

Nematodos fitoparásitos asociados a raíces de plátano (*Musa acuminata* AA) en el centro de Veracruz, México

Plant parasitic nematodes associated to banana roots (*Musa acuminata* AA) in central Veracruz, México

Soledad Victoria Lara Posadas, Ángel Enrique Núñez Sánchez Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, Circuito Gonzálo Aguirre Beltrán S/N, Zona Universitaria, Xalapa, Veracruz, CP 91090, México; Daniel López-Lima, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario 100, Toluca, Estado de México, CP 50000, México; Gloria Carrión* Instituto de Ecología, A.C. Carretera antigua a Coatepec No. 351, Xalapa, Veracruz CP 91070 México. *Correspondencia: gloria.carrion@inecol.mx.

Recibido: 3 de Agosto, 2015.

Aceptado: 16 de Noviembre, 2015.

Lara-Posadas AV, Núñez-Sánchez AE, López-Lima D y Carrión G. 2016. Nematodos fitoparásitos asociados a raíces de plátano (*Musa acuminata* AA) en el centro de Veracruz, México. Revista Mexicana de Fitopatología 34: 116-130.

DOI: [10.18781/R.MEX.FIT.1507-7](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507-7)

Primera Publicación DOI: 26 de Noviembre, 2015.

First DOI published: November 26, 2015.

Resumen. Los nematodos fitoparásitos constituyen uno de los principales problemas fitosanitarios que afectan el cultivo de plátano a nivel mundial. En México este frutal es uno de los principales productos agrícolas y en el estado de Veracruz, la zona más importante de producción se ubica en los municipios de Atzalan y Tlapacoyan. En algunos cultivos de plátano de estos municipios se han detectado plantas con lesiones y engrosamientos en la raíz, síntomas inducidos por nematodos. Con la finalidad de determinar que nematodos estaban asociados a esta sintomatología, se colectaron raíces en seis plantaciones de los municipios Atzalan y Tlapacoyan durante el mes de abril de 2014.

Abstract. Plant parasitic nematodes are among the major phytosanitary problems affecting banana crops worldwide. In México, this fruit is one of the main agricultural products and in the state of Veracruz the most important production area is located in the Atzalan and Tlapacoyan municipalities. In some farms of these municipalities banana plants with lesions and galling of the root, symptoms caused by nematodes, have been detected. To determine which nematodes were associated with these symptoms, roots were collected in six plantations of Atzalan and Tlapacoyan municipalities in April 2014. Identification of nematodes was performed according to their morphological characteristics, and in the case of *Meloidogyne* species, specific molecular markers were used. The number of nematodes per 100 g root was also quantified. *Helicotylenchus* sp. *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne arenaria*, *Criconema* sp., *Helicotylenchus multicinctus* and *Radopholus similis* were detected involved in the affecting of root system. The last four are recorded for the first time in the Veracruz banana plantations.

La identificación de los nematodos se realizó de acuerdo a sus características morfológicas y en el caso de las especies de *Meloidogyne*, se utilizaron marcadores moleculares específicos. Asimismo se cuantificó el número de nematodos en 100 g de raíz. Se detectaron *Helicotylenchus* sp. *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne arenaria*, *Criconema* sp., *Helicotylenchus multicinctus* y *Radopholus similis* involucrados en la afectación del sistema radical. Los últimos cuatro se registran por primera vez en el cultivo de plátano en Veracruz.

Palabras clave: *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *Radopholus similis*, *Criconema* sp.

El cultivo de plátano es una actividad importante para México, se siembran más de 75 mil hectáreas, con un valor de la producción de más de 5 mil millones de pesos (SIAP, 2014). En el estado de Veracruz, la principal zona de producción de este cultivo es el distrito de Martínez de la Torre (SIAP, 2014). Durante los últimos cinco años en algunas plantaciones de plátano pertenecientes a este distrito se han registrado síntomas característicos de deficiencia de nutrimentos, además se ha observado poco desarrollo y necrosis del sistema radical, lo que ocasiona la caída de las plantas. Estos últimos síntomas se han asociado con los inducidos por nematodos fitoparásitos, sin embargo, no se han realizado estudios para detectar su presencia en esta importante zona productora. El objetivo del presente trabajo fue identificar las especies de nematodos fitoparásitos asociados a raíces de plátano (*Musa acuminata* Colla AA), sub grupo Pisang Mas con síntomas de afectación en los municipios de Atzalan y Tlapacoyan ubicados en la zona centro del Estado de Veracruz, México. Para el estudio se eligieron 3 plantaciones de plátano en cada municipio con reportes previos de afectaciones en la raíz (cuadro 1). En cada una de las plantaciones

Key words: *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *Radopholus similis*, *Criconema* sp.

Banana is an important crop in Mexico. It accounts for over 75,000 hectares with production estimated at more than 5000 million Mexican pesos (SIAP, 2014). In the Mexican state of Veracruz, the main banana production area is located in Martínez de la Torre District (SIAP, 2014). In the last five years, characteristic nutrient deficiency symptoms have been observed in some banana plantations in this District, as well as poor development and root necrosis, which causes plants to fall. The latter symptoms are associated to those caused by plant parasitic nematodes. However, no studies have been conducted to detect their presence in this important production area. This study aimed to identify plant parasitic nematodes associated with banana root (*Musa acuminata* Colla AA), subgroup Pisang Mas, showing infestation symptoms in the municipalities of Atzalan and Tlapacoyan, located in the central part of the state of Veracruz, Mexico. For this study, three banana plantations were selected in each municipality where root infestation has been reported (Table 1). At each plantation, five root samples (500 g) were collected (N=30) at 15-20 depth and 20-cm from the pseudo-stalk of the selected plants (Adriano-Anaya *et al.*, 2008).

Nematodes were extracted from 100 g of root using the maceration, flotation and centrifugation technique (van Bezooijen, 2006); they were fixed and cleared according to Seinhorst (1962) and then taxonomically classified and quantified. At the same time, females of the genus *Meloidogyne* were extracted by dissecting plant material (100 g of root) to make perineal cuts. *Meloidogyne* spp. eggs were also extracted from 200 g of root using the maceration in sodium hypochlorite (NaOCl), flotation and centrifugation technique. The extracted nematodes were kept in an ultrafreezer

se tomaron 5 muestras (N=30) de raíces (500 g) a una profundidad de 15 a 20 cm y a una distancia de 20 cm alrededor del pseudo tallo de las plantas seleccionadas (Adriano-Anaya *et al.*, 2008).

Los nematodos se extrajeron de 100 g de raíz mediante la técnica de maceración, flotación y centrifugación (van Bezooijen, 2006), se fijaron y aclararon de acuerdo a Seinhorst (1962) para posteriormente realizar la identificación taxonómica y la cuantificación. Paralelamente, hembras del género *Meloidogyne* se extrajeron con la técnica de disección del material vegetal (100 g de raíz) para realizar cortes perineales. Asimismo se extrajeron huevos de *Meloidogyne* spp. con el método de maceración en hipoclorito de sodio (NaOCl), flotación y centrifugación de 200 g de raíz, la extracción resultante se preservó en ultracongelador (Thermo Scientific) a -80 °C para la posterior extracción de ADN (Carneiro *et al.*, 2004). Los nematodos recuperados de la primera extracción se observaron y cuantificaron (100 gr raíz) en un microscopio óptico (Leica ICC50). Con el fin de identificar los nematodos, se eligieron los mejores especímenes adultos para realizar montajes (van Bezooijen, 2006) y seguir las claves taxonómicas especializadas para el orden Tylenchida (Siddiqi, 1973; Orton-Williams, 1973; Orton-Williams y Siddiqi, 1973; Orton-Williams, 1975; Siddiqi, 2000). Debido a la similitud en las características morfológicas de algunas especies de *Meloidogyne* (Carneiro y Cofcewicz 2008) se realizó también la determinación con marcadores moleculares específicos. Para esto se extrajo el ADN de los huevos y J2 previamente extraídos de la raíz y congelados siguiendo el protocolo de extracción de ADN del kit DNATissue and Insect MiniPrep Isolation Kit (Zymo Research) y se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando marcadores SCAR (secuencia caracterizada de la región amplificada) (Sigma-Aldrich) específicos para las cuatro especies de *Meloidogyne* más distribuidas

