCACGCTCTATTGCACATATCCAACACTAACTTTTTAACCAGCATATACTTCTGTGGNCTTTGA
GAGCTGGAATTACCGCGGCTGCTGGCACCACACTTGCCCTCTCTAGATGATCGTTAAGGGTTTA
AATTGTACCATTCCGATCACCAGGACTGGTATGAGAATGTTTTCTGTTCTTTTTCACCACCTACT
GGAGAAGAGAGTGGCAATTTCTCGCCTGCTGCCTGCCTCAGATTGTTTCGCTATTTCCTCCGGA
GAACTCTCCGGATTCTAACCCCTTCTCCAATACATGTGATCACCATGGCAATCATATACGCTACC
ATGGCAGATTCTTACNGCAGATCTTGAAAGACACGCGCCCGGTACAGACCGTNNCATAAGCTCA
AACACTATTAGTCGACNATAAAATCTCTAAACAATTGCTCTTNTTACATAAATGCGCTCTTTCCGG
GNGGTCAGATCTCTGATGCACGTATTATCTCTAGAATANCCCCCGTATACAAGTAGGATACTGCAA
AATCGAGTACATATAGCTGNTATATGAGCANTCGCGNTTTCACATATATCGTTATNCTA
```

**Figura 1.** Secuencia consenso del gen 18S ARNr de *Heterorhabditis indica* del norte de Perú.

Para la obtención de las secuencias de ADN del gen 18S ARNr en ambos sentidos (directo y reverso), inicialmente se realizó una extracción de ADN total con el Kit PowerSoil DNeasy® (QIAGEN, Alemania). Luego, se amplificó el gen 18S ARNr mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), empleando los cebadores SSU18A: AAAGATTAAGCCATGCATG y SSU26R: CATTCTTGGCAAATGCTTTTCG (Blaxter et al., 1998). Después, el producto PCR (amplicon) fue secuenciado con la tecnología Sanger de doble cadena por la empresa Biotecnológica MacroGen (<https://dna.macrogen.com/>). Finalmente, empleando el software MEGA v.11 (disponible en <https://mega.io/es>) se obtuvo la secuencia consenso de 851 bases que se ha analizado en el presente estudio.

#### Selección de secuencias con similitud

La secuencia consenso analizada en el presente estudio se insertó en la herramienta básica de búsqueda de alineación local (BLAST, por sus siglas en inglés <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), donde se realizó la búsqueda de similitudes con secuencias almacenadas en la base de datos del Centro Nacional de Investigación Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Posteriormente, las secuencias con las que se encontró similitud se registraron mediante su código de acceso para la caracterización molecular y filogenética.

#### Caracterización molecular

Para la caracterización molecular, la secuencia consenso y las secuencias con las que se halló similitud, fueron sometidas a un alineamiento múltiple software MEGA v.11 para la búsqueda de regiones consensuadas finales. Posteriormente, fueron importadas y procesadas en el software DNAsp v.5 (<http://www.ub.edu/dnasp/>). Dado que las secuencias corresponden a un organismo diploide, se optó por la opción "Open Unphase/Genotype Data file" para su importación. Los polimorfismos, su localización y los haplotipos generados se obtuvieron de manera inmediata.

#### Filogenética

La filogenética se llevó a cabo mediante un análisis evolutivo detallado, en el cual se construyó un árbol filogenético utilizando la herramienta MEGA v.11, aplicando el método de máxima verosimilitud. La estimación de las distancias evolutivas se realizó con el modelo de 3 parámetros de Tamura (1992) con 800 réplicas, utilizando como grupo externo la secuencia del gen 18S ARNr del nemátodo *Heterorhabditis noenieputensis* JN620538.1 para la calibración de las relaciones evolutivas.

