

Distribution, life cycle and histological changes by *Heterodera* sp. in carrot in Puebla

Distribución, ciclo de vida y alteraciones histológicas de *Heterodera* sp. en zanahoria, en Puebla

Ilia Mariana Escobar-Avila, María Gabriela Medina-Canales, Alejandro Tovar-Soto*, Departamento de Parasitología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Plan de Ayala y Carpio s/n, Colonia Casco de Santo Tomás, Delegación Miguel Hidalgo, CDMX, C.P. 11340. *Autor para correspondencia: alejandrotovars@hotmail.com.

Recibido: 30 de Junio, 2016.

Aceptado: 06 de Diciembre, 2016.

Escobar-Avila IM, Medina-Canales MG, Tovar-Soto A. 2017. Distribution, life cycle and histological changes by *Heterodera* sp. in carrot in Puebla. Revista Mexicana de Fitopatología 35: 304-313.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1606-7.

Primera publicación DOI: 13 de Febrero, 2017.

First DOI publication: February 13, 2017.

Resumen. En el 2009 se encontró en el Valle de Tepeaca, Puebla, un nematodo formador de quistes del género *Heterodera* asociado a zanahoria. A la fecha se desconoce la distribución en algunos municipios productores, su ciclo de vida y las alteraciones histológicas en las raíces de plantas infectadas. Durante 2008 a 2016 se muestrearon 28 parcelas con zanahoria de seis municipios del Valle de Tepeaca. Se separaron las raíces y en ellas se buscaron hembras blancas adheridas, del suelo se extrajeron los quistes. En invernadero se sembró zanahoria cv. Mexicana en suelo naturalmente infestado, las raíces se tiñeron con fucsina ácida-lactoglicerol

Abstract. In 2009, in the Tepeaca Valley, Puebla, it was found a cyst-forming nematode of the genus *Heterodera* associated with carrot. At this time, it is unknown the distribution in some producing municipalities, its life cycle and the histological changes on infected plant roots. Between 2008 and 2016, 28 carrot fields were sampled in six municipalities of the Tepeaca Valley. The roots were separated and white females were searched, the cysts were extracted from soil. Carrot cv. Mexicana were grown in naturally infested soil in the greenhouse, the roots were stained with fuchsine lacto glycerol acid to know the development time of each cycle phase. To describe the histological changes, the infected roots were imbibed in paraffin and sections stained with fast green-fuchsine for analysis. *Heterodera* sp. was found in 93 % of the plots and completed its cycle in 73 days at 20-25 °C. The histological alterations show the presence of feeding sites (syncytia) with dense and granular cytoplasm, with hypertrophied nuclei, dissolution and thickening of cell walls located mainly in the cortex and vascular cylinder. There was also the

para conocer el tiempo de desarrollo de cada fase del ciclo. Para describir las alteraciones en raíces infectadas, éstas se incluyeron en parafina con lo que se hicieron cortes, se tiñeron con fucsina-verde rápido para su análisis. *Heterodera* sp. se encontró en el 93 % de las parcelas y completó su ciclo en 73 días a 20-25 °C. Las alteraciones histológicas mostraron la presencia de sitios de alimentación (sincitios) con citoplasma denso y granuloso, con núcleos hipertrofiados, disolución y engrosamiento de paredes celulares, ubicados principalmente en la corteza y cilindro vascular. Además hubo presencia de zonas lignificadas con hiperplasia e hipertrofia.

Palabras clave: Histopatología, *Daucus carota* cv *mexicana*, nematodo formador de quistes, endoparásito sedentario.

El género *Heterodera* pertenece al grupo de los nematodos formadores de quistes (NFQ), se caracterizan por tener hembras obesas citriformes, que retienen los huevos dentro de su cuerpo, tras la muerte, su cutícula sufre cambios y se engrosa formando el quiste, que protege a los huevos de condiciones ambientales adversas, éste puede persistir viable en el suelo hasta 30 años (Siddiqi, 2000; Subbotin *et al.*, 2010; Manzanilla-López y Marbán-Mendoza, 2012). Este nematodo es de importancia económica para la agricultura debido a que ocasiona pérdidas en el rendimiento de los cultivos, estas pérdidas se deben a que induce sitios de alimentación conocidos como sincitios que alteran el sistema radicular de las plantas, esto limita la absorción de agua y nutrientes (Sharma, 1998; Subbotin *et al.*, 2010; Subbotin y Franco, 2012). Tovar-Soto *et al.* (2009, 2010) encontraron un NFQ del género *Heterodera* asociado al cultivo de zanahoria (*Daucus carota*) en la zona agrícola del Valle de Tepeaca, Puebla, conformada por varios

presence of lignificate areas with hyperplasia and hypertrophy.

