

ESPECIES DE *Meloidogyne* ASOCIADAS A CULTIVOS HORTÍCOLAS EN EL VALLE DE TEPEACA, PUEBLA, MÉXICO

ROOT-KNOT NEMATODE *Meloidogyne* spp. IN VEGETABLES CROPS FROM THE TEPEACA VALLEY, PUEBLA, MEXICO

Medina Canales, Ma.G., A.K. Alquicira Jimenez, N. García Aguilar, I.M. Escobar
Ávila, A. Tovar Soto

ESPECIES DE *Meloidogyne* ASOCIADAS A CULTIVOS HORTÍCOLAS EN EL VALLE
DE TEPEACA, PUEBLA, MÉXICO

ROOT-KNOT NEMATODE *Meloidogyne* spp. IN VEGETABLES CROPS FROM THE
TEPEACA VALLEY, PUEBLA, MEXICO



Especies de *Meloidogyne* asociadas a cultivos hortícolas en el Valle de Tepeaca, Puebla, MéxicoRoot-knot nematode *Meloidogyne* spp. in vegetables crops from the Tepeaca Valley, Puebla, Mexico

Medina Canales, M.G.,
A.K. Alquicira Jimenez,
N. García Aguilar,
I.M. Escobar Ávila,
A. Tovar Soto

ESPECIES DE *Meloidogyne*
ASOCIADAS A CULTIVOS
HORTÍCOLAS EN EL
VALLE DE TEPEACA,
PUEBLA, MÉXICO

ROOT-KNOT NEMATODE
Meloidogyne spp. IN
VEGETABLES CROPS
FROM THE TEPEACA
VALLEY, PUEBLA, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 60: 291-305. Julio 2025

DOI:

10.18387/nolibotanica.60.17

María Gabriela Medina-Canales / mmedinac@ipn.mx 

<https://orcid.org/0000-0002-4421-3249>

Ana Karen Alquicira-Jiménez

Ilia Mariana Escobar-Ávila <https://orcid.org/0000-0002-6877-4630>

Norma García-Aguilar

Alejandro Tovar-Soto <https://orcid.org/0000-0001-9847-4711>

Laboratorio de Nematología Agrícola, Departamento de Parasitología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. CDMX, México

RESUMEN: El objetivo fue identificar especies de *Meloidogyne* asociadas a hortalizas del Valle de Tepeaca, Puebla, utilizando la técnica de fenotipos isoenzimáticos de esterasa (EST) y malato deshidrogenasa (MDH), conjuntamente, con la técnica morfológica descriptiva del patrón perineal de hembras. Durante 2018-2019 se muestrearon suelo y raíces de hortalizas con agallas de campos sembrados con zanahoria, cilantro, betabel y calabaza. De cada una de las raíces de estos cultivos se obtuvieron 40 hembras, a las que se extrajeron proteínas por disgregación mecánica, luego se separaron por electroforesis en geles de poliacrilamida. Posteriormente las isoenzimas se revelaron para conocer la movilidad relativa (Rm); por otro parte, con la cutícula de las hembras se realizaron cortes con lo que se analizó la morfología de los patrones perineales para corroborar la identificación conjuntamente. Los resultados mostraron que en los cultivos muestreados se encontraron los fenotipos isoenzimáticos de EST: A1, A2a, A3, VSF-S1, H1, I1, J2a y M2, mientras que para MDH se obtuvieron los fenotipos: N1, N1a, N1e y N2a; asociados a las especies: *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. chitwoodi*, y *M. enterolobii*; también se encontraron los fenotipos G1, G1-VF1 para EST y N1d para MDH los que no pudieron asociarse a alguna especie conocida. Los patrones perineales mostraron concordancia con los resultados obtenidos por los fenotipos isoenzimáticos. Resulta relevante el hallazgo de *M. javanica*, *M. chitwoodi* y *M. enterolobii* en la zona de estudio, ya que constituyen nuevos registros para la zona de estudio, y por ello deben tomarse las medidas necesarias para evitar su dispersión.

Palabras clave: *Beta vulgaris*, *Daucus carota*, esterasa, malato deshidrogenasa, patrones perineales, *Meloidogyne* spp.

ABSTRACT: The objective was to identify *Meloidogyne* species associated with vegetables from the Tepeaca Valley, Puebla, using the isozyme phenotypes esterase (EST) and malate dehydrogenase (MDH), together with the morphological technique descriptive of the perineal pattern of females. During 2018-2019, soil and roots with vegetable galls were sampled from fields planted with carrots, coriander, beets and pumpkin. From each of the roots of these cultures, 40 females were obtained from which proteins were extracted by mechanical disintegration, then separated by electrophoresis in polyacrylamide gels. Subsequently, the isoenzymes were revealed to know the relative mobility (Rm); On the other hand, cuts were made with the cuticle of the females to analyze the morphology of the perineal patterns to corroborate the joint identification. The results showed that in the sampled cultures the isoenzymatic phenotypes of EST were found, A1, A2a, A3, VSF-S1, H1, I1, J2a and M2, while for MDH the phenotypes were obtained: N1, N1a, N1e and N2a; associated with the species: *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. chitwoodi*, and *M. enterolobii*. The phenotypes G1,

G1-VF1 for EST and N1d for MDH were also found, which could not be associated with any known species. The perineal patterns showed agreement with the results obtained by the isoenzymatic phenotypes. The discovery of *M. javanica*, *M. chitwoodi* and *M. enterolobii* in the study area is relevant, since they constitute new records, and therefore the necessary measures must be taken to prevent their dispersion.