#### Análisis de datos

Las secuencias consenso fueron organizadas en documentos de Microsoft Word v.2021. De manera similar, los códigos de acceso de las secuencias que mostraron similitud con la secuencia consenso fueron clasificados en tablas utilizando Microsoft Excel v.2021.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Selección de secuencias con similitud

En base a la identificación taxonómica clásica del nemátodo *Heterorhabditis indica*, se seleccionaron las similitudes encontradas en las secuencias del gen 18S ARNr disponibles en el banco de datos genéticos del NCBI. Se identificaron seis coincidencias, cuyos códigos de acceso son: PQ608564.1, OL470132.1, OK562793.1, OL470127.1, OK493747.1 y OL469960.1. Los porcentajes de identidad se hallaron entre 84,89% y 85,11%, y los de cobertura entre 92% y 99%, infiriendo similitud entre la secuencia consulta y las disponibles en el banco de genes. No obstante, se descartaron similitudes que corresponden a otras especies. Estos hallazgos reflejan la limitada información genética disponible para el gen 18S

ARNr de *Heterorhabditis indica*, siendo este uno de los pocos estudios que documentan el uso de dicho marcador genético (Tabla 1).

El empleo de secuencias de códigos de barras, como el gen 18S, para la identificación y caracterización molecular de nematodos ha sido ampliamente documentado en la literatura científica de las últimas décadas. Córdova-Campos et al. (2023), emplearon el gen 18S ARNr para la identificación y caracterización molecular del nematodo agallador de la raíz *Meloidogyne javanica*. Cedano (2019), identificó mediante el gen 18S ARNr a *Heterorhabditis iindica* como una especie con efecto letal sobre *Galleria mellonella* empleada como hospedados y ninfas de *P. bergie* a las que se enfrentaron como plagas.

**Tabla 1**

Secuencias del banco de genes con similitudes y/o coincidencias con la secuencia consenso del gen 18S ARNr de *Heterorhabditis indica* analizada

Descripción	Nombre científico	% cobertura	% identidad	Accesion
<i>Heterorhabditis indica</i> strain IRQ ZAh17 small subunit ribosomal RNA gene_partial_sequence	<i>Heterorhabditis indica</i>	99	84,89	PQ608564.1
<i>Heterorhabditis indica</i> isolate O1 small subunit ribosomal RNA gene_partial_sequence	<i>Heterorhabditis indica</i>	96	85,25	OL470132.1
<i>Heterorhabditis indica</i> isolate HA1 small subunit ribosomal RNA gene_partial_sequence	<i>Heterorhabditis indica</i>	96	84,80	OK562793.1
<i>Heterorhabditis indica</i> isolate O1 small subunit ribosomal RNA gene_partial_sequence	<i>Heterorhabditis indica</i>	92	85,39	OL470127.1
<i>Heterorhabditis indica</i> isolate HR1 small subunit ribosomal RNA gene_partial_sequence	<i>Heterorhabditis indica</i>	93	84,86	OK493747.1
<i>Heterorhabditis indica</i> isolate H1 small subunit ribosomal RNA gene_partial_sequence	<i>Heterorhabditis indica</i>	92	85,11	OL469960.1

Vrain et al. (1992) llevaron a cabo un análisis de los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción del ADNr en *Xiphinema americanum*, demostrando la variabilidad genética intraespecífica en este nematodo. De manera similar, Floyd et al. (2002) utilizaron el gen 18S ARNr como marcador molecular para la identificación de nematodos obtenidos de muestras de suelo. Este gen fue amplificado mediante cebadores desarrollados por Blaxter et al. (1998), quienes destacaron su utilidad para estudios evolutivos dentro del filo Nematoda, dada su capacidad para proporcionar información filogenética a nivel de especies y géneros. No obstante, según Jaramillo et al. (2015), la secuenciación de regiones ITS del ADNr de estadios juveniles de nematodos como los del género *Meloidogyne*. Otros autores como Fernández et al. (2000), señalan el uso del gen ND3 mitocondrial para estudios moleculares dirigidos a la identificación de nematodos hospedadores. Por su parte, Okamoto et al. (1995), han estudiado especies de cestodos mediante secuencias del gen mitocondrial citocromo c oxidasa subunidad I (COI). Por tanto, los resultados obtenidos en el presente estudio pueden ser dilucidados.