Key words: Histopathology, *Daucus carota* cv *mexicana*, cyst-forming nematode, sedentary endoparasite.

The genus *Heterodera* belongs to the group of cyst-forming nematodes (CFN) and are distinguished for having lemon shaped females, which retain the eggs inside their bodies. After their death, the cuticle changes and thickens to form the cyst, which protects the eggs from hostile environmental conditions. It can remain viable in the soil for up to 30 years (Siddiqi, 2000; Subbotin *et al.*, 2010; Manzanilla-López and Marbán-Mendoza, 2012). This nematode is economically important for agriculture due to the losses it produces in crops, caused by the induction of feeding sites known as syncytia, which alter the radicle systems of plants, limiting the absorption of water and nutrients (Sharma, 1998; Subbotin *et al.*, 2010; Subbotin and Franco, 2012). Tovar-Soto *et al.* (2009, 2010) found a CFN of the genus *Heterodera* associated to carrot (*Daucus carota*) fields in the agricultural area of the Valley of Tepeaca, Puebla, composed of several farming municipalities (Lugo-Morín *et al.*, 2010). In 2014 Puebla was the second largest carrot producer in Mexico, with harvests of 27, 109 ton (SAGARPA, 2016). Although this nematode has been found in the area, its distribution in some carrot-producing municipalities is unknown, as is its life cycle and the histological alterations it induces in the roots; these data are crucial to establish control tactics. The aim was to estimate the distribution of the CFN *Heterodera* sp. in some carrot-producing municipalities in the Valley of Tepeaca, as well as to determine the time of development of the different phases of its life cycle and describe the

municipios productores (Lugo-Morín *et al.*, 2010). Para el 2014 Puebla ocupó el segundo lugar a nivel nacional como productor de zanahoria, con una cosecha de 27, 109 ton (SAGARPA, 2016). Aunque se ha detectado este nematodo en la zona, aún se desconoce la distribución que guarda en algunos municipios productores de zanahoria, también se desconoce su ciclo de vida y las alteraciones histológicas que induce en las raíces, datos indispensables para poder establecer tácticas de control. El objetivo consistió en estimar la distribución que tiene el NFQ *Heterodera* sp. en algunos municipios productores de zanahoria del Valle de Tepeaca; así como, determinar el tiempo de desarrollo de las diferentes fases del ciclo de vida y describir las alteraciones histológicas que induce en las raíces de esta hortaliza. Durante 2008-2016 se muestrearon 28 parcelas con zanahoria en los municipios de Acatzingo, Los Reyes de Juárez, Quecholac, San Nicolás Buenos Aires, San Salvador el Seco y Tepeaca. En cada parcela seleccionada se tomó aleatoriamente una muestra, conformada por 10 submuestras de suelo (200-250 g) y plantas (3-6) en diferente etapa fenológica, esto conformó la muestra representativa (2-2.5 kg de suelo y 30-60 plantas) (De la Jara-Alcocer *et al.*, 1994). De cada muestra, las plantas se separaron del suelo, las raíces se lavaron con agua, luego se pesaron 5 g y se colocaron en una caja Petri, en donde se observaron en un microscopio estereoscópico Motic para localizar hembras blancas adheridas a éstas. Los quistes se obtuvieron a partir de 200 cm³ de suelo previamente secado de cada muestra, utilizando la técnica de flotación de Fenwick (De la Jara-Alcocer *et al.*, 1994). Los quistes separados en cada muestra se caracterizaron para observar forma, color y presencia de cono vulvar (n=20), luego se realizaron cortes para reconocer el tipo de fenestración (Subbotin *et al.*, 2010). Para determinar el tiempo de desarrollo de cada una de las fases del ciclo del nematodo