Key words: *Beta vulgaris*, *Daucus carota*, esterase, malate dehydrogenase, perineal pattern, *Meloidogyne* spp.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos agalladores *Meloidogyne* spp. son de los patógenos del suelo más importantes que limitan la productividad de los cultivos (Brito *et al.*, 2008). Muchas de las especies están ampliamente distribuidas a nivel mundial en donde ocasionan pérdidas severas a los rendimientos y a la calidad de las cosechas (Hunt y Handoo, 2009; Karssen *et al.*, 2013; Subbotin *et al.*, 2021; Desaegeer, 2022; Wesemael *et al.*, 2024); algunas de estas especies se encuentran en las diferentes regiones agrícolas de nuestro país, ocasionando mermas importantes a los rendimientos y a veces pérdidas totales al afectarse la calidad de las cosechas, esto último hace que pierdan su valor comercial (Medina-Canales *et al.*, 2011; Medina-Canales *et al.*, 2012; Medina-Molina *et al.*, 2018; Cid del Prado-Vera *et al.*, 2018; Cristóbal-Alejo *et al.*, 2018). En México, la zona agrícola conocida como el Valle de Tepeaca, en el estado de Puebla, una importante zona productora de hortalizas para el mercado nacional, destaca por la producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), cilantro (*Coriandrum sativum* L.), betabel (*Beta vulgaris* L.), calabaza (*Cucurbita pepo* L.), brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), col (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.), coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), entre otros (SIAP, 2020); en donde están presentes varias especies del nematodo agallador *Meloidogyne* como: *M. chitwoodi* (Montes-Belmont, 2000), *M. incognita* (Cid del Prado Vera *et al.*, 2001), *M. arenaria* y *M. hapla* (Medina-Canales *et al.*, 2011; Cid del Prado-Vera *et al.*, 2018) y otras más atacando a éstas y a otras hortalizas. Autores como Medina-Canales *et al.* (2011, 2012) y Medina-Molina *et al.* (2018) han encontrado en la zona alta incidencia por estos nematodos en variedades comerciales de zanahoria y betabel; es frecuente que las pérdidas sean totales debido a que algunas de las cosechas al estar deformadas o con presencia de agallas prominentes pierdan su valor comercial. Hoy en día la identificación de las especies es de vital importancia, para contar con un diagnóstico preciso y oportuno y con ello poder diseñar programas de manejo para cada especie del nematodo y cultivo. La literatura actual hace referencia que para la identificación precisa de las especies de nematodos agalladores *Meloidogyne* es recomendable recurrir a métodos bioquímicos, moleculares y morfológicos entre los que debe haber complementariedad (Carta *et al.*, 2005; Powers & Ramírez-Suárez, 2012; Karssen *et al.*, 2013; Wesemael *et al.*, 2024). Los métodos bioquímicos, donde destacan los “fenotipos isoenzimáticos” de esterasa (EST) y malato deshidrogenasa (MDH), son muy valiosos para la identificación de las especies más importantes de *Meloidogyne*, son una herramienta estable, sensible, rápida, confiable y económica (Brito *et al.*, 2010; Karssen *et al.*, 2013; Subbotin *et al.*, 2021, Wesemael *et al.*, 2024). Esta herramienta es útil para estudios extensivos, en donde se busca evaluar la distribución de las especies, búsqueda de especies atípicas, permite detectar mezcla de especies en los cultivos (Souza, 2008). Esta prueba puede ser confirmatoria y complementaria a los datos morfológicos en especial con el patrón perineal de hembras (Hunt & Handoo, 2012). En el caso de los métodos moleculares es indispensable elegir correctamente los marcadores moleculares a utilizar, ya que con algunos de éstos no es posible distinguir especies emparentadas cercanamente (Carta *et al.*, 2005; Adams *et al.*, 2007; Karssen *et al.*, 2013; Wesemael *et al.*, 2024); además de que requieren de equipo costoso y reactivos caros importados, lo que los hace poco atractivos y prácticos. Por su parte, la morfología sigue siendo de gran valor en la identificación de las especies de nematodos agalladores dentro de éstos destaca en particular el patrón perineal de hembras, una de las herramientas más frecuentemente utilizadas. Este patrón describe la morfología de la región posterior de las hembras adultas en donde se localizan la zona vulva-ano (perineo), la terminación de la cauda, los fasmidios, las líneas laterales rodeadas por estrías cuticulares, este conjunto de

caracteres son especie-específicos y por lo tanto de gran utilidad para la identificación de las especies (Hunt & Handoo, 2012; Karssen *et al.*, 2013; Rosas-Hernández *et al.*, 2024). El objetivo del presente trabajo fue: Identificar las especies de *Meloidogyne* asociadas a hortalizas de la zona agrícola el Valle de Tepeaca, Puebla, utilizando la prueba de fenotipos isoenzimáticos de EST y MDH y complementar la identificación mediante la técnica morfológica de los patrones perineales de hembras adultas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolecta de material