### Caracterización molecular

Del alineamiento múltiple entre la secuencia consenso de 851 bases nitrogenadas del gen 18S ARNr *Heterorhabditis indica* aislado del norte de Perú y las secuencias con las que se obtuvieron similitudes, se eliminaron 74 bases no alineadas en sus extremos, de las que quedaron 777 en las que se identificaron y excluyeron 10 sitios gaps, quedando un total de 767 bases para la caracterización molecular, donde se halló que 658 corresponden a sitios invariables (monomórficos) y 109 a sitios variables (polimórficos) (Figura 2). Estos sitios variables se distribuyeron en 108 mutaciones ubicadas en las posiciones 8; 10; 13; 15; 28; 35; 41; 43; 46; 56; 66; 75; 83; 85; 90; 92; 93; 96; 99; 100; 101; 105; 115; 121; 122; 123; 130;

133; 150; 151; 152; 166; 177; 178; 181; 182; 184; 186; 194; 199; 203; 205; 219; 220; 224; 225; 232; 240; 243; 256; 259; 267; 274; 275; 280; 284; 297; 305; 315; 316; 318; 320; 323; 332; 333; 340; 346; 348; 350; 351; 356; 360; 363; 369; 397; 403; 404; 422; 460; 463; 472; 473; 475; 476; 488; 490; 501; 507; 512; 513; 522; 528; 531; 533; 546; 550; 552; 558; 567; 570; 579; 582; 612; 618; 700; 724; 751; 765 y 1 sitio informativo de parsimonia en la posición 89. Así mismo, se identificaron 6 haplotipos con una diversidad genética (Hd) de 0.9524: el Hap-1 corresponde a la secuencia OL469960.1, el Hap-2 a la secuencia consenso analizada, el Hap-3 a PQ608564.1 y OL470132.1, el Hap-4 a OK562793.1, el Hap-5 a OL470127.1 y el Hap-6 a OK493747.1. Los resultados mostraron una diversidad genética significativa entre las secuencias analizadas, lo que se asocia al número de mutaciones. En este contexto, la secuencia consenso (Hap-2) estudiada corresponde a un nuevo genotipo del gen 18S ARNr, por lo que se le asignó el código C05HI.

Como se muestra en la Figura 2, las principales características moleculares de diferenciación halladas en las secuencias analizadas, corresponden a mutaciones que han dado lugar a la formación de polimorfismos en el gen 18S ARNr. Antes de este estudio, la literatura disponible sobre *Heterorhabditis* en Perú se centraba principalmente en investigaciones vinculadas a su ecología y su potencial entomopatógeno, como lo señalan Adrianzén et al. (2024) y Vergaray (2014). Lo cual también se ha investigado en otros países (Valdés, Rodríguez & Velásquez, 2014; Kour et al., 2022). No obstante, Córdova et al. (2023), han realizado la caracterización molecular de *Meloidogyne javanica* mediante el gen 18S ARNr en Perú, siendo uno de los pocos estudios en el que se ha empleado dicho marcador. Así mismo, en India, se han llevado a cabo estudios que incluyen la caracterización molecular de esta especie de nematodo, mediante el análisis del ADNr, como se describe en el trabajo de Bhat et al. (2021).