(Thermo Scientific) at -80 °C for subsequent DNA extraction (Carneiro *et al.*, 2004). Nematodes recovered from the first extraction were observed and quantified (100 g of root) under an optical microscope (Leica ICC50). To identify nematodes, the best adult specimens were selected for mounts (van Bezooijen, 2006) and according to the specialized taxonomic keys of the order of Tylenchida (Siddiqi, 1973; Orton-Williams, 1973; Orton-Williams y Siddiqi, 1973; Orton-Williams, 1975; Siddiqi, 2000). Given the similarity of morphological characteristics of some species of *Meloidogyne* (Carneiro and Cofcewicz 2008), were identified also using specific molecular markers. For this purpose, DNA was extracted from eggs and J2 previously extracted from roots and frozen using the DNA protocol from the DNA Tissue and Insect MiniPrep Isolation Kit (Zymo Research) to conduct a Polymerase Chain Reaction (PCR) test with SCAR markers (Sequence Characterized Amplified Region) (Sigma-Aldrich) specific to the four *Meloidogyne* species most widely distributed in banana plantations in Latin America: *M. arenaria* (F5'-TCGGCGATAGAGGTAAATGAC-3' and R5'-TCGGCGATAGACACTACAACT-3' 420 base pairs), *M. incognita* (F5'-GGGATGTGTAAATGCTCCTG-3' y R 5'-CCCGCTACACCCTCAACTTC-3' 399 pb), *M. javanica* (F5'-GGTGC GCGATTGAACTGAGC-3' and R 5'-CAGGCCCTTCAGTGGAACTATAC-3' 670 pb) and *M. paranaensis* (F 5'-GCCCCGACTCCATTTGACGGA-3' and R 5'-CCGTCCAGATCCATCGAAGTC-3' 208 pb) (Zijlstra *et al.*, 2000; Randig *et al.*, 2002). PCR tests were carried out in a final volume of 30 µL with 6.3 µL of sterile distilled H₂O, 6 µL of reaction buffer at 5X concentration (Promega), 3 µL of dNTP at 10 µM, 1.5 µL of MgCl₂ at 25 µM (Promega) 6 µL of the corresponding SCAR primer (10 µM), 0.2 µL

en el cultivo de plátano en Latinoamérica: *M. arenaria* (F5'-TCGGCGATAGAGGTAAATGAC-3' y R5'-TCGGCGATAGACACTACAACT-3' 420 pares de bases), *M. incognita* (F5'-GGGATGTGTAATGCTCCTG-3' y R 5'-CCCGCTACACCCTCAACTTC-3' 399 pb), *M. javanica* (F5'-GGTGCGCGATTGAACTGAGC-3' y R 5'-CAGGCCCTTCAGTGGA ACTATAC-3' 670 pb) y *M. paranaensis* (F 5'- GCCCGACTC-CATTTGACGGA-3' y R 5'-CCGTCCAGATC-CATCGAAGTC-3' 208 pb) (Zijlstra *et al.*, 2000; Randig *et al.*, 2002). Cada PCR se realizó en un volumen final de 30 μ L conteniendo 6.3 μ L de H₂O destilada estéril, 6 μ L de buffer de reacción a una concentración de 5X (Promega), 3 μ L de dNTP's a 10 μ M, 1.5 μ L de MgCl₂ a 25 μ M (Promega) 6 μ L de los primer SCAR correspondientes (10 μ M), 0.2 μ L de *Taq* polimerasa a 5 u/ μ L (Promega) y 1 μ L de ADN de cada población. Adicionalmente se preparó un PCR con ADN de *M. arenaria* y *M. incognita* proporcionado por el Instituto de Ecología, A.C. (INECOL) como control positivo y un PCR sin ADN como control negativo. La PCR se llevó a cabo en un termociclador (Applied Biosystems) con las siguientes condiciones de amplificación: 5 min a 94 °C, 30 ciclos de 30 s a 94 °C, 45 s a 64 °C, 1 min a 70 °C; y una extensión final de 8 min a 70 °C (Randig *et al.*, 2002). Los productos de la amplificación fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa al 2 % teñido con bromuro de etidio (0.02 %) y visualizados bajo luz UV.

La densidad de población de nematodos de diferentes géneros y especies en la misma localidad se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y la prueba de comparaciones múltiples ($p \leq 0.05$) utilizando el programa STATISTICA 8.0 para Windows.

En los seis sitios de muestreo, las plantas de plátano presentaron síntomas característicos de falta

de *Taq* polimerasa at 5 u/ μ L (Promega) and 1 μ L of DNA of each population. Additionally, a PCR was prepared using *M. arenaria* and *M. incognita* DNA provided by the Instituto de Ecología, A.C. (INECOL) (Ecology Institute, A.C.) as the positive check and a PCR without DNA as the negative check. The PCR was performed in a thermocycler (Applied Biosystems) under the following amplification conditions: 5 min at 94 °C, 30 cycles of 30 s at 94 °C, 45 s at 64 °C, 1 min at 70 °C; and a final extension of 8 min at 70 °C (Randig *et al.*, 2002). The amplification products were isolated using the gel electrophoresis method in a 2 % agarose gel stained with ethidium bromide (0.02 %) and observed under UV light.

The population density of different nematode genera and species from the same location were analyzed using the non-parametric tests Kruskal-Wallis and multiple comparison test ($p \leq 0.05$) using Windows STATISTICA 8.0 software.

At the six sampling sites, banana plants showed symptoms characteristic of lack of nutrients such as rickets (thin stalks), yellowing, water stress and low production or racemes with small bananas. Due to damage to the root system, some plants were found uprooting (Figure 1A), or about to fall over, and showed symptoms of necrosis in most of the roots and some corm areas (Gowen *et al.*, 2005). When the roots were analyzed in the laboratory, reddish lesions in the form of longitudinal lines, as well as necrosis, were observed in the epidermis (Figure 1B); these symptoms were consistent with infestation symptoms caused by nematodes of the genus *Helicotylenchus* (Orion *et al.*, 1999). Swelling and cracking (Figure 1C), as well as female and egg masses of *Meloidogyne* spp. (Figure 1D) were also found.

The identified nematodes were *Criconea* sp., *Helicotylenchus* sp., *Helicotylenchus multicinctus*, *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne incognita* and

de nutrimentos como raquitismo (tallos delgados), amarillamiento, estrés hídrico y poca producción o racimos con plátanos de menor tamaño. Debido a la afectación del sistema radical, algunas plantas se encontraron volcadas (Figura 1A) o a punto de caer, estas plantas presentaban necrosis en la mayoría de las raíces y en algunas partes del cormo (Gowen *et al.*, 2005). Al examinar las raíces en el laboratorio, se observaron lesiones rojizas en la epidermis en forma de líneas longitudinales y necrosis (Figura 1B), acordes con la sintomatología de nematodos del género *Helicotylenchus* (Orion *et al.*, 1999). Asimismo se encontraron abultamientos y agrietamientos (Figura 1C) y se pudieron observar hembras y masas de huevos correspondientes a *Meloidogyne* spp. (Figura 1D).