Durante 2018-2019 se realizaron seis muestreos de suelo y raíces de diversas hortalizas en el municipio de Acatzingo, Puebla (18° 55' 30" y 19° 06' 18" Latitud Norte y 97° 48' 18" y 97° 59' 18" longitud oeste); dichos muestreos se programaron de tal forma que coincidieran con la madurez de los cultivos, pues durante este período las agallas producidas por los nematodos son más visibles, favoreciendo así el reconocimiento de plantas infectadas (Brito *et al.*, 2008). El muestreo se realizó de manera aleatoria en dos campos de zanahoria, uno de calabaza, uno de cilantro y uno de betabel. Estos campos fueron previamente muestreados y se detectó la presencia de este nematodo provocando poco crecimiento de plantas, agallas y deformaciones en las raíces (Medina-Canales *et al.*, 2011; Medina-Molina *et al.*, 2018).

La superficie muestreada en cada campo fue de aproximadamente una hectárea y en cada uno se recolectaron diez submuestras, las cuales constaron de 200 g de suelo y 100 g de raíces (Shurtleff & Averre, 2000). Cada muestra compuesta de cada cultivo se colocó en una bolsa de polietileno debidamente etiquetada con los datos de campo, las que se trasladaron al Laboratorio de Nematología Agrícola, del Departamento de Parasitología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, en donde fueron procesadas (De la Jara-Alcocer *et al.*, 1994; Shurtleff & Averre, 2000).

Separación de raíces con agallas

Las raíces con agallas de cada muestra se separaron y lavaron con cuidado para eliminar el suelo adherido. Con ayuda de un estereomicroscopio y agujas de disección se extrajeron 40 hembras de 40 agallas (con sus respectivas masas de huevos) de cada campo muestreado, para determinar los fenotipos isoenzimáticos, analizar los patrones perineales y descartar mezcla de poblaciones (Brito *et al.*, 2008; Medina-Canales *et al.*, 2014; Da Cunha *et al.*, 2021).

Determinación de fenotipos isoenzimáticos

Extracción y electroforesis de proteínas

Para determinar el fenotipo EST, cada hembra recolectada (en total se trabajaron con 40 hembras de cada campo muestreado de manera independiente) se colocó en un portaobjetos con 20 µL del regulador de extracción (20 g de sacarosa o glicerol, 2 mL de tritón X-100, 100 mL agua bidestilada), se lisó con ayuda de una punta de jeringa de insulina, se retiró la cutícula para posteriormente obtener el patrón perineal; tanto el regulador como el contenido de la hembra se colocaron en un tubo Eppendorff. Los tubos se centrifugaron a 13,000 rpm durante 2 minutos y se guardaron a -20°C hasta su uso. Para determinar el fenotipo MDH, el procesamiento de las hembras fue similar, variando únicamente el regulador de extracción (20 g de sacarosa o glicerol, 0.1 g de TRIS, 0.1 g de ascorbato, 0.1 g de cisteína, 100 mL de agua bidestilada, pH 8.0) (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Carneiro *et al.*, 2024).

La electroforesis se realizó en geles de poliacrilamida, los cuales estuvieron formados por un gel separador con una concentración de acrilamida 12.5% y un gel concentrador al 18%. El gel se montó en una cámara de electroforesis vertical (EC® EU) y se colocó el regulador de corrimiento (TRIS 6 g, Glicina 28 g, Agua 1L, pH 8.3, Dilución 1:9) (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Carneiro *et al.*, 2024).

A los extractos de proteínas obtenidas previamente, se les colocaron 5 µL de azul de bromofenol 0.02% y la mezcla se colocó en los pozos del gel de poliacrilamida; el gel se dejó correr durante 30 minutos a 80 volts y después 70 minutos a 250 volts; se lavó con agua bidestilada y se realizó

una tinción a 37°C durante 1 hora con la solución para teñir a la isoenzima de interés. Para los fenotipos isoenzimáticos EST se utilizaron 100 mL de regulador fosfatos, 30 mg de EDTA, 60 mg de fastblue RR y 40 mg de α -naftilacetato diluidos en 2 mL acetona; para el caso de los fenotipos isoenzimáticos MDH se utilizaron 10 mL de sol. A (10.6 g Na₂CO₃ + 13.4 g malato), 15 mL de sol. B (6.06 g TRIS, pH = 7.1), 50 mg de NAD, 30 mg de NBT, 50 mL de agua y 2 mg de PMS diluido en 26 mL de agua bidestilada (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Carneiro *et al.*, 2024).

Determinación del fenotipo isoenzimático

A partir del número de bandas y la movilidad electroforética se calculó la movilidad relativa (R_m) (R_m = distancia de migración de la banda proteica / la longitud de corrida total del gel x 100). Este índice es diferente entre especies de *Meloidogyne*, ya que a cada una le corresponde uno en específico.