Secuencia OK493747.1 OL470127.1 OK562793.1 OL469960.1 PQ608564.1 OL470132.1	CTACTTGATACGGGGATTCTAGAGATAATACGTCAGAGATCTGACNCGCGGA CTACTTGGATCTGTGGTATCTAGAGCTAATACATGCATTAAGGCTTGAACCTACCGA CTACTTGGAAACTGTGGTATCTAGAGCTAATACATGCATTAAGGCTTGAACCTACCGA CTACTTGGATCTGTGGTATCTAGAGCTAATACATGCATTAAGGCTTGAACCTACCGA CTACTTGGATCTGTGGTATCTAGAGCTAATACATGCATTAAGGCTTGAACCTACCGA CTACTTGGATCTGTGGTATCTAGAGCTAATACATGCATTAAGGCTTGAACCTACCGA *****	60 60 60 60 60 60 60	Secuencia OK493747.1 OL470127.1 OK562793.1 OL469960.1 PQ608564.1 OL470132.1	AAGAGCGCATTTATGGAANAAGCAATGTGTTAGGAATTTATNGTGCATTAATAGT AAGAGTGCATTTATTTGAACAAACCAATCGGCTTGGCTGTTCTGGTGCATCTAAGT AAGAGTGCATTTATTTGAACAAACCAAGCGGCTTGGCTGTTCTGGTGCATCTAAGT AAGAGTGCATTTATTTGAACAAACCAAGCGGCTTGGCTGTTCTGGTGCATCTAAGT AAGAGTGCATTTATTTGAACAAACCAAGCGGCTTGGCTGTTCTGGTGCATCTAAGT AAGAGTGCATTTATTTGAACAAACCAAGCGGCTTGGCTGTTCTGGTGCATCTAAGT *****	120 120 120 120 120 120 120	Secuencia OK493747.1 OL470127.1 OK562793.1 OL469960.1 PQ608564.1 OL470132.1	GTTTGCAGTTAGNACGGTCTGACCGGGCGGCTGTTCTCAAGAATCTGNGATGAAGA AACTGAGCTGATCGACGGTCTGTACCGGGGACGTGTTCTCAAGTATCTGCCGTATCAA AACTGAGCTGATCGACGGTCTGTACCGGGGACGTGTTCTCAAGTATCTGCCGTATCAA AACTGAGCTGATCGACGGTCTGTACCGGGGACGTGTTCTCAAGTATCTGCCGTATCAA AACTGAGCTGATCGACGGTCTGTACCGGGGACGTGTTCTCAAGTATCTGCCGTATCAA AACTGAGCTGATCGACGGTCTGTACCGGGGACGTGTTCTCAAGTATCTGCCGTATCAA *****	180 180 180 180 180 180 180	Secuencia OK493747.1 OL470127.1 OK562793.1 OL469960.1 PQ608564.1 OL470132.1	TCTGCCATGGTAGGATATGATGCCATGGTGCATCATGATTTGGAGAAGAAGGGTTA CTTTGATGGTAGGATATGATGCCATGGTGCATCATGATTTGGAGAAGAAGGGTTA CTTTGATGGTAGGATATGATGCCATGGTGCATCATGATTTGGAGAAGAAGGGTTA CTTTGATGGTAGGATATGATGCCATGGTGCATCATGATTTGGAGAAGAAGGGTTA CTTTGATGGTAGGATATGATGCCATGGTGCATCATGATTTGGAGAAGAAGGGTTA CTTTGATGGTAGGATATGATGCCATGGTGCATCATGATTTGGAGAAGAAGGGTTA *****	240 240 240 240 240 240 240	Secuencia OK493747.1 OL470127.1 OK562793.1 OL469960.1 PQ608564.1 OL470132.1	GAATCCGGAGAGTCTCCGGAGAAATAGCGAACAATCTGAGGCGAGCAGCGAGAA GACTCCGGAGAGTCTCCGGAGAAATAGCGAACAATCTGAGGCGAGCAGCGAGAA GACTCCGGAGAGTCTCCGGAGAAATAGCGAACAATCTGAGGCGAGCAGCGAGAA GACTCCGGAGAGTCTCCGGAGAAATAGCGAACAATCTGAGGCGAGCAGCGAGAA GACTCCGGAGAGTCTCCGGAGAAATAGCGAACAATCTGAGGCGAGCAGCGAGAA GACTCCGGAGAGTCTCCGGAGAAATAGCGAACAATCTGAGGCGAGCAGCGAGAA *****	300 300 300 300 300 300 300	Secuencia OK493747.1 OL470127.1 OK562793.1 OL469960.1 PQ608564.1 OL470132.1	GCGAGTTACTCTGAGAAATCAGAGTCTCAATACAGGTTGCTAGCTTGAATGATTGTG GCGAGTTACTCTGAGAAATCAGAGTCTCAATACAGGTTGCTAGCTTGAATGATTGTG