Los nematodos identificados fueron: *Cricone-ma* sp., *Helicotylenchus* sp., *Helicotylenchus multincinctus*, *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis* (Cuadro 1). El PCR utilizando los marcadores SCAR mostró que *M. arenaria* esta presente en cinco localidades y *M. incognita* esta presente en las seis localidades (Figura 2). *M. javanica* y *M. paranaensis* no fueron detectadas en las muestras analizadas. A continuación se hace una descripción de las características morfológicas observadas en los nematodos examinados:

Criconema sp. Hembras: Cutícula ornamentada, 39 a 44 anulaciones de 4-4.8 µm de largo desde la base, redondeadas, levemente dirigidas hacia atrás con una ligera proyección de 2.4-3.2 µm de largo en la parte terminal de cada anulación. De 343 a 571 µm de largo y 46.8 a 62.4 µm de ancho. Dos anulaciones cefálicas diferenciadas del cuerpo, la anulación anterior es mayor que la posterior. Estilete robusto de 70.2-78 µm de largo. Vulva localizada en el último cuarto del cuerpo, en la anulación 33. Labios de la vulva cerrados, de forma cónica

Radopholus similis (Table 1). The PCR performed using SCAR markers showed that *M. arenaria* is present in five localities, while *M. incognita* is present in the six locations (Figure 2). *M. javanica* and *M. paranaensis* were not detected in the analyzed samples. A description of the morphological features of the analyzed nematodes follows:

Criconema sp. Female: Ornamented cuticle, 39 to 44 annulations of 4-4.8 µm long from the base, rounded, slightly directed backwards with a slight projection of 2.4-3.2 µm long at the terminal part of each annulation. From 343 to 571 µm long and 46.8 to 62.4 µm long. Two differentiated cephalic annulations of the body; the former annulation is greater than the latter. Strong stylet 70.2-78 µm long. Vulva located in the last quarter of the body, in annulation 33. The lips of the vulva were closed, cone-shaped and protruded slightly from the contour of the body. Straight vagina, conical to rounded tail (Figure 3A and B).

Helicotylenchus sp. Female: Rolling or arching after having been fixed with formaldehyde, 398 to 671 µm long and 16 a 23 µm wide. Hemispherical labial region and slightly different from the rest of the body; 3 to 4 annulations. Style with prominent basal knobs 16 to 24 µm long. Median esophageal bulb oval-shaped (8 µm wide x 12 µm long) with a small valve apparatus in the center. Esophageal glands overlapping the intestine. Excretory pore near to the junction of the esophagus to the intestine. Well developed vulva, transversally depressed; it is located in the third quarter of the body length. Didelphic, symmetric ovaries and spermathecas (10 to 12 µm diameter). Short tail of the female, semispherical, dorsally convex, with ventral projection (mucron) (Figure 3E). Lateral fields with 4 incisures, around one quarter of the body width.

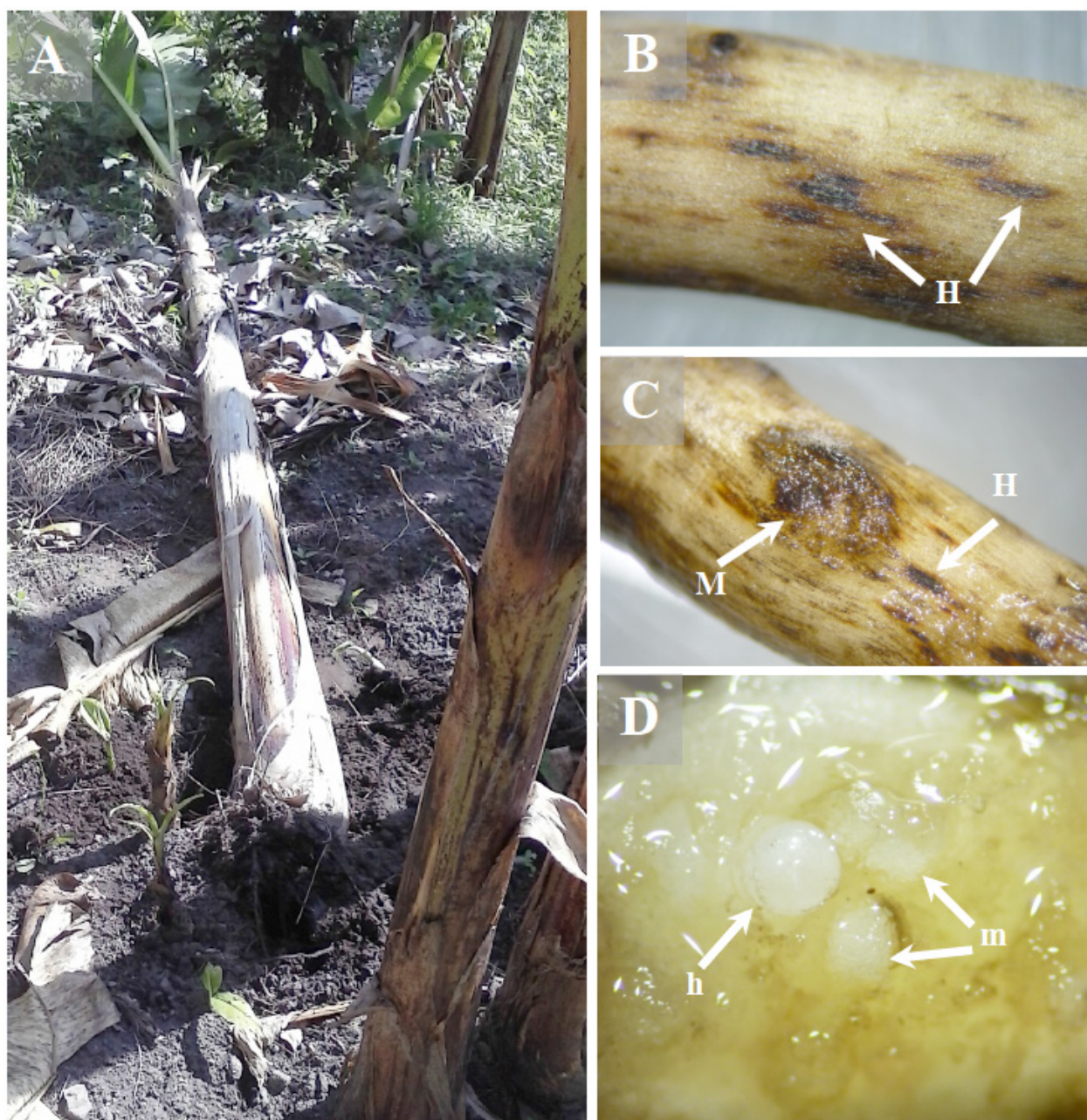


Figura 1. Síntomas de afectación por nematodos en las plantas de plátano A) Planta volcada por debilitamiento de la raíz, B) Lesiones causadas por *Helicotylenchus* spp. (H) en las raíces, C) Abultamiento y agrietamiento de la raíz causado por *Meloidogyne* spp. (M) y lesiones causadas por *Helicotylenchus* spp., D) Hembra (h) y masas de huevos (m) insertadas en las raíces de plátano.

Figure 1. Infestation symptoms caused by nematodes in banana plants A) Toppling and uprooting caused by root weakness, B) Root lesions caused by *Helicotylenchus* spp. (H), C) Root swelling and cracking caused by *Meloidogyne* spp. (M) and lesions caused by *Helicotylenchus* spp., D) Female (h) and egg masses (m) in banana roots.