Caracterización de patrones perineales

La cutícula obtenida anteriormente de 10 hembras de cada campo muestreado se colocó en un portaobjetos con una gota de ácido láctico al 45 %, se cortó ecuatorialmente con ayuda de una aguja de insulina. Después se hicieron los cortes de ajuste para tener el patrón perineal en forma de cuadrado. Cada patrón perineal se limpió cuidadosamente, posteriormente se transfirió a una gota de glicerina en un portaobjetos limpio, en donde se acomodó y se colocó un cubreobjetos, las preparaciones se etiquetaron con lo que quedaron listas para describir las características de los patrones de cada población (Hunt & Handoo 2012; Karssen *et al.*, 2013).

RESULTADOS

La tabla 1 indica los cultivos muestreados, las localidades georreferenciadas, los patrones isoenzimáticos encontrados y las especies de *Meloidogyne* identificadas.

Tabla 1. Fenotipos isoenzimáticos y especies de *Meloidogyne* encontradas en diferentes cultivos de hortalizas, así como su localidad de origen dentro del Valle de Tepeaca, Puebla.

Table 1. Isozyme phenotypes and species of *Meloidogyne* identify in different vegetable crops, as well as their locality of origin within the Tepeaca Valley, Puebla.

Planta Hospedante	Ubicación geográfica	Localidad Municipio	Fenotipo enzimático		Especies
			EST	MDH	
Zanahoria (<i>Daucus carota</i> L.)	N 18° 58' 549" O 97° 47' 878" 1900 msnm	El Cristo, Acatzingo	A1, A2a, A3	N1, N1e	<i>M. arenaria</i>
Calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	N 18° 58' 534" O 97° 47' 855" 1900 msnm	El Cristo, Acatzingo	S1	N1a	<i>M. chitwoodii</i>
Cilantro (<i>Coriandrum sativum</i> L.)	N 18° 96' 792" O 97° 79' 017" 2138 msnm	Santa María Actipa, Acatzingo	G1	N1a	<i>Meloidogyne</i> sp.1
			G1-VF1	N1	<i>Meloidogyne</i> sp.2
Betabel (<i>Beta vulgaris</i> L.)	N 18° 87' 583" O 97° 79' 796" 2170 msnm	Santa María Actipa, Acatzingo	S1	N1a	<i>M. chitwoodi</i>
			H1	H2	<i>M. hapla</i>

Planta Hospedante	Ubicación geográfica	Localidad Municipio	Fenotipo enzimático		Especies
			EST	MDH	
			J2a	N1	<i>M. javanica</i>
Zanahoria (<i>Daucus carota</i> L.)	N 18° 97' 429" O 97° 79' 848" 2170 msnm	Santa María Actipa, Acatzingo	H1 I1 VSI-SI	N2a N1d	<i>M. hapla</i> <i>M. incognita</i> <i>M. enterolobii</i>

Determinación de fenotipos isoenzimáticos y morfología del patrón perineal

Fenotipos de esterasa (EST)

Se encontraron once fenotipos de EST y 18 bandas importantes de actividad enzimática para las especies de *Meloidogyne* (Fig. 1) asociadas a zanahoria, cilantro, betabel y calabaza; además, se revisaron los patrones perineales, los cuales permitieron complementar la identificación con los fenotipos isoenzimáticos encontrados (Fig. 2). También se encontraron seis fenotipos de MDH y ocho bandas importantes de actividad enzimática (Fig. 1).