histological alterations it induces in the roots of this vegetable. Between 2008 and 2016, 28 carrot fields were sampled in the municipalities of Acatzingo, Los Reyes de Juárez, Quecholac, San Nicolás Buenos Aires, San Salvador el Seco, and Tepeaca. In each field chosen, one sample was taken at random, composed of 10 soil subsamples (200-250 g) and plants (3-6) in different phenological stages; this made up the representative sample (2-2.5 kg of soil and 30-60 plants) (De la Jara-Alcocer *et al.*, 1994). For each sample, the plants were separated from the soil, their roots were washed with water, 5 g were weighed and then placed in a Petri dish, where they were observed under a Motic stereoscopic microscope for the search of white females attached to them. The cysts were obtained from 200 cm³ of soil previously dried using the Fenwick flotation technique (De la Jara-Alcocer *et al.*, 1994). The cysts separated in each sample were separated to observe shape, color and presence of vulvar cone (n=20). Then, cuts were made to recognize the type of fenestration (Subbotin *et al.*, 2010). In order to determine the time of development of each of the phases of the nematode cycle in the root, we set up an experiment in a greenhouse with 36 three-kilo bags with naturally infested soil from a carrot field in the municipality of Acatzingo. In each bag, we planted 10 seeds of carrot cv. Mexicana, which were kept at 20-25 °C. Ten days after germination (DAG), plants were removed from three bags, their roots were washed with water and stained with fuchsine lacto glycerol acid. Later, they were placed in a Petri dish to observe the phases of the nematode under a Motic stereoscopic microscope. Every seven days for 12 weeks, the same procedure was followed with the remaining bags (Byrd *et al.*, 1983). For the histopathological study, six styrofoam pots were set up with 1 kg of tinalized soil, and ten seeds of carrot cv. Mexicana were planted. Three of the pots were inoculated with eggs and

en la raíz, se montó en invernadero un experimento con 36 bolsas de plástico de tres kg con suelo naturalmente infestado, procedente de un campo de zanahoria del municipio de Acatzingo. En cada bolsa se sembraron 10 semillas de zanahoria cv. Mexicana, mismas que se mantuvieron a 20-25 °C. Diez días posteriores a la germinación (DPG), se sacaron las plantas de tres bolsas, sus raíces se lavaron con agua y se tiñeron con fucsina ácido-lactoglicerol, posteriormente se colocaron en una caja Petri para observar las fases del nematodo con ayuda de un microscopio estereoscópico Motic. Cada siete días durante 12 semanas se siguió el mismo procedimiento con las bolsas restantes (Byrd *et al.*, 1983). Para el estudio histopatológico, se pusieron seis macetas de unicel con 1 kg de suelo tinalizado, en cada una se sembraron 10 semillas de zanahoria cv. Mexicana. Tres de las macetas se inocularon con huevos y juveniles del segundo estadio (J2) del nematodo, las otras tres se dejaron sin inocular (testigos). Las macetas se dejaron durante 60 días en el invernadero a 20-25 °C; después de ese tiempo, las plantas fueron sacadas de las macetas, sus raíces se lavaron, luego, se fijaron con una mezcla de etanol-formol-ácido acético (FAA) en donde se dejaron por 48 h. En seguida se cortaron en trozos de 1-3 mm, se deshidrataron en etanol a diferentes concentraciones (70, 80, 90, 96 y 100 %), en donde se dejaron 15 min para cada concentración. Luego, se transparentaron con etanol absoluto-xilol y xilol 15 min en cada uno. Posteriormente se incluyeron en parafinas con diferentes puntos de fusión (52-54, 54-56 y 56-58 °C) (Carvajal-Sandoval, 1996). Una vez incluido el material, se realizaron cortes seriados de 10 µm de espesor en el plano longitudinal y transversal con ayuda de un micrótopo de rotación marca Reichert. Los cortes se montaron en portaobjetos mediante un baño de flotación en una mezcla con agua y gelatina. Por último, los cortes se desparafinaron con xilol y etanol absoluto-xilol

juveniles from stage 2 (J2) of the nematode, and the other three were left without inoculating (controls). The pots were left for 60 days in the greenhouse at 20-25 °C; after this time, the plants were removed from their pots, their roots were washed, and they were fixated with a mixture of ethanol-formaldehyde-acetic acid (FAA), where they were kept for 48 h. Straight afterwards, they were cut into 1-3 mm pieces, dehydrated in ethanol at different concentrations (70, 80, 90, 96 and 100 %), where they were kept for 15 min for each concentration. They were then made transparent using absolute ethanol-xylol and xylol 15 min in each. Later, they were included in paraffins with different melting points (52-54, 54-56 and 56-58°C) (Carvajal-Sandoval, 1996). Once the material was included, serial cuts 10 µm thick were made longitudinally and transversally with a Reichert rotary microtome. The cuts were mounted onto a microscope slide with a flotation bath in a mixture of water and gelatin. Next, the cuts were dewaxed with xylol and absolute ethanol-xylol for 5 minutes in each and then passed through ethanol at different concentrations (100, 96 and 70 %) for 15 min each. Finally, they were rinsed for 10 minutes in distilled water, stained with fast green-fuchsine, dehydrated with 2 changes of absolute ethanol-xylol for 15 minutes each, and mounted with synthetic resin for their analysis (Carvajal-Sandoval, 1996).