GCGAGTTACTCTGAGAAATCAGAGTCTCAATACAGGTTGCTAGCTTGAATGATTGTG GCGAGTTACTCTGAGAAATCAGAGTCTCAATACAGGTTGCTAGCTTGAATGATTGTG GCGAGTTACTCTGAGAAATCAGAGTCTCAATACAGGTTGCTAGCTTGAATGATTGTG GCGAGTTACTCTGAGAAATCAGAGTCTCAATACAGGTTGCTAGCTTGAATGATTGTG *****	600 600 600 600 600 600 600	Secuencia OK493747.1 OL470127.1 OK562793.1 OL469960.1 PQ608564.1 OL470132.1	CATGGAATAAGAAAAGGATTTGGTCTCTTATGGTTTTGTGGACTGAGATAATGG CATGGAATAAGAAAAGGATTTGGTCTCTTATGGTTTTGTGGACTGAGATAATGG CATGGAATAAGAAAAGGATTTGGTCTCTTATGGTTTTGTGGACTGAGATAATGG CATGGAATAAGAAAAGGATTTGGTCTCTTATGGTTTTGTGGACTGAGATAATGG CATGGAATAAGAAAAGGATTTGGTCTCTTATGGTTTTGTGGACTGAGATAATGG CATGGAATAAGAAAAGGATTTGGTCTCTTATGGTTTTGTGGACTGAGATAATGG *****	720 720 720 720 720 720 720	Secuencia OK493747.1 OL470127.1 OK562793.1 OL469960.1 PQ608564.1 OL470132.1	TTAACAGGGAGAACGGGGGATTCTGATCCCTGCGTGGAGAGTGAATCTTGGAGC TTAACAGGGAGAACGGGGGATTCTGATCCCTGCGTGGAGAGTGAATCTTGGAGC TTAACAGGGAGAACGGGGGATTCTGATCCCTGCGTGGAGAGTGAATCTTGGAGC TTAACAGGGAGAACGGGGGATTCTGATCCCTGCGTGGAGAGTGAATCTTGGAGC TTAACAGGGAGAACGGGGGATTCTGATCCCTGCGTGGAGAGTGAATCTTGGAGC TTAACAGGGAGAACGGGGGATTCTGATCCCTGCGTGGAGAGTGAATCTTGGAGC *****	777 777 777 777 777 777 777
---	---	--	---	--	---	---	---	---	---	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Figura 2. Alineamiento múltiple entre la secuencia consenso del gen 18S ARNr de *Heterorhabditis indica* del norte de Perú y las secuencias con las que se obtuvo similitud. Los asteriscos (\*) indican coincidencias entre las bases nitrogenadas, y su ausencia variaciones en la secuencia.

**Filogenética**

El árbol filogenético construido mediante el método de máxima verosimilitud reveló relaciones evolutivas entre las secuencias analizadas. Como se aprecia en la figura 3, las secuencias se agruparon formando cinco clados donde la secuencia consenso de la cepa analizada se agrupa con OK493747.1 formando un grupo monofilético (clado IV). Así mismo, las secuencias OL470127.1 y OL469960.1 se agrupan formando otro grupo

monofilético (clado I), OL470132.1 el clado (II), PQ608564.1 el clado (III) y OK562793.1 el clado (V). Por otra parte, la hipótesis evolutiva muestra que el clado (V) es el más antiguo, y de él desciende el clado (IV) donde se encuentra la secuencia consenso de *Heterorhabditis indica* del norte de Perú con OK493747.1. Así mismo, se aprecia que los clados (I) y (II) comparten un nodo común que surge del clado (III), siendo descendientes que se emparentan con el clado (IV).