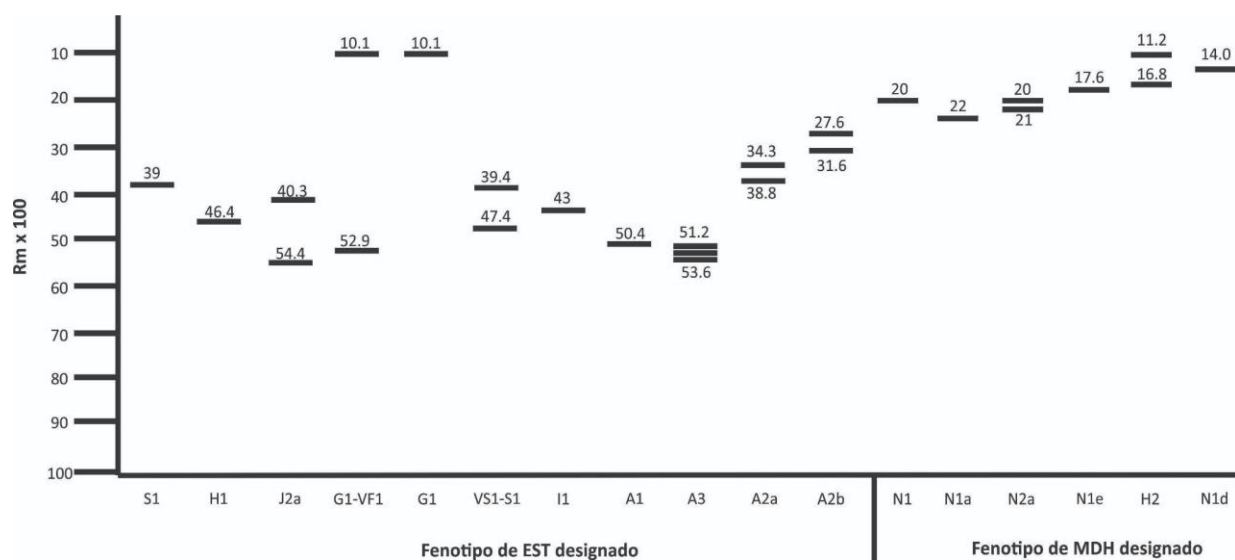


Figura 1. Representación esquemática de los fenotipos isoenzimáticos de EST y de MDH observados en *Meloidogyne* spp. provenientes de cultivos agrícolas el Valle de Tepeaca, Puebla.: S1 = *M. chitwoodi*; H1 = *M. hapla*; J2a = *M. javanica*; G1-VF1 = *Meloidogyne* sp. 1; G1 = *Meloidogyne* sp. 2, VSI-SI = *M. enterolobii*, I1 = *M. incognita*, A1, A3, A2a, A2b = *M. arenaria*. Fenotipos isoenzimáticos de MDH observados en *Meloidogyne* spp. N1= *M. javanica*, *M. arenaria*, *Meloidogyne* sp.2; N1a = *M. chitwoodi*, *Meloidogyne* sp.1; N2a = *M. incognita*; N1e = *M. arenaria*; H2 = *M. hapla*; N1d = No pudo asociarse a alguna especie.

Figure 1. Schematic representation of EST and MDH isoenzyme phenotypes observed in *Meloidogyne* spp. from different crops in the Tepeaca Valley, Puebla: S1 = *M. chitwoodi*; H1 = *M. hapla*; J2a = *M. javanica*; G1-VF1 = *Meloidogyne* sp. 1; G1 = *Meloidogyne* sp. 2, VSI-SI = *M. enterolobii*, I1 = *M. incognita*, A1, A3, A2a, A2b = *M. arenaria*. MDH isoenzyme phenotypes observed in *Meloidogyne* spp. N1= *M. javanica*, *M. arenaria*, *Meloidogyne* sp.2; N1a = *M. chitwoodi*, *Meloidogyne* sp.1; N2a = *M. incognita*; N1e = *M. arenaria*; H2 = *M. hapla*; N1d = Could not be associated with any species.