The carrot roots from 17 fields sampled (61 %) showed white, pearly, lemon-shaped females attached, with vulvar cone, and a prominent gelatinous matrix in which they hold part of the eggs (egg sac), indicating that carrot is a good host in which they complete their life cycles (Figure 1A and D). Young cysts were also found in roots; a high percentage displayed the gelatinous matrix mentioned above in females; these were also lemon-shaped and with a vulvar cone. Cysts were also found in soil in 93 % of the fields studied, the population

por 5 min en cada uno y después se pasaron a etanol a diferentes concentraciones (100, 96 y 70 %) 15 min cada uno. Finalmente se enjuagaron por 10 min en agua destilada, se tiñeron con fucsina-verde rápido, se deshidrataron con dos cambios de etanol absoluto y etanol absoluto-xilol durante 15 min cada uno y se montaron con resina sintética para su análisis (Carvajal-Sandoval, 1996).

Las raíces de zanahoria de 17 parcelas muestreadas (61 %) mostraron hembras blancas adheridas, aperladas citriformes, con presencia de cono vulvar y una matriz gelatinosa prominente en donde retienen parte de los huevos, lo que indica que la zanahoria es un buen hospedante en donde completa su ciclo de vida (Figura 1A y D). También en raíces se encontraron quistes jóvenes adheridos, un alto porcentaje mostró la matriz gelatinosa antes referida en hembras; éstos también fueron citriformes y con cono vulvar. Además, se obtuvieron quistes a partir de suelo en el 93 % de las parcelas estudiadas, cuya densidad poblacional osciló de 3 a 1391 quistes en 200 cm³ de suelo (Cuadro 1) (Figura 1A, B y D). Al efectuar cortes a nivel del cono vulvar, aparece un puente con ambifenestras (Figura 1C), con estos criterios se confirmó que la población encontrada en las parcelas muestreadas con zanahoria en la zona de estudio corresponde al género *Heterodera* (Sharma, 1998; Subbotin *et al.*, 2010).

En el ciclo de vida, los J2 aparecieron dentro de las raíces laterales 10 DPG; así mismo, a los 24 y 38 DPG aparecieron los estadios J3 y J4, respectivamente (Figura 2). Por su parte, los machos se observaron en las raíces dentro de una exuvia a los 52 y hasta los 59 DPG; las hembras adultas se observaron adheridas a las raíces a partir del día 59 y hasta el día 66. Los primeros quistes adheridos a las raíces se identificaron por su color café claro, a los 73 y hasta los 94 DPG (Figura 2).

El estudio histopatológico mostró en los cortes trasversales de raíces infectadas sitios de alimen-

density of which ranged from 3 to 1391 cysts in 200 cm³ of soil (Table1) (Figure 1A, B and D). When cutting at the level of the vulvar cone, an ambifenestra appears (Figure 1C); with these criteria we confirmed that the population found in the fields sampled with carrots in the area studied belong to the genus *Heterodera* (Sharma, 1998; Subbotin *et al.*, 2010).

In the life cycle, the J2 appeared inside the lateral roots 10 DAG; likewise, at 24 and 38 DAG, stages J3 y J4 appeared, respectively (Figure 2). On the other hand, the males were observed on the roots inside an exuvia at 52 and up to 59 DAG;

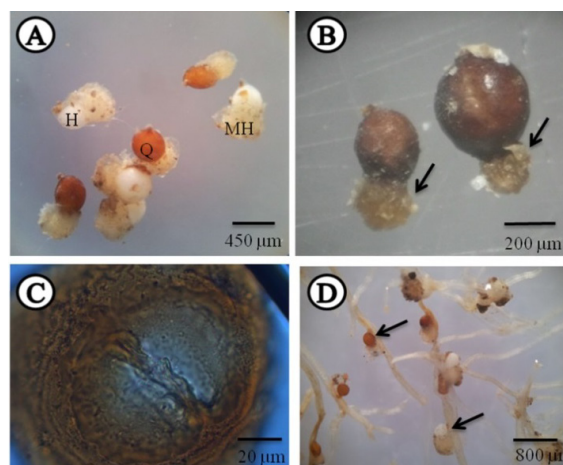


Figura 1. Quistes y hembras blancas de *Heterodera* sp. A) Hembras y quistes con masas de huevos. B) Quistes de diferente tamaño. Las flechas señalan las masas de huevos. C) Corte de un quiste a nivel del cono vulvar donde se observa la ambifenestra y el puente. D) Raíces de zanahoria con hembras y quistes adheridos con masas de huevos. H= Hembra, Q= Quiste, MH= Masa de huevos, P= Puente.