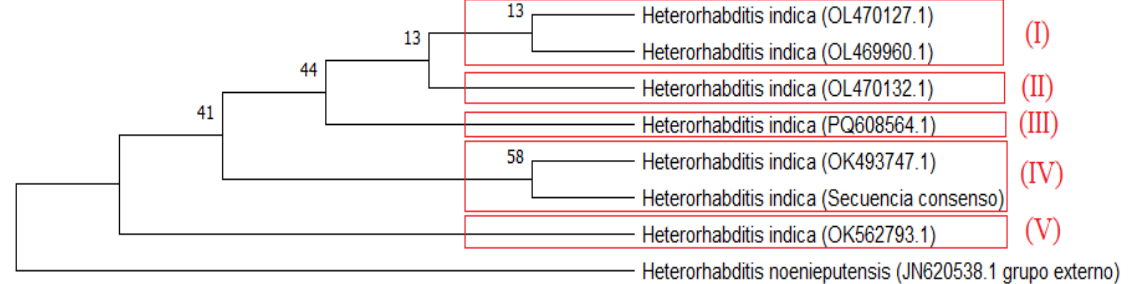


Figura 3. Árbol filogenético basado en el método de máxima verosimilitud y el modelo 3 parámetros de Tamura (1992) con un valor bootstrap de 800 réplicas, que muestran relación entre las secuencias del gen 18S ARNr del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis indica*.

Los resultados obtenidos en la filogenia muestran consistencia con observaciones previas de Malan, Knoetze & Tiedt (2014), quienes también reportaron la aparición de un grupo monofilético conformado por secuencias de *Heterorhabditis indica*. Sin embargo, en su caso, las secuencias utilizadas corresponden al espaciador interno transcrito (ITS) y a la región D2D3 del gen 28S del ADNr. Así mismo, Bhat et al. (2021), indican que el uso del gen ITS del ADNr en especies del género *Heterorhabditis* permite la identificación de clados monofiléticos, lo que facilita la inferencia de su clasificación taxonómica con mayor resolución. Según Rodríguez (2002), el gen 18S del ADNr ha sido ampliamente usado desde el punto de vista sistemático. Sin embargo, también se han utilizado otros genes para estudiar relaciones filogenéticas.

De acuerdo con Littlewood et al. (1998), la combinación de las secuencias completas del gen 18S con las parciales del 28S permiten un análisis filogenético de nematodos con la mayor resolución dado que integra información proveniente de diferentes regiones del ADNr. Por tanto, en base a la bibliografía consultada los resultados de la filogenia de *Heterorhabditis indica* aislado del norte de Perú pueden ser dilucidados. No obstante, aunque el gen 18S ARNr ha demostrado ser útil para la identificación taxonómica en este estudio, la comparación con otros marcadores como el ITS y el 28S sugiere que una combinación de genes ribosomales que puede ser más eficaz y precisa en la determinación de relaciones filogenéticas en especies de nematodos.

### CONCLUSIONES

La secuencia consenso de 851 bases del gen 18S ARNr del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis indica* aislado del norte de Perú exhibe características moleculares distintivas en comparación con las secuencias disponibles en el banco de genes del NCBI. Este hallazgo evidencia la existencia de un genotipo (C05HI) propio de *Heterorhabditis indica* para el norte de Perú, ya que no se han encontrado registros previos en la bibliografía nacional y en las bases de datos genéticas internacionales. Estos resultados, destacan la relevancia de aplicar técnicas

moleculares avanzadas para la asignación precisa de la identidad taxonómica y/o la identificación de genotipos circulantes según el marcador molecular empleado, facilitando el mapeo de la distribución geográfica de cepas de nematodos con propiedades entomopatógenas. Así mismo, esta información es relevante para la implementación de controladores biológicos y/o el desarrollo de estrategias innovadoras en el manejo y control integrado de plagas, promoviendo así la sostenibilidad de los sistemas agrícolas en Perú.

### AGRADECIMIENTOS

A la subdirección de recursos genéticos del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) por el apoyo brindado en el desarrollo del presente

estudio. A la Universidad Nacional de Piura, por proporcionar la secuencia de ADN analizada.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adrianzén, J. E. R., Dávila, R. S. C., Tesén, E. D. P., Arias, C. P. C., & Cabrera, A. C. (2024). Ecological aspects of three strains of entomopathogenic nematodes from the department of Lambayeque-Peru. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 34(1), 53.