Cuadro 1. Datos geográficos de los sitios de colecta y especies de nematodos identificados en las plantas de plátano (*Musa acuminata*).

Table 1. Geographical data of the collection sites and nematode species identified in banana plants (*Musa acuminata*).

Código	Municipio/localidad	Datos geográficos	Cultivo	Diagnóstico
P1	Atzalan/Cochota	19°57'22.01"N 97°11'6.01"O 440 msnm	Cultivo de plátano Dominico intercalado con café	<i>Helicotylenchus</i> sp., <i>Helicotylenchus multicinctus</i> , <i>Meloidogyne incognita</i>
P2	Atzalan/Valle Seco	19°57'1.97"N 97°11'35.33"O 386 msnm	Monocultivo comercial de plátano Dominico	<i>Helicotylenchus</i> sp., <i>Helicotylenchus multicinctus</i> , <i>Meloidogyne arenaria</i> , <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Radopholus similis</i>
P3	Atzalan/El Zapotal	19°57'59.49"N 97°10'35.83"O 330 msnm	Cultivo de plátano Dominico intercalado con café y cítricos	<i>Criconema</i> sp., <i>Helicotylenchus multicinctus</i> , <i>Helicotylenchus</i> sp., <i>Meloidogyne arenaria</i> , <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Radopholus similis</i>
P4	Tlapacoyan/Pochotitan	19°57'15.39"N 97°13'32.84"O 500 msnm	Cultivo de plátano Dominico intercalado con café y cítricos	<i>Criconema</i> sp., <i>Helicotylenchus</i> sp., <i>Helicotylenchus multicinctus</i> , <i>Meloidogyne arenaria</i> , <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Radopholus similis</i>
P5	Tlapacoyan/Platanozapa	19°57'0.49"N 97°14'2.48"O 820 msnm	Cultivo de plátano Dominico intercalado con café	<i>Helicotylenchus</i> sp., <i>Helicotylenchus multicinctus</i> , <i>Meloidogyne arenaria</i> , <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Radopholus similis</i>
P6	Tlapacoyan/Santa Cruz	19°56'38.43" N 97°12'58.18"O 520 msnm	Cultivo de plátano Dominico intercalado con café	<i>Helicotylenchus</i> sp., <i>Helicotylenchus multicinctus</i> , <i>Meloidogyne arenaria</i> , <i>Meloidogyne incognita</i>

* *Musa acuminata* AA Sub grupo Pisang Mas localmente llamado Dominico / *Musa acuminata* AA Sub grupo Pisang Mas locally called Dominico.

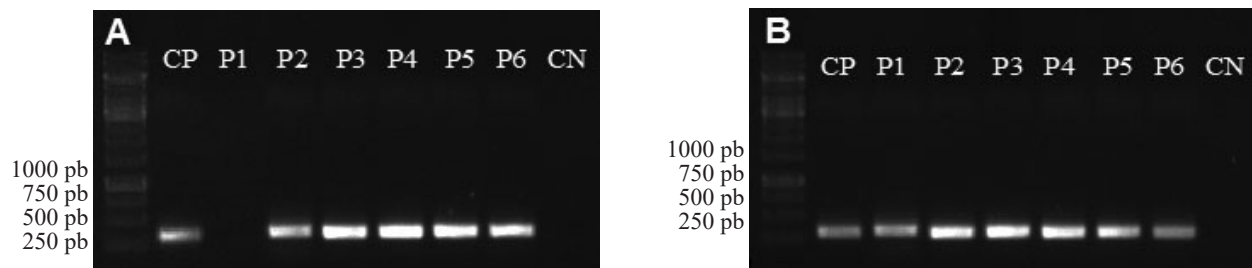


Figura 2. Pruebas de amplificación utilizando el marcador específico para A) *Meloidogyne arenaria* de 420 pares de bases (pb) y B) *M. incognita* de 399 pb en las seis poblaciones provenientes de raíz de *Musa acuminata*. Los números de las poblaciones indican el sitio de muestreo resumido en el cuadro 1. CP= control positivo con ADN de poblaciones de *M. arenaria* y *M. incognita* previamente identificadas. CN= control negativo para el PCR. Las franjas del lado izquierdo son el marcador de peso molecular GeneRuler 1kb (Thermo Scientific).

Figure 2. Amplification test using specific markers for A) 420 base pairs (pb) of *Meloidogyne arenaria* and B) 399 pb of *M. incognita* in the six populations using roots of *Musa acuminata*. The numbers of the populations suggest the sampling site summarized in Table 1. CP= positive check using DNA of *M. arenaria* and *M. incognita* populations previously identified. CN= negative check for PCR. The stripes on the left correspond to the molecular weight marker GeneRuler 1kb (Thermo Scientific).