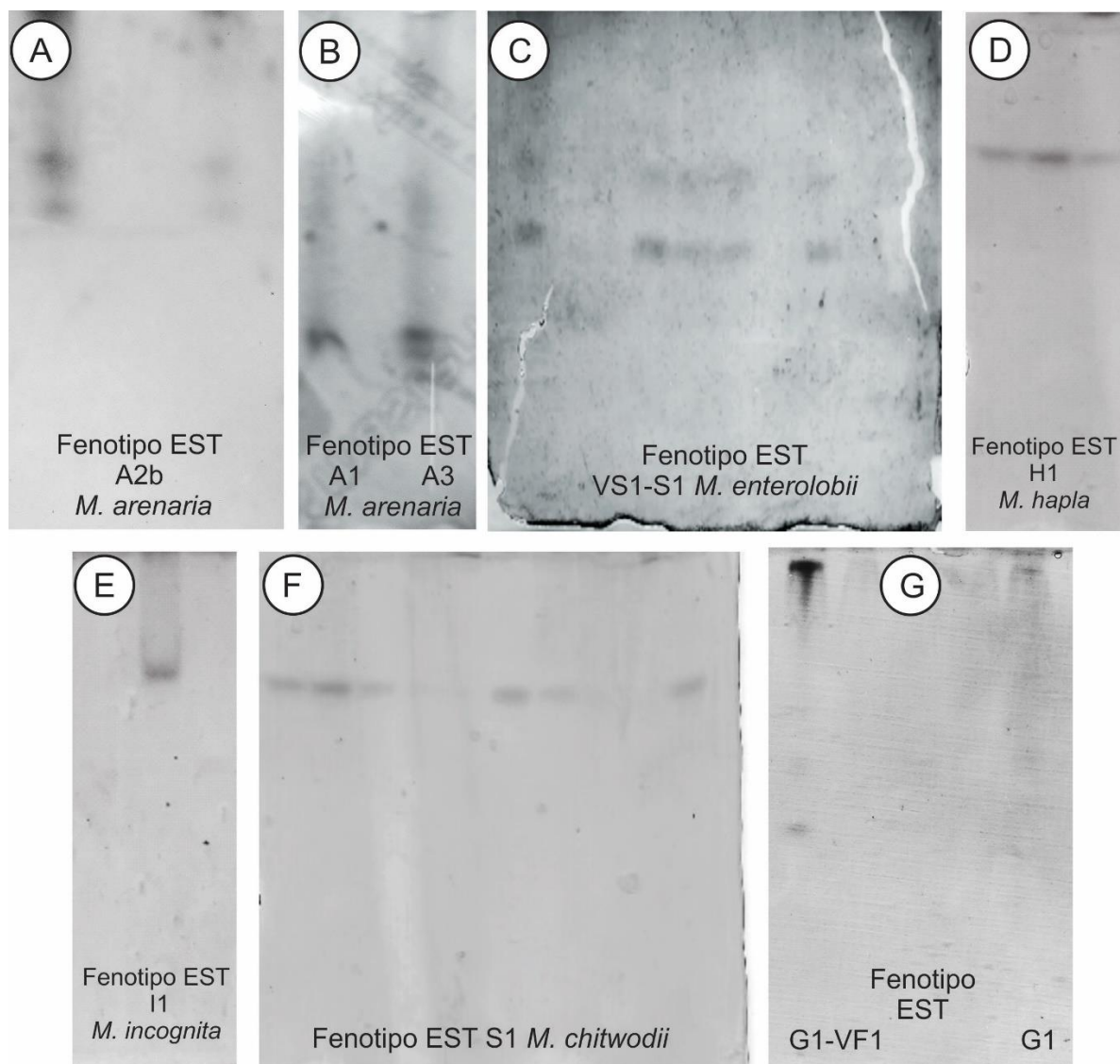


Figura 2. Zimograma de los fenotipos isoenzimáticos de EST de *Meloidogyne* spp. provenientes de cultivos agrícolas el Valle de Tepeaca, Puebla: A y B) Fenotipos de *M. arenaria*, C) Fenotipo VS1-S1 de *M. enterolobii*, D) Fenotipo H1 de *M. hapla*, E) Fenotipo I1 de *M. incognita*, F) Fenotipo S1 de *M. chitwodii*, G) Fenotipo G1-VF1 de *Meloidogyne* sp. 2 y G1 de *Meloidogyne* sp. 1.

Figure 2. Zymogram of the EST isoenzymatic phenotypes of *Meloidogyne* spp. from agricultural crops in the Tepeaca Valley Puebla: A y B) A1, A2b y A3 EST phenotypes of *M. arenaria*, C) VS1-S1 EST phenotypes of *M. enterolobii*, D) H1 EST phenotypes of *M. hapla*, E) I1 EST phenotypes of *M. incognita*, F) S1 EST phenotypes of *M. chitwodii*, G) G1-VF1 EST phenotypes of *Meloidogyne* sp. 2 and G1 of *Meloidogyne* sp. 1.