- Amador, M., Molina, D., Guillen, C., Parajales, E., Jiménez, K., & Uribe, L. (2015). Utilización del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis atacamensis* CIA-NE07 en el control del picudo del banano *Cosmopolites sordidus* en condiciones in vitro. *Agronomía Costarricense*, 39(3), 47-60. <https://doi.org/10.15517/rac.v39i3.21791>
- Bautista, E. J., Mesa, L., & Gómez Alvarez, M. I. (2018). Alternativas de producción de bioplaguicidas microbianos a base de hongos: el caso de América Latina y El Caribe. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 585-604. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.04.15>
- Bhat, A. H., Chaubey, A. K., Shokoohi, E., & Machado, R. A. (2021). Molecular and phenotypic characterization of *Heterorhabditis indica* (Nematoda: Rhabditida) nematodes isolated during a survey of agricultural soils in Western Uttar Pradesh, India. *Acta Parasitologica*, 66, 236-252. <https://doi.org/10.1007/s11686-020-00279-y>
- Blaxter, M. L., De Ley, P., Garey, J., et al. (1998). A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature*, 392, 71-75. <https://doi.org/10.1038/32160>
- Cedano Saavedra, C. E. (2019). Nematodos entomopatógenos nativos para el control de ninfas de (*Proarna bergie*) en espárrago, Paiján, La Libertad [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio digital UNAM. <http://45.231.83.156/handle/20.500.12996/4247>
- Córdova-Campos, J., Calle-Ulfe, P. G., Suarez-Peña, E., Mendez-Farroñan, S., Lindo-Seminario, D. E., Calle, S. G., ... & Condemarín-Montealegre, C. (2023). Identification of effecting proteins by MALDI TOF/TOF mass spectrometry of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 26(1). <http://doi.org/10.56369/tsaes.4518>
- Correa-Núñez, G., & Rojas-Jaimes, J. (2022). Uso de plaguicidas no autorizados en alimentos agrícolas primarios, Perú (2011-2018). *Manglar*, 19(1), 61-65. <https://doi.org/10.17268/manglar.2022.008>
- Delgado-Oramas, B. P., Marquetti, I. G., Hernández, M. G. R., & Pérez, O. P. (2020). La resistencia inducida por productos derivados de plantas: alternativa para el manejo de plagas agrícolas. *Revista de Protección Vegetal*, 35(3).
- Elbaz, A., Clavel, J., Rathouz, P. J., Moisan, F., Galanaud, J. P., Delemotte, B., Alpérovitch, A., et al. (2009). Professional exposure to pesticides and Parkinson disease. *Annals of Neurology*, 66(4), 494-504. <https://doi.org/10.1002/ana.21717>
- Fernandez, M., Aznar, F. J., Raga, J. A., & Latorre, A. (2000). The origin of *Lecithodesmus* (Digenea: Campulidae) based on ND3 gene comparison. *Journal of Parasitology*, 86(4), 850-852. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2000\)086\[0850:TOOLDC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[0850:TOOLDC]2.0.CO;2)
- Floyd, R., Abebe, E., Papert, A., & Blaxter, M. (2002). Molecular barcodes for soil nematode identification. *Molecular Ecology*,

- 11(4), 839-850. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01485.x>
- Grifaldo-Alcantara, P. F., Alatorre-Rosas, R., Silva-Rojas, H. V., Stock, S. P., Hernández-Rosas, F., Vargas-Madriz, H., & Durán-Trujillo, Y. (2020). Caracterización molecular y morfométrica de *Heterorhabditis indica* (cepa CP13JA) aislado en el cultivo de caña de azúcar. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(2), 64.
- Gutiérrez, C. G., Villezcas, H. M. M., Pérez-Álvarez, S., & Mondaca, E. C. (2025). Formulación de hongos y nematodos entomopatógenos para el control de *Heliothis virescens* (Fabricius) en tomate. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 41, 17-25. <https://doi.org/10.20937/RICA.55086>
- Jaramillo-Pineda, J., Guerrero-Olazarán, M., Fuentes-Garibay, J. A., Viader-Salvadó, J. M., Meza-García, J. L., & Morales-Ramos, L. H. (2015). Identificación de especies de *Meloidogyne* utilizando la secuenciación de regiones espaciadoras transcritas internas de ADN ribosomal de estadios juveniles. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(1), 1-11.