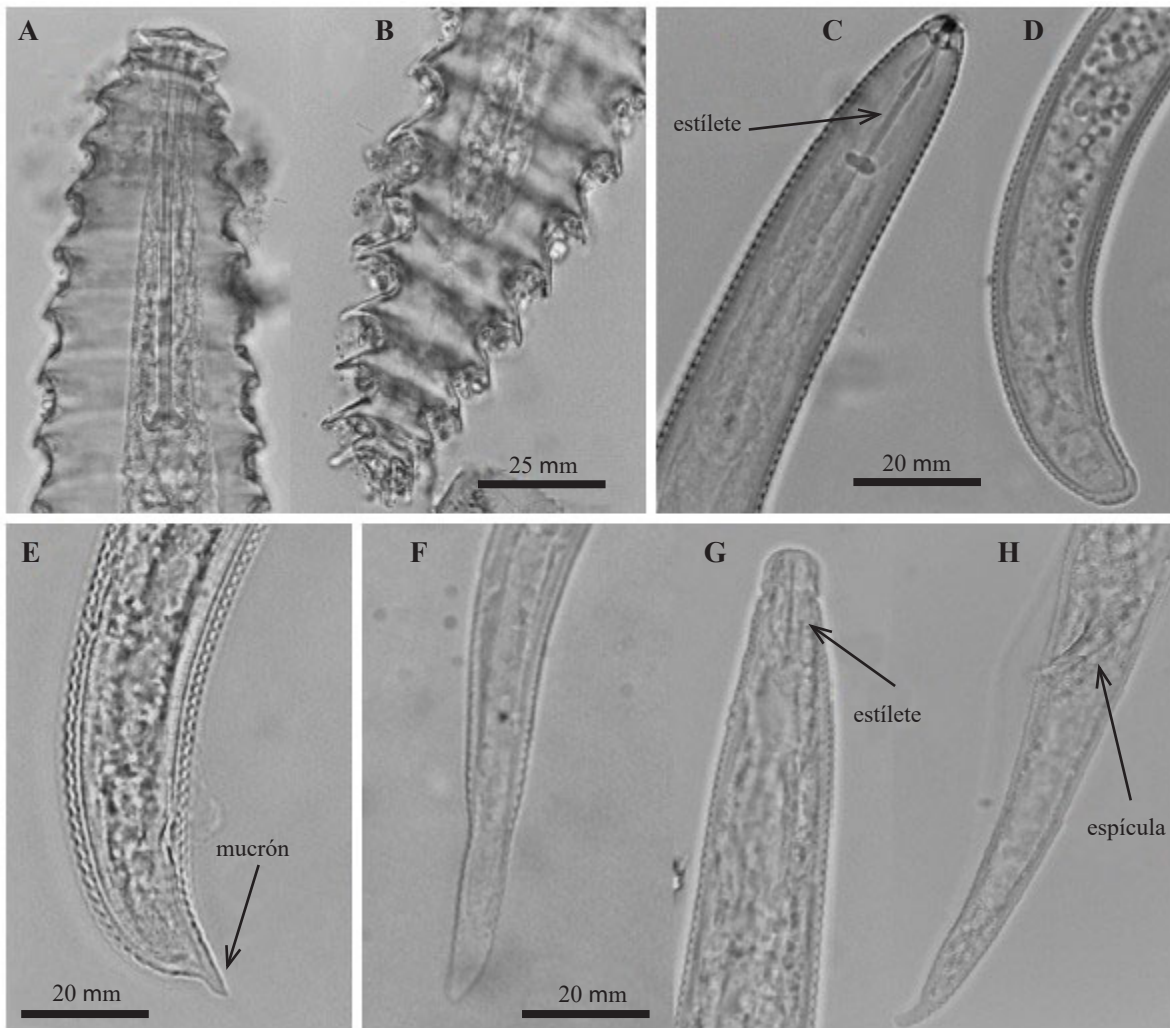


Figura 3. Fotografías al microscopio óptico de algunos especímenes examinados A) Región cefálica de hembra de *Criconema* sp., B) Cauda de hembra de *Criconema* sp., C) Región cefálica de hembra de *Helicotylenchus multinctus*, D) Cauda de hembra de *Helicotylenchus multinctus*, E) Cauda de hembra de *Helicotylenchus* sp. con proyección ventral (mucrón), F) Cauda de hembra de *Radopholus similis*, G) Región cefálica de macho de *Radopholus similis* donde se observa el estilete degenerado, H) Cauda de macho de *Radopholus similis*.

Figure 3. Photographs of some specimens observed under an optical microscope A) Cephalic region of a *Criconema* sp. female, B) Tail of a *Criconema* sp. female, C) Cephalic region of a *Helicotylenchus multinctus* female, D) Tail of a *Helicotylenchus multinctus* female, E) Tail of a *Helicotylenchus* sp. Female with ventral projection (mucron), F) Tail of a *Radopholus similis* female, G) Cephalic region of a *Radopholus similis* male where a degraded stylet can be seen, H) Tail of a *Radopholus similis* male.

que sobresalen ligeramente del contorno corporal. Vagina recta, cauda conoide a redondeada (Figura 3A y B).

Helicotylenchus sp. Hembras: Enrolladas o ar-

Helicotylenchus multinctus. Female: Arched after having been fixed with formaldehyde, 480 to 640 μm long and 16 to 20 μm wide. Stylet from 20 to 22 μm long with prominent basal knobs (Figure

queadas después de la fijación con formol, 398 a 671 μm de largo y 16 a 23 μm de ancho. Región labial semiesférica ligeramente diferenciada del resto del cuerpo, con 3 a 4 anulaciones. Estilete de 16 a 24 μm de largo con nódulos basales prominentes. Bulbo medio del esófago ovalado (8 μm de ancho por 12 μm de largo) con un pequeño aparato valvular en el centro. Glándula esofágica traslapada con el intestino. Poro excretor cerca de la unión del esófago con el intestino. Vulva bien desarrollada, deprimida trasversalmente, se encuentra en el tercer cuarto con relación a la longitud del cuerpo. Didelfico, ovarios y espermatecas simétricas (10 a 12 μm de diámetro). Cauda de la hembra corta, semiesférica, dorsalmente convexa, con proyección ventral (mucrón) (Figura 3E). Campos laterales con 4 incisuras, aproximadamente una cuarta parte del ancho del cuerpo.

Helicotylenchus multinctus. Hembras: Arqueadas después de la fijación con formol, de 480 a 640 μm de largo y 16 a 20 μm de ancho. Estilete de 20 a 22 μm de largo con nódulos basales prominentes (Figura 3C). Región labial semiesférica con 4 anulaciones. Bulbo medio del esófago ovalado (8 μm de ancho por 10 μm de largo) con un pequeño aparato valvular en el centro. Glándula esofágica traslapada con el extremo frontal del intestino. Poro excretor cerca de la unión del esófago con el intestino. Didelfico, ambas ramas de los órganos reproductores bien desarrolladas y funcionales. Ovarios simétricos, espermatecas redondeadas, con un diámetro de 10 μm . Vulva prominente, ligeramente deprimida trasversalmente, se encuentra en el tercer cuarto con relación a la longitud del cuerpo. Cauda de la hembra corta, semiesférica, dorsalmente convexa, sin proyección ventral o terminal (Figura 3D). Campos laterales con 4 incisuras no areoladas, aproximadamente una cuarta parte del ancho del cuerpo. Machos: de 460 a 686 μm de largo por 16 a 20 μm de ancho. Estilete de 18 a 20 μm de lar-

3C). Semispherical labial region with 4 annulations. Median esophageal bulb oval-shaped (8 μm wide x 10 μm long) with a small valvular apparatus in the center. Esophageal gland overlapping intestine. Excretory pore near to the junction of the esophagus to the intestine. Didelphic, both branches of the reproduction organs well developed and functional. Symmetric ovaries, rounded spermathecas, 10 μm diameter. Vulva prominent, slightly depressed transversally; it is located in the third quarter in relation to the body length. Short tail, semispherical, dorsally convex, without ventral or terminal projection (Figure 3D). Lateral fields with 4 non-areolated incisures, around one quarter of the body width. Male: 460 to 686 μm long x 16 to 20 μm wide. Stylet 18 to 20 μm long. Spicule from 18 to 22 μm long, gubernaculum from 4 to 6 μm . Tail with conical termination and ventral-hyaline projection.

Radopholus similis. Female: Wormlike, 530 to 772 μm long, and 15 to 31 μm wide in the middle. Slightly ringed cuticle. Rounded labial region with 3 to 4 annules. Stylet from 12 to 14 μm long with well-developed basal knobs. Well developed median bulb, oval, from 10 to 12 μm diameter. Well developed valvular apparatus. Esophageal glands overlapping intestine dorsally. Vulva prominent, slightly below in the middle of the body. Didelphic, two functional reproductive organs. Spherical spermathecas. Elongated, cone-shaped tail with an oval-shaped ending (Figure 3F). Lateral fields with 4 non-aerolated incisures. Male: Wormlike slightly ventrally arched, 515 to 632 μm long and 16 to 23 μm wide. Labial region well defined from the rest of the body with 4 or 5 annulations and raised from 4 to 6 μm . Esophagus and stylet degenerated, without visible basal knobs (Figure 3G). Median bulb and valvular apparatus indistinct. Strong spicule from 18 to 20 μm long (Figure 3H). Enlarged gubernaculum from 8 to 10 μm long and pointed at the back end.

go. Espícula de 18 a 22 μm de largo, gubernaculum de 4 a 6 μm . Cola con terminación cónica con una proyección ventral hialina.

Radopholus similis. Hembras: Vermiformes, de 530 a 772 μm de largo y 15 a 31 μm de ancho en la parte media. Cutícula ligeramente anillada. Región labial redondeada de 3 a 4 anulaciones. Estilete de 12 a 14 μm de largo con nódulos basales bien desarrollados. Bulbo medio bien desarrollado, ovalado de 10 a 12 μm de diámetro. Aparato valvular bien desarrollado. Glándulas esofágicas traslapadas dorsalmente sobre el intestino. Vulva prominente, ligeramente debajo de la mitad del cuerpo. Didélfico, dos órganos reproductores funcionales. Espermatecas esféricas. Cola en forma de cono elongado con terminación ovalada (Figura 3F). Campos laterales con 4 incisuras no areolados. Macho: Vermiformes ligeramente arqueado ventralmente, de 515 a 632 μm de largo y 16 a 23 μm de ancho. Región labial bien definida del resto del cuerpo con 4 o 5 anulaciones y elevada de 4 a 6 μm . Esófago y estilete degenerado sin nódulos basales visibles (Figura 3G). No se logran apreciar el bulbo medio y aparato valvular. Espícula fuerte de 18 a 20 μm de largo (Fig. 3H). Gubernáculo alargado de 8 a 10 μm de largo afilado en la parte anterior.