Figure 1. Cysts and white females of *Heterodera* sp. A) Females and cysts with egg sacs. B) Different sized cysts. Arrows indicate the egg sac. C) Cut of a cyst at the level of the vulvar cone showing the ambifenestra and the bridge. D) Carrot roots with females and cysts attached with egg sacs. H= Female, Q= Cyst, MH= Egg Sacs, P= Bridge.

Cuadro 1. Número de quistes de *Heterodera* sp. por 200 cm³ de suelo de parcelas en la zona de estudio y presencia o ausencia de hembras blancas adheridas a las raíces de zanahoria.**Table 1. Number of *Heterodera* sp. cysts per 200 cm³ of field soil in the area under study and presence or absence of white females attached to carrot roots.**

Localidad, Municipio	Georreferenciación	Quistes/200 cc de suelo	Hembras/5 g de raíz
Santiago Acozac, Los Reyes de Juárez	N:18°58.534; O:97°47.855; 1900 msnm	41	Si
San Mateo Parras, Los Reyes de Juárez	N:18°97.637; O:97°79.993; 2200 msnm	93	Si
San Mateo Parras, Los Reyes de Juárez	N:18°58.549; O:97°47.878; 1900 msnm	24	Si
San Mateo Parras, Los Reyes de Juárez	N:18°97.526; O:97°79.996; 2153 msnm	18	Si
San Mateo, Los Reyes de Juárez	N:18°92.176; O:97°64.372; 2180 msnm	52	Si
San Mateo, Los Reyes de Juárez	N:18°96.597; O:97°78.930; 2153 msnm	35	Si
San Cristóbal de los Nava, Los Reyes de Juárez	N:18°59.76; O:97°49.499; 2236 msnm	11	No
El Cristo, Acatzingo	N:18°98.714; O:97°82.680; 2292 msnm	1391	Si
San José Buena Vista, San Salvador el Seco	*	3	No
Buena Vista, San Nicolás Buenos Aires	N:18°99.164; O:97°85.459; 2238 msnm	3	No
Rancho las Moras, San Nicolás Buenos Aires	N:18°97.244; O:97°81.997; 2213 msnm	14	No
PalmaritoTusuapan, Quecholac	N:18°58.52; O:97°50.43; 2241msnm	45	Si
El Cristo, Acatzingo	N:18°58.512; O:97°50.43; 2241msnm	70	No
Santiaguito, Los Reyes de Juárez	N: 18°59.041; O:97°50.551; 2254 msnm	182	No
Santiaguito, Los Reyes de Juárez	N: 18°59.013; O:97°51.051; 2247msnm	8	No
El Cristo, Acatzingo	N:18°58.464; O:97°50.479; 2241msnm	34	Si
Santa María Actipa, Acatzingo	N:18°58.486; O:97°50.295; 2246 msnm	113	Si
El Cristo, Acatzingo	N:18°98.043; O:97°84.102; 2246 msnm	60	Si
San Cristóbal de los Nava, Los Reyes de Juárez	N:18°97.739; O:97°85.407; 2236 msnm	26	No
Santa María Actipa, Acatzingo	N:18°92.18; O:97°64.365; 2200 msnm	74	Si
San Juan Acozac, Los Reyes de Juárez	N:18°92.685; O:97°64.500; 2134 msnm	0	No
PalmaritoTusuapan, Quecholac	N:18°92.515; O:97°64.415; 2135 msnm	4	Si
PalmaritoTusuapan, Quecholac	N:18°92.266; O:97°64.44; 2135 msnm	53	Si
PalmaritoTusuapan, Quecholac	N:19°25.315; O:97°53.177; 2232 msnm	38	Si
San Juan Acozac, Los Reyes de Juárez	N:19°25.315; O:97°53.177; 2200 msnm	0	No
San Mateo Parra, Tepeaca	N:18°99.108; O:97°85.564; 2252 msnm	3	No
San Juan Acozac, Los Reyes de Juárez	N:18°99.796; O:97°87.288; 2254 msnm	54	Si
San Mateo Parra, Tepeaca	N:19°24; O:97°52 2392 msnm	27	Si