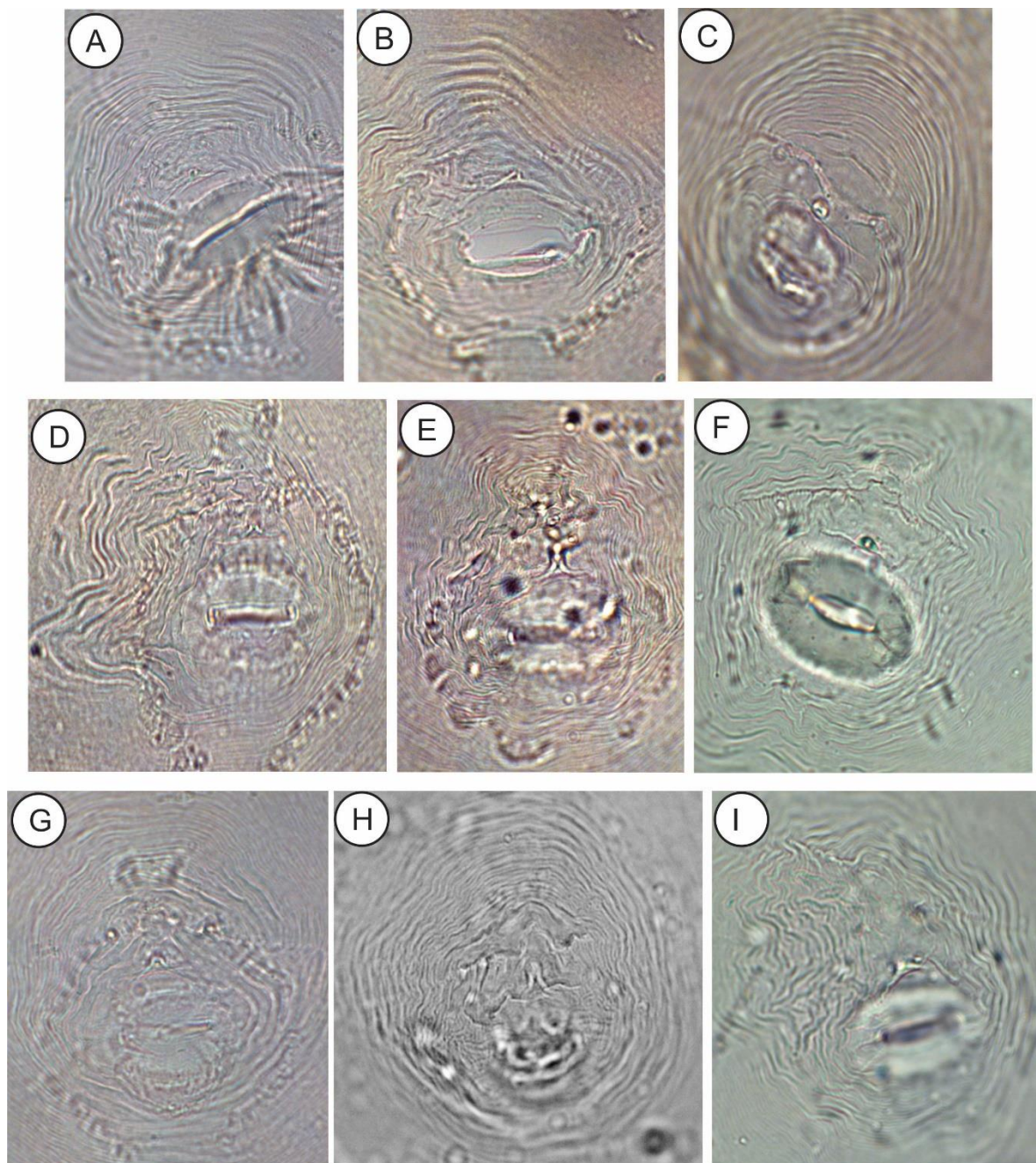


Figura 3. Patrón perineal de hembras de *Meloidogyne* spp. provenientes de cultivos agrícolas el Valle de Tepeaca, Puebla: A y B) patrón perineal de *M. arenaria*, C) Patrón perineal de *M. enterolobii*, D) Patrón perineal de *M. hapla*, E) Patrón perineal de *M. incognita*, F) Patrón perineal de *M. chitwodii*, G) patrón perineal de *M. javanica*, H) Patrón perineal de *Meloidogyne* sp. 1, I) Patrón perineal de *Meloidogyne* sp. 2.

Figure 3. Perineal pattern of *Meloidogyne* spp. females from agricultural crops in the Tepeaca Valley, Puebla: A and B) Perineal pattern of *M. arenaria*, C) Perineal pattern of *M. enterolobii*, D) Perineal pattern of *M. hapla*, E) Perineal pattern of *M. incognita*, F) Perineal pattern of *M. chitwodii*, G) Perineal pattern of *M. javanica*, H) Perineal pattern of *Meloidogyne* sp. 1, I) Perineal pattern of *Meloidogyne* sp. 2.

Los fenotipos correspondientes a *M. arenaria* fueron el A1 (Rm: 50.5), A3 (Rm: 51.2, 52.4, 53.6) y dos fenotipos atípicos designados como A2a (Rm: 34.3, 38.8) y A2b (Rm: 27.6, 31.6); todos se asociaron al cultivo de zanahoria (Tabla 1) (Figs. 1, 2A-B). El patrón perineal respectivo, fue redondeado con arco dorsal bajo, con hombreras en los costados formadas por ondulaciones pronunciadas de las estrías dorsales, cerca de las líneas laterales (Fig. 3A, B).

Meloidogyne chitwoodi presentó el fenotipo S1 (Rm: 38.2) y fue encontrado en los cultivos de calabaza y betabel (Tabla 1) (Figs. 1, 2 F). El patrón perineal se caracterizó por ser redondeado a ovalado con arco dorsal bajo, con estrías rotas cerca del área perineal, curvadas, retorcidas, líneas del campo lateral débilmente visibles (Fig. 3F).

El fenotipo I1 (Rm: 43) correspondió a *M. incognita* y se encontró asociado a zanahoria (Tabla 1) (Figs. 1, 2E). El patrón perineal característico de la especie presentó arco dorsal alto y cuadrado formado por estrías lisas a onduladas; algunas estrías se bifurcan cerca de las líneas laterales, aunque no claramente visibles (Fig. 3E).

Meloidogyne enterolobii presentó el fenotipo VSI-SI (=En2) (Rm: 39.4, 45.4) en zanahoria (Tabla 1) (Figs. 1, 2C); el patrón perineal fue de forma ovalada, con arco dorsal alto a veces redondeado a cuadrado, con estrías finas muy espaciadas, campo lateral ausente o con una sola línea en la unión de los arcos dorsal y ventral (Fig. 3C).

Meloidogyne hapla presentó el fenotipo H1 (Rm: 46.8) y se encontró asociado a betabel y zanahoria (Tabla 1) (Figs. 1, 2D); el patrón perineal correspondiente con arco dorsal bajo, redondeado a aplanado, con estrías onduladas que forman una o dos alas; las estrías lisas a onduladas se observaron puntuaciones arriba del ano (Fig. 3D).

El fenotipo J2a (Rm: 40.3, 54.4), (Figs. 1) correspondiente a *Meloidogyne javanica* asociado al cultivo de betabel (Tabla 1), presentó un patrón perineal con arco dorsal bajo, ligeramente redondeado a aplanado, el rasgo característico de este patrón son las líneas laterales muy visibles que lo dividen en regiones dorsal y ventral (Fig. 3G).

Dos especies no se pudieron identificar provenientes del cultivo de cilantro y se les asignaron los fenotipos G1 (Rm: 10.1) y G1-VF1 (Rm: 10.1, 52.9); ambas correspondieron a especies no identificadas y se denominaron *Meloidogyne* sp. 1 y *Meloidogyne* sp. (Figs. 1, 2G) 2 (Tabla 1), estas hembras presentaron patrones perineales atípicos con arco dorsal alto, estrías onduladas, sin líneas del campo lateral visibles (Fig. 3H, I).

Fenotipos de malato deshidrogenasa (MDH)

Entre todas las poblaciones de *Meloidogyne* se observaron seis fenotipos diferentes y ocho bandas importantes de actividad para MDH (Fig. 1). El fenotipo designado como N1 (Rm: 20) correspondió a *M. javanica* y *M. arenaria*; ésta última también presentó el fenotipo atípico designado como N1e (Rm: 17.6). El N1a (Rm: 21) se asoció a *M. chitwoodi*, el N2a (Rm: 20, 21) a *M. incognita* y el H2 (Rm: 11.2, 16.8) a *M. hapla*. Además, en uno de los campos de zanahoria se encontró el fenotipo N1d (Rm: 14), el cual pudo asociarse a alguna especie (Fig. 1) (Tabla 1).

DISCUSIÓN

En calabaza se encontró a *M. chitwoodi*, misma que presentó los fenotipos S1:N1a para EST y MDH, respectivamente; lo que coincide con lo reportado por Esbenschade & Triantaphyllou, (1985) respecto a la caracterización enzimática de esta especie. Este fenotipo no es especie-específico, ya que también lo presenta *M. plantani* (Esbenschade & Triantaphyllou, 1985), por lo que se recurrió a la observación del patrón perineal para confirmar la identificación, dicho patrón presentó arco dorsal bajo y cuadrado, con estrías onduladas y sin líneas del campo lateral, como lo mencionan (Hunt & Handoo 2009; Hunt & Handoo 2012; Karssen *et al.*, 2013), ello aunado a los antecedentes de la presencia de *M. chitwoodii* parasitando zanahoria en la zona de estudio (Montes-Belmont, 2000). Esta especie se ha encontrado asociada a papa (*Solanum tuberosum* L.), zanahoria, jitomate (*Solanum lycopersicum* L.), betabel (*Beta vulgaris* L.), girasol (*Helianthus annuus* L.), avena (*Avena sativa* L.) (Ferris *et al.*, 1993; Cid del Prado-Vera *et al.*, 2018), pero no en calabaza lo que representa un nuevo registro en la zona.

En betabel se identificó a *M. javanica*, *M. hapla* y *M. chitwoodi*. El hecho de que *M. javanica* se haya encontrado mezclada con *M. hapla* y *M. chitwoodi*, coincide con lo observado por otros

investigadores (Brito *et al.*, 2008). El fenotipo EST determinado en este estudio para *M. javanica* es J2a (atípico), el cual solo ha sido reportado en soya (*Glycine max* L.) en Brasil (Da Cunha *et al.*, 2003; Machado *et al.*, 2022) y en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) en Florida (Brito *et al.*, 2008); los fenotipos de EST que comúnmente se han asociado a esta especie son el J2 y J3 (Carneiro *et al.*, 1996; Cofcewicz *et al.*, 2005; Molinari *et al.*, 2005; Brito *et al.*, 2008; Brito *et al.*, 2010; Quénéhervé *et al.*, 2011). A pesar de que *M. javanica* está ampliamente distribuida y tiene una amplia gama de hospedantes (Hunt & Handoo, 2009), el cultivo de betabel no ha sido reportado en México como hospedante y por ello este es el primer registro. Respecto a *M. hapla*, esta presentó el fenotipo H1 especie-específico, tal como se ha reportado en trabajos previos (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Carneiro *et al.*, 1996; Carneiro *et al.*, 2000; Molinari, 2001; Brito *et al.*, 2008), a pesar de que este fenotipo es especie-específico en algunas ocasiones es necesario corroborar el fenotipo de otra enzima como la MDH, ya que puede haber diferencias en las movilidades electroforéticas debidas a las variaciones de la técnica y condiciones del laboratorio (Carneiro *et al.*, 1996).

En el presente trabajo los fenotipos H1 de *M. hapla* encontrado en betabel y el fenotipo I1 encontrados en *M. incognita* en zanahoria presentaron una movilidad electroforética similar; cuando los fenotipos de EST son muy similares es necesario analizar el fenotipo MDH. El fenotipo H2 de MDH en cultivo de betabel confirma que la especie asociada a este cultivo es *M. hapla*; dicho fenotipo ha sido reportado por Carneiro *et al.* (1996) en poblaciones provenientes de jitomate, lechuga (*Lactuca sativa* L.), café (*Coffea arabica* L.) y kiwi (*Actinidia deliciosa* Liang). Además, el patrón perineal presentó arco dorsal bajo, redondeado, con estrías que forman una o dos alas laterales y puntuaciones arriba del ano lo cual lo reporta (Wesemael *et al.*, 2024) como característico de esta especie.

De los dos campos de zanahoria infestados con *Meloidogyne*, en el primero, localidad El Cristo, municipio de Acatzingo, Puebla, se encontraron las especies *M. incognita*, *M. enterolobii* y *M. hapla*. *Meloidogyne incognita* mostró el fenotipo I1 de EST el cual es especie específico, este fenotipo es el más común para *M. incognita* y ha sido reportado en países como: Brasil, Estados Unidos, Paraguay, Colombia (Carneiro *et al.*, 1996; Molinari, 2001; Da Cunha *et al.*, 2003; Carneiro *et al.*, 2004; Molinari *et al.*, 2005; Brito *et al.*, 2008; Brito *et al.*, 2010; Riascos *et al.*, 2019; Resquín-Romero *et al.*, 2023), además se determinó el fenotipo N2a de MDH el cual es poco común, ya que solo ha sido reportado en Florida asociado a una ornamental no identificada (Brito *et al.*, 2010). La forma del patrón perineal presentó