Meloidogyne arenaria. Hembra: Blanca, cuerpo en forma de pera, 510-1000 μm de largo y 400-600 μm de ancho. Cuello con forma cónica. Estilete robusto, 14 - 16 μm de largo. Orificio de la glándula dorsal esofágica en la base del estilete. El patrón perineal tiene un arco dorsal bajo y redondeado, comprimido dorso-lateralmente, con estrías separadas, onduladas y lisas (Figura 4A).

Meloidogyne incognita. Hembra: Blanca, cuerpo esférico de cuello corto de 500 a 723 μm de largo y 331 a 520 μm de ancho. Estilete de 12 a 15 μm de largo. Vulva con forma alargada, orientada transversalmente en el centro del cuerpo. El patrón perineal presenta forma de pera con un arco dorsal alto

Meloidogyne arenaria. Female: White, pear-shaped body, 510-1000 μm long and 400-600 μm wide. Conical neck. A strong 14 to 16 μm long stylet. Dorsal esophageal gland opening at the base of the stylet. The perineal pattern has a depressed and rounded dorsal arch, dorsal-laterally compressed, with undulated and smooth separated marks. (Figure 4A).

Meloidogyne incognita. Female: White, spherical body with 500 to 723 μm long short neck and 331 to 520 μm wide. A 12 to 15 μm long stylet. Elongated vulva transversally oriented at the center of the body. Pear-shaped perineal pattern with a high and trapezoidal arch formed by closely-spaced marks, relatively thick, smooth, and slightly undulated or in zigzag (Figure 4B).

The nematode genera found are similar to the ones reported in *Musa* spp. plants in different countries, though the number of species found was low compared to those found in other studies (Kamira *et al.*, 2013; Chitamba *et al.*, 2013; Lima *et al.*, 2013). Also, *Helicotylenchus* spp., *Meloidogyne* spp. and *Radopholus similis* found in banana correspond to genera previously reported in Mexico (Montes-Belmont, 2000; Cid del Prado-Vera *et al.*, 2001; Adriano-Anaya *et al.*, 2008; López-Lima *et al.*, 2015). This is the first time *Criconeema* sp., *Helicotylenchus multicinctus*, *M. arenaria* and *Radopholus similis* have been reported in banana crops in Veracruz. *Helicotylenchus microcephalus*, *Meloidogyne incognita*, *M. paranaensis* and *Tylenchus* spp. (Montes-Belmont 2000; López-Lima *et al.*, 2015) were reported in previous studies.

Helicotylenchus sp. and *Helicotylenchus multicinctus* were present in all the sampling sites and were the most abundant (Table 2). These nematode genera, in particular *H. multicinctus* and *H. dihystra* species, are considered a strong constraint for banana crops worldwide (Das *et al.*, 2014), though *H. dihystra* was not found in this

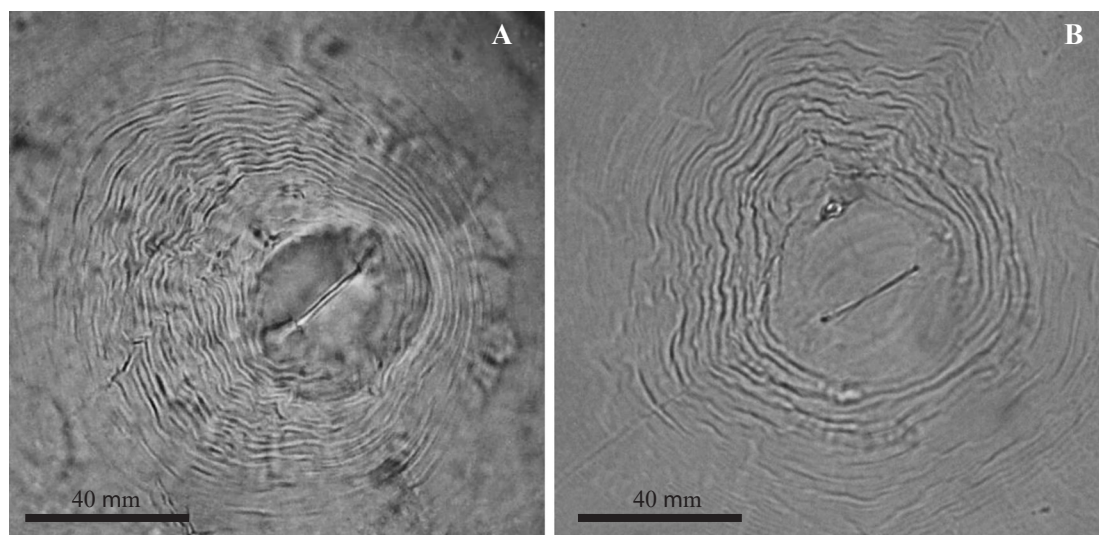


Figura 4. Fotografías al microscopio óptico de los patrones perineales de las hembras de *Meloidogyne* spp., A) *M. arenaria*, B) *M. incognita*.

Figure 4. Photographs of perineal patterns of *Meloidogyne* spp., A) *M. arenaria*, B) *M. incognita* females.

y trapezoidal, formado por estrías poco espaciadas, relativamente gruesas, lisas, levemente onduladas o en forma de zig-zag (Figura 4B).

Los géneros de nematodos encontrados coinciden con los registrados en plantas de *Musa* spp. en diversos países, aunque el número de especies encontradas es bajo en comparación con otros estudios (Kamira *et al.*, 2013; Chitamba *et al.*, 2013; Lima *et al.*, 2013). Asimismo, la identificación de *Helicotylenchus* spp., *Meloidogyne* spp. y *Radopholus similis* sobre plátano coinciden con lo reportado anteriormente para México (Montes-Belmont, 2000; Cid del Prado-Vera *et al.*, 2001; Adriano-Anaya *et al.*, 2008; López-Lima *et al.*, 2015). Es el primer registro de *Criconea* sp., *Helicotylenchus multicinctus*, *M. arenaria* y *Radopholus similis* en el cultivo de plátano en Veracruz. En trabajos anteriores se registró a *Helicotylenchus microcephalus*, *Meloidogyne incognita*, *M. paranaensis* y *Tylenchus* spp. (Montes-Belmont 2000; López-Lima *et*

study. The two species of root-knot (galling of the root) nematodes found in this study are the most widely distributed in banana crops (Cofcewicz *et al.*, 2005). Recently, *M. incognita* was detected in banana root associated with *M. paranaensis* in a location near the study area in the municipality of Atzalan (López-Lima *et al.*, 2015). However, during the PCR test no amplification of this species was detected. The presence of *Helicotylenchus multicinctus* populations associated with *M. arenaria* and *M. incognita* populations may represent a risk for banana production in this area, as it has happened in other sites where the two nematode genera have caused serious damages to banana crops (Brentu *et al.*, 2004; Subbotin *et al.*, 2011).

The most harmful and widely distributed plant parasitic nematode in banana roots is *Radopholus similis* (Chabrier and Queneherve, 2003; Quénéhervé *et al.*, 2011), which was found

al., 2015).