*Los datos de georreferenciación no fueron tomados / Georeferentiation data were not taken.

tación conocidos como sincitios ubicados principalmente en el cilindro vascular, ocasionando desplazamiento de los vasos del xilema y del floema (Figura 3C, D y F), en donde se observó engrosamiento y disolución de paredes celulares, con citoplasma denso, granuloso y vacuolado (Figura 3C, D y F). También hubo hiperplasia, y presencia de núcleos hipertrofiados (Figura 3E). Además fue notoria la presencia de zonas lignificadas (Figura 3C,

female adults were observed attached to the roots starting on day 66. The first cysts attached to the roots were identified by their light brown color, at 73 and up to 94 DAG (Figure 2).

The histopathological study showed, in the transversal cuts of infected roots, feeding sites known as syncytia, located mainly in the vascular cylinder, causing the displacement of the xylem and phloem vessels (Figure 3C, D and F), where thic-

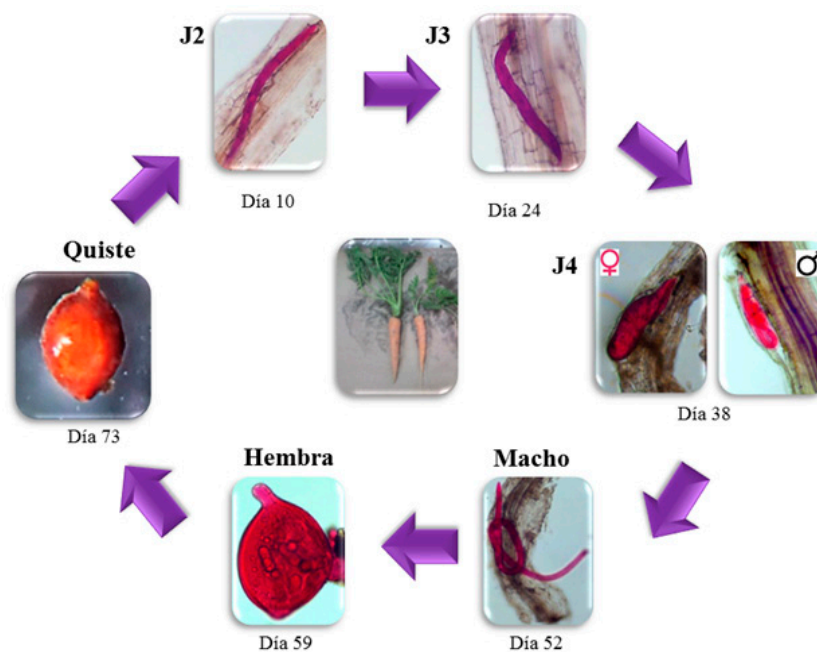


Figura 2. Fases de desarrollo del ciclo de vida del nematodo formador de quistes *Heterodera* sp. en las raíces de zanahoria cv. Mexicana bajo condiciones de invernadero. Véase las diferentes fases y los tiempos en que aparecieron en la raíz.

Figure 2. Life cycle phases of development of the cyst forming nematode *Heterodera* sp. in carrot cv. Mexicana roots under greenhouse conditions. Notice the different phases and the times that appeared in the root.

E y F). Estos cambios celulares los induce el nematodo para poder alimentarse (Endo, 1971). Todos estos cambios han sido documentados en diferentes especies del género *Heterodera* en diferentes cultivos (Endo, 1971; Sasanelli y Vovlas, 2013; Barrot, 2016). Esto contrasta con los cortes de raíces de tejido sano (testigos) en el plano longitudinal y transversal en donde no se observaron alteraciones (Figura 3A y B).

CONCLUSIONES

Heterodera sp. se encontró en el 93 % de las parcelas muestreadas y completó su ciclo de vida

kening and dissolution of cell walls were observed, with dense, granular and vacuolated cytoplasm (Figure 3C, D and F). There was also hyperplasia, and the presence of hypertrophied nuclei (Figure 3E). Also notorious was the presence of lignified areas (Figure 3C, E and F). These cellular changes are induced by the nematode to be able to feed (Endo, 1971). All these changes have been documented in different species of the genus *Heterodera* in different crops (Endo, 1971; Sasanelli and Vovlas, 2013; Barrot, 2016). This contrasts with the cuts in roots with healthy tissue (control) in the longitudinal and transversal plane, where no alterations were found (Figure 3A and B).