- Kour, S., Khurma, U., Brodie, G., & Singh, S. (2022). Modeling the potential global distribution of suitable habitat for the biological control agent *Heterorhabditis indica*. *Ecology and Evolution*, 12(6), e8997. <https://doi.org/10.1002/ece3.8997>
- Littlewood, D. T. J., Rohde, K., & Clough, K. A. (1998). The phylogenetic position of *Udonella* (Platyhelminthes). *International Journal for Parasitology*, 28(8), 1241-1250. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(98\)00108-8](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00108-8)
- Malan, A., Knoetze, R., & Tiedt, L. R. (2014). *Heterorhabditis noenieputensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae), a new entomopathogenic nematode from South Africa. *Journal of Helminthology*, 88, 139-151. <https://doi.org/10.1017/S0022149X12000806>
- Okamoto, M., Bessho, Y., Kamiya, M., Kurosawa, T., & Horii, T. (1995). Phylogenetic relationships within *Taenia taeniaeformis* variants and other taeniid cestodes inferred from the nucleotide sequence of the cytochrome c oxidase subunit I gene. *Parasitology Research*, 81(6), 451-458. <https://doi.org/10.1007/bf00931785>
- Půža, V., & Tarasco, E. (2023). Interactions between entomopathogenic fungi and entomopathogenic nematodes. *Microorganisms*, 11(1), 163. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010163>
- Reffstrup, T. K., Larsen, J. C., & Meyer, O. (2009). Risk assessment of mixtures of pesticides: Current approaches and future strategies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 56, 174-192. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.09.013>
- Restrepo-García, A. M., Bernal-Arias, L., & Soto-Giraldo, A. (2022). *Eurhizococcus colombianus* Jakubski (1965) (Hemiptera: Margarodidae): Evaluación de su control biológico utilizando una mezcla de los nematodos entomopatógenos *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) y *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 26(1), 155-168. <https://doi.org/10.17151/bccm.2022.26.1.11>
- Rice, P. J., Horgan, B. P., & Rittenhouse, J. L. (2010). Evaluation of core cultivation practices to reduce ecological risk of pesticides in runoff from *Agrostis palustris*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(6), 1215-1223. <https://doi.org/10.1002/etc.179>
- Rodríguez, D., Torres, M., Uribe, L., & Flores, L. (2009). Susceptibilidad de los estadios L2 y L3 de *Phyllophaga elenans* a una cepa nativa de *Heterorhabditis* sp. en condiciones de invernadero. *Agronomía Costarricense*, 33(2), 171-182.
- Rodríguez, P. F. (2002). *Estudio faunístico y sistemático de helmintos de aves canarias* (Doctoral dissertation, Universidad de La Laguna, Canary Islands, Spain).
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Solis, V. M. T., Ramirez, Y. D. R. M., & Rodríguez, M. R. (2024). Agricultura de subsistencia en las zonas de influencia de las áreas naturales protegidas en Tamaulipas: Agricultura de subsistencia. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 11(2). <https://doi.org/10.60158/rma.v11i2.436>
- Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 678-687. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752>
- Torres, D., & Capote, T. (2004). Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosistemas*, 13(3).
- UN Human Rights Council. (2017). Report of the Special Rapporteur on the right to food, Olivier De Schutter. United Nation. <https://digitallibrary.un.org/record/766914?v=pdf>
- Valdés, M. D. C. C., Rodríguez, J. G., & Velásquez, E. P. (2014). Susceptibilidad de larvas y pupas de *Typophorus nigrifus* F. al nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis indica* Poinar. *Centro Agrícola*, 41(3), 23-28.
- Vergaray Ramírez, M. A. (2014). *Patogenicidad de nemátodos entomopatógenos del género Heterorhabditis* (Nematoda: Heterorhabditidae) sobre larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio.
- Vrain, T. C., Wakarchuk, D. A., Levesque, A. C., & Hamilton, R. I. (1992). Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphisms in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental and Applied Nematology*, 15, 563-574.