En todos los sitios de muestreo se encontraron a *Helicotylenchus* sp. y *Helicotylenchus multicinctus*, los cuales fueron los más abundantes (Cuadro 2). Este género de nematodo, en particular las especies *H. multicinctus* y *H. dihystra* se consideran una fuerte limitante para el cultivo de plátano en diversas partes del mundo (Das *et al.*, 2014), aunque *H. dihystra* no se encontró en este estudio. Las dos especies de nematodos agalladores encontradas en este estudio son las más distribuidas en los cultivos de plátano (Cofcewicz *et al.*, 2005). Recientemente *M. incognita* fue registrada en raíces de plátano en asociación a *M. paranaensis* en una localidad cercana a la zona de estudio en el municipio de Atzalan (López-Lima *et al.*, 2015), sin embargo en el PCR no se detectó amplificación para esta especie. La presencia de poblaciones de *Helicotylenchus multicinctus* en asociación con poblaciones de *M. arenaria* y *M. incognita* pueden representar un riesgo para la producción del plátano en esta zona,

in four out of six of the study sites, though in small populations. This may be due to the origin and variety of banana plants in this area (*Musa acuminata* AA subgroup Pisang Mas). This statement is based on the findings that show that many diploid accessions, such as the studied plants, are less susceptible to *R. similis* (Quénéhervé *et al.*, 2009). Also, the temperature rank in the study area (14-26 °C) is low for the optimal development of *R. similis* (24-32 °C) (Pinochet *et al.*, 1995; Gowen *et al.*, 2005) and can contribute to a higher presence of *Helicotylenchus* and *Meloidogyne*. In the production area of Chiapas, Mexico, *R. similis* has been reported to be the dominant nematode over *Musa* AAA from the Cavendish subgroup (Adriano-Anaya *et al.*, 2008).

The population density of endoparasitic nematodes found in roots was relatively low (Table 2) compared to those reported in other studies conducted in the state of Chiapas, which have found densities of more than 10,000 individuals

Cuadro 2. Número de nematodos fitoparásitos encontrados en 100 g de raíz ± desviación estandar.

Table 2. Number of plant parasitic nematodes found in 100 g of root tissue ± standard deviation.

Municipio/localidad	<i>Criconea</i> sp.	<i>Helicotylenchus</i> sp.	<i>Helicotylenchus multicinctus</i>	J2 <i>Meloidogyne</i> spp.	<i>Radopholus similis</i>	Total	Estadístico [§]
Atzalan/Cochota	--	428±238a	81±133b	80±85ab	--	589	H=7.44 p= 0.02
Atzalan/Valle Seco	--	140±84a	10±1b	50±4ab	14±11b	214	H=15.05 p=0.001
Atzalan/El Zapotal	1±1c	890±80a	369±311ab	629±674ab	6±6bc	1,895	H=18.84 p=0.0008
Tlapacoyan/Pochotitan	1±1b	355±323a	30±24ab	23±29ab	40±48ab	449	H=16.38 p= 0.002
Tlapacoyan/Platanozapan	--	167±183	72±90	18±23	15±27	272	H=6.34 p= 0.09
Tlapacoyan/Santa Cruz	--	98±84a	17±14ab	11±12b	--	126	H=6.77 p= 0.03

Los valores representan el promedio de cinco muestras en cada sitio de colecta. §= Prueba de Kruskal-Wallis (H). Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas entre géneros y especies de nematodos con la prueba de comparaciones múltiples (p≤0.05) / Values represent the average of five samples at each collection site. §=Kruskal-Wallis (H). Different letters in columns indicate significant differences between genera and species of nematodes with multiple comparisons test (p≤0.05).

como ha ocurrido en otros lugares donde estos dos géneros de nematodos causa fuertes daños al cultivo (Brentu *et al.*, 2004; Subbotin *et al.*, 2011).

El nematodo parásito más perjudicial y distribuido en el mundo en raíces de plátano es *Radopholus similis* (Chabrier y Queneherve, 2003; Quénéhervé *et al.*, 2011), este se encontró en cuatro de los seis sitios examinados, aunque en bajas poblaciones, esto puede deberse al origen y la variedad de las plantas cultivadas en esta zona (*Musa acuminata* AA subgrupo Pisang Mas) ya que se ha demostrado que muchas accesiones diploides como las plantas estudiadas en este trabajo, son menos susceptibles a *R. similis* (Quénéhervé *et al.*, 2009). Asimismo el rango de temperaturas de la zona de estudio (14-26 °C) es bajo para el óptimo desarrollo de *R. similis* (24-32 °C) (Pinochet *et al.*, 1995; Gowen *et al.*, 2005) lo que puede influir en la mayor presencia de *Helicotylenchus* y *Meloidogyne*. En la zona de producción en Chiapas, México *R. similis* se ha registrado como el nematodo dominante sobre *Musa* AAA del sub grupo Cavendish (Adriano-Anaya *et al.*, 2008).

La densidad de población de los nematodos endoparásitos encontrados en las raíces fue relativamente baja (Cuadro 2) en comparación con otros estudios realizados en el estado de Chiapas donde han alcanzado densidades mayores a 10,000 individuos en 100 g de raíz (Adriano-Anaya *et al.*, 2008). Los pocos ejemplares encontrados de *Criconea* sp., puede deberse a que es un nematodo ectoparasito, por lo que su ciclo de vida se desarrolla fuera de la raíz (Yeates *et al.*, 1993). Las especies de *Helicotylenchus* fueron las más abundantes en todos los sitios de estudio y su población fue significamente mayor a la población de *Radopholus similis* debido, a que su población fue baja en las cuatro localidades donde se encontró. La densidad de población de J2 de *Meloidogyne* spp. fue baja en todas las localidades con excepción de El Zapo-

in 100 g of roots (Adriano-Anaya *et al.*, 2008). The reason that few *Criconea* sp. nematodes were found could be that they are ectoparasitic nematodes whose life cycle takes place outside of the root (Yeates *et al.*, 1993). The *Helicotylenchus* species were the most abundant in all the study sites and their population was significantly higher than the *Radopholus similis* population it was lower in the four locations where it was found. The population density of *Meloidogyne* spp. J2 was low in all locations except El Zapotal, where the highest total number of nematodes was found. This could be because El Zapotal is located at the lowest altitude over sea level and weather conditions there may be more favorable for nematode reproduction. However, it is necessary to conduct studies on various aspects related to population dynamics and its influence on production.

Symptoms observed in the banana plants from the municipalities of Atzalan and Tlapacoyan are caused by plant parasitic nematodes, which are reported for the first time in the main production area in the state of Veracruz. Genera of nematodes causing the greatest damage worldwide were recorded. The information from this study is instrumental to implement control measures and prevent the spread of these plant parasitic nematodes to other areas, since banana spreading takes places through vegetative propagation. It is necessary to conduct studies to quantify the economic damage caused by these nematodes to banana crops, including studies at the field level to test control strategies.

Acknowledgements.

This study is part of the outputs of the project 000174936 funded by CONACYT and the Secretariat of Economy. We would like to thank Bertha Pérez Hernández for her advice on molecular techniques. Finally, thanks to the banana producers who allowed us to take samples from their plantations.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

tal. En esta localidad se encontró el mayor número de nematodos totales, esto podría deberse a que es la localidad ubicada a menor altitud sobre el nivel del mar, y las condiciones climáticas podrían ser más favorables para su reproducción. Sin embargo es necesario realizar estudios sobre varios aspectos relacionados a la dinámica poblacional y su influencia en la producción.

Los síntomas observados en las plantas de plátano estudiadas de los municipios de Atzacan y Tlapacoyan son causados por nematodos fitoparásitos, los cuales se reportan por primera vez en la principal zona de producción de este cultivo en el Estado de Veracruz. Se registraron los géneros de nematodos que a nivel mundial causan los mayores daños al cultivo. La información generada en este trabajo es básica para iniciar acciones de control y evitar la dispersión de estos fitoparásitos a otras áreas, ya que la propagación del plátano se hace de manera vegetativa. Es necesario realizar estudios donde se cuantifique el daño económico causado por estos nematodos al cultivo de plátano, y donde se realicen estudios a nivel de campo para probar estrategias de control.