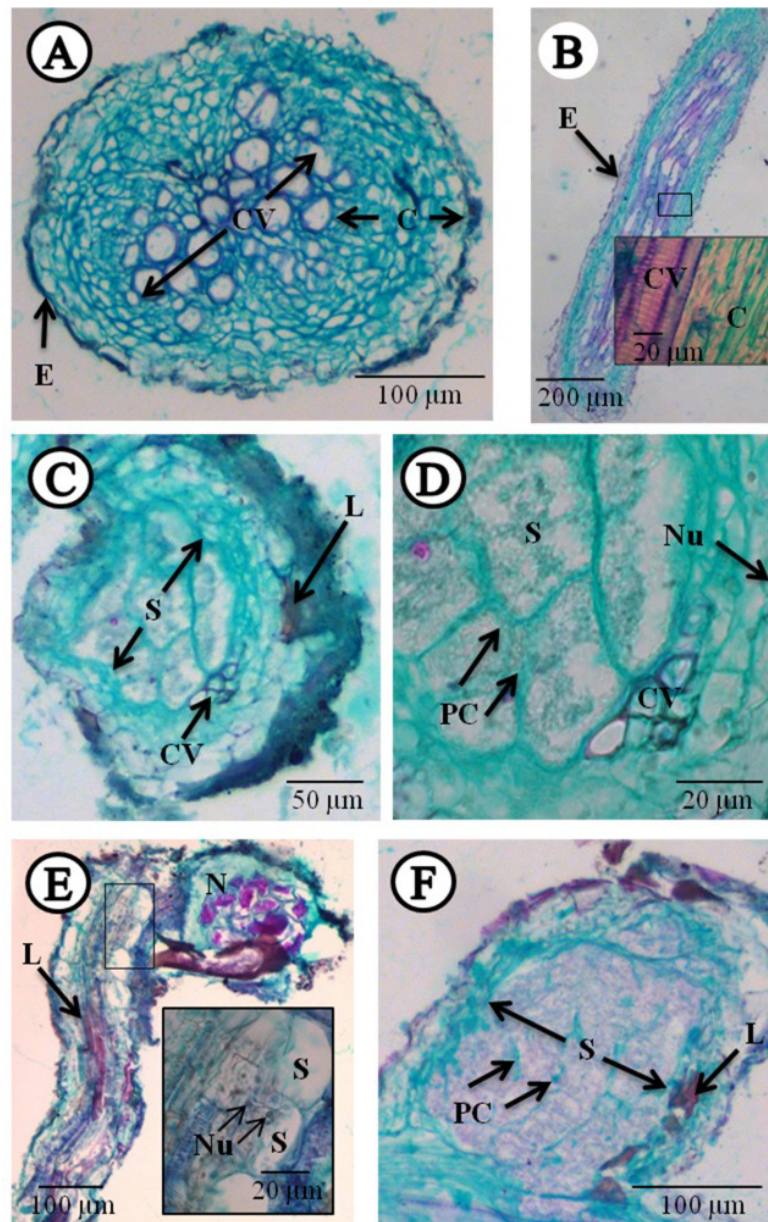


Figura 3. Cortes al micrótopo en los planos trasversal y longitudinal de las raíces de zanahoria sanas e infectadas con el nematodo formador de quistes *Heterodera* sp., teñidas con fucsina-verde rápido. A) Corte trasversal de raíz sana (testigo). B) Corte longitudinal de raíz sana (testigo). C-D) Cortes trasversales de la raíz infectada por el nematodo. E- F) Cortes longitudinales de la raíz parasitada con el nematodo. C= Corteza, CV= Cilindro vascular, E= epidermis, L= Lignificación, N= Nematodo, Nu= Núcleo, PC= Pared celular, S= Sincitio.

Figure 3. Longitudinal and transversal cuts to the microtome in healthy and infected carrot roots with the cyst-forming nematode *Heterodera* sp., stained with fast green-fuchsine. A) Transversal cut of healthy root (control). B) Longitudinal cut of healthy root (control). C-D) Transversal cuts of root infected by the nematode. E- F) Longitudinal cut of root with nematode parasite. C= Cortex, CV= Vascular cylinder, E= epidermis, L= Lignification, N= Nematode, Nu= Nucleus, PC= Cell wall, S= Syncytium.

en el invernadero en 73 días a 20-25 °C. Las alteraciones histológicas mostraron la presencia de sitios de alimentación (sincitios) ubicados principalmente en la corteza y cilindro vascular, con citoplasma denso y granuloso, núcleos hipertrofiados, disolución y engrosamiento de paredes celulares. Además hubo presencia de zonas lignificadas con hiperplasia e hipertrofia.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo muestra los resultados de la tesis de maestría del primer autor, quien agradece al CONACYT por haber otorgado una beca para la realización de los estudios de posgrado, así mismo agradece al sistema BEIFI-IPN por el apoyo económico brindado.