#### Agradecimientos

Este estudio es parte de los resultados del proyecto 000174936 financiado por el Fondo Sectorial de Innovación (FINNOVA) del CONACyT y la Secretaría de Economía. Agradecemos a Bertha Pérez Hernández por su asesoramiento en las realización de las técnicas moleculares. Por último agradecemos a los productores de plátano que permitieron tomar las muestras en sus plantaciones.

## LITERATURA CITADA

Adriano-Anaya ML, Herrera-López D, Albores-Flores V, Salvador-Figueroa M y Velasco-Zebadua ME. 2008. Nematodos endorrizosféricos del banano (*Musa* AAA sub grupo Cavendish) clon "grande naine" en el Soconusco, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26:147-152.

Disponible en línea:

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61226207>

- Brentu CF, Speijer PR, Green KR, Hemeng BMS, De Waele D and Coyne DL. 2004. Micro-plot evaluation of the yield reduction potential of *Pratylenchus coffeae*, *Helicotylenchus multicinctus* and *Meloidogyne javanica* on plantain cv. Apantu-pa (*Musa* spp., AAB-group) in Ghana. *Nematology*. <http://dx.doi.org/10.1163/1568541042360537>
- Carneiro RMDG, Tigano MS, Randing O, Almeida MRA and Sarah JL. 2004. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. *Nematology* 2:287-298. <http://dx.doi.org/10.1163/1568541041217942>
- Carneiro RMDG and Cofcewicz E. 2008. Taxonomy of coffee-parasitic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. Pp: 87-122. In: Souza R. (ed.). *Plant-parasitic nematodes of coffee*. Springer. Netherlands. 340p. Disponible en línea: [http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4020-8720-2\\_6](http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4020-8720-2_6)
- Cofcewicz ET, Carneiro RMDG, Randig O, Chabrier C and Quénéhervé P. 2005. Diversity of *Meloidogyne* spp. on *Musa* in Martinique, Guadalupe, and French Guiana. *Journal of Nematology* 3:313-322. Disponible en línea: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620976/>
- Chabrier C and Quénéhervé P. 2003. Control of the burrowing nematode (*Radopholus similis* Coob) on banana: impact of the banana field destruction method on the efficiency of the following fallow. *Crop Protection*. [http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194\(02\)00121-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00121-7)
- Chitamba J, Manjeru P, Chinheya CC, Mudada N and Handiseni M. 2013. Plant-parasitic nematodes associated with banana (*Musa* spp.) in Rusitu Valley, Zimbabwe. *Nematropica* 43:113-118. Disponible en línea: <http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/82440>
- Cid del Prado-Vera I, Tovar-Soto A y Hernández JA. 2001. Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 1:32-39. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219105>
- Das SC, Balamohan TN, Poornima K, Velalazan R and Seenivasan N. 2014. Breeding and evaluation of *Musa* hybrids to the spiral nematode, *Helicotylenchus multicinctus*. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. <http://dx.doi.org/10.5958/j.0975-6906.74.1.008>
- Gowen SR, Quénéhervé P, and Fogain R. 2005. Nematode parasites of bananas and plantains. Pp: 611-643. In: Luc M, Sikora RA, and Bridge J. (eds.). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. CAB International. UK. 917p.
- Kamira M, Hauser S, van Asten P, Coyne D and Talwana HL. 2013. Plant parasitic nematodes associated with banana and plantain in eastern and western Democratic Republic of Congo. *Nematropica* 2:215-225. Disponible en línea: <http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/82710>
- Lima RS, Muniz MFS, Castro JMC, Oliveira ERL, Oliveira PG, Siqueira KMS, Machado ACZ and Costa JG. 2013. Frequencies and population densities of the major phytonematodes associated with banana in the state of Alagoas, Brazil. *Nematropica* 43:186-193. Disponible en línea: <http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/82707>
- López-Lima D, Sánchez-Nava P, Carrion G, Espinosa de los



- Monteros A and Villain L. 2015. Corky-root symptoms for coffee in central Veracruz are linked to the root-knot nematode *Meloidogyne paranaensis*, a new report for Mexico. *European Journal of Plant Pathology*.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10658-014-0564-9>
- Montes-Belmont R. 2000. *Nematología vegetal en México*. Segunda edición. Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. México. 158p.
- Orion D, Levy Y, Israeli Y and Fischer E. 1999. Scanning electron microscope observations on spiral nematode (*Helicotylenchus multicinctus*) infested banana roots. *Nematropica* 29:179-183. Disponible en línea:  
<http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/64247>
- Orton-Williams KJ. 1973. *Meloidogyne incognita*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic nematodes, Set 2 No. 18.
- Orton-Williams KJ. 1975. *Meloidogyne arenaria*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic nematodes, Set 5 No. 62.
- Orton-Williams KJ and Siddiqi MR. 1973. *Radopholus similis*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic nematodes, Set 2 No. 27.
- Pinochet J, Fernandez C and Sarah JL. 1995. Influence of temperature on in vitro reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi*, and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology* 18:391-392.
- Quénéhervé P, Valette C, Topart P, Tezenas-du Montcel H and Salmon F. 2009. Nematode resistance in bananas: screening results on some wild and cultivated accessions of *Musa* spp. *Euphytica*.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10681-008-9773-7>
- Quénéhervé P, Barrière V, Salmon F, Houdin F, Achard R, Gertrude JC, Marie-Luce S, Chabrier C, Duyck PF and Tixier P. 2011. Effect of banana crop mixtures on the plant-feeding nematode community. *Applied Soil Ecology*.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.07.003>
- Randig O, Bongiovanni M, Carneiro RMDG and Castagnone-Sereno P. 2002. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. *Genome*.  
<http://dx.doi.org/10.1139%2Fg02-054>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2014) Producción Nacional de plátano. Disponible en línea: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Siddiqi MR. 1973. *Helicotylenchus multicinctus*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic nematodes, Set 2 No. 23.
- Siddiqi MR. 2000. *Tylenchida: Parasites of Plants and Insects*. CAB International. United Kingdom 848p.
- Seinhorst JW. 1962. On the killing, fixation and transferring to glycerin of nematodes. *Nematologica*.  
<http://dx.doi.org/10.1163/187529262X00981>
- Subbotin SA, Inserra RN, Marais M, Mullin P, Powers TO, Roberts PA, Van Den Berg E, Yeates GW and Baldwin JG. 2011. Diversity and phylogenetic relationships within the spiral nematodes of *Helicotylenchus* Steiner, 1945 (Tylenchida: Hoplolaimidae) as inferred from analysis of the D2-D3 expansion segments of 285 rRNA gene sequences. *Nematology*. <http://dx.doi.org/10.1163/138855410X520936>
- van Bezooijen J. 2006. *Methods and techniques for nematology*. Wageningen University, The Netherlands. 112p. Disponible en línea: <https://www.wageningenur.nl/en/show/Manual-Methods-and-Techniques-for-nematology-1.htm>
- Yeates GW, Bongers T, De Goede RGM, Freckman DW, and Georgieva SS. 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera—an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology* 25:315-331. Disponible en línea: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2619405/>
- Zijlstra C, Donkers-Venne DTHM, Fargette M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified region (SCAR) based PCR assays. *Nematology*.  
<http://dx.doi.org/10.1163/156854100750112798>