LITERATURA CITADA

- Byrd DW, Kirkpatrick T and Barker KR. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15: 142-143. Disponible en línea: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2618249/pdf/142.pdf>
- Barrot L. Resistance to *Heterodera carotae* and methods for use. FR., WO2016166262 A1, 20 de Octubre de 2016. PCT/EP2016/058304, 15 Abr 2016. Disponible en línea: <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2016166262&recNum=1&maxRec=&office=&prevFilter=&sortOption=&queryString=&tab=PCT+Biblio>
- Carvajal-Sandoval A. 1996. Manual de Histología Vegetal. Instituto Politécnico Nacional. México, D. F. 42 p.
- De la Jara-Alcocer F, Zeron-Bravo F, Torres-Coronel R y Tovar-Soto A. 1994. Manual de Prácticas de Nematología Agrícola. 2ª Edición. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN. México, D. F., México. 107 p.
- Endo B.Y. 1971. Nematode-induced syncytia (Giant cells). Host-parasite relationships of Heteroderidae. pp. 91-117. *In*: Zuckerman BM, Mai WF and Rohde RA (eds.). Plant Parasitic Nematodes. II. Cytogenetics, Host-parasite Interactions, and Physiology. Academic Press. New York, USA. 347 p.
- Lugo-Morín DR, Ramírez-Juárez J, Méndez-Espinoza JA y Peña-Olvera B. 2010. Redes sociales asimétricas en el sistema hortícola del Valle de Tepeaca, México. *Economía, Sociedad y Territorio* 10: 207-230. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=11112509008>

CONCLUSIONS

Heterodera sp. was found in 93 % of the fields sampled and completed its life cycle in the greenhouse in 73 days at 20-25 °C. Histological alterations showed the presence of feeding sites (syncytia) located mainly in the cortex and vascular cylinder, with dense and granular cytoplasm, and hypertrophied nuclei, dissolution and thickening of cell walls. There were also lignified areas with hyperplasia and hypertrophy.

ACKNOWLEDGEMENTS

This paper shows the results of the Master's degree thesis by the first author, who would like to thank CONACYT for the scholarship granted to carry out his Graduate studies, as well as the BEIFI-IPN system for the economic support provided.

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

- Manzanilla-López RH and Marbán-Mendoza N. 2012. Practical Plant Nematology. Biblioteca básica de Agricultura. México. 881 p.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2016. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. [www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/](http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/) (consulta, marzo 2016).
- Sassaneli N and Vovlas N. 2013. Pathogenicity and Host Parasite Relationships of *Heterodera cruciferae* in Cabbage. *Plant Disease*. 97(3):333-338. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-07-12-0699-RE>
- Sharma SB. 1998. The Cyst Nematodes. Springer Science & Business Media. Great Britain, UK. 452 p.
- Siddiqi MR. 2000. Tylenchida: Parasites of Plants and Insects. Second Edition. CAB International, Wallingford, U.K. 835 p.
- Subbotin SA, Mundo-Ocampo M, and Baldwin JG. 2010. Systematics of cyst nematodes (Nematoda: Heteroderinae). 8A. Nematology monographs and perspectives. Netherlands. 351 p.
- Subbotin SA and Franco J. 2012. Cyst nematodes. pp. 299-357. *In*: Manzanilla-López R.H., and Marbán-Mendoza

- N. (eds.). Practical Plant Nematology. Colegio de Postgraduados, México. Biblioteca básica de Agricultura. México. 881 p.
- Tovar-Soto A, Hernández-López JM y Torres-Coronel R. 2009. Nematodos Formadores de Quistes en la Zona Hortícola del Estado de Puebla. XI Congreso Internacional/XXXVI Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Acapulco, Gro., México. 4 p.
- Tovar-Soto A, Medina-Canales MG y Torres-Coronel R. 2010. Nematodos Fitoparásitos Asociados a Hortalizas en el Valle de Tepeaca, Puebla, México. XII Congreso Internacional/XXXVII Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Mérida, Yuc. México. 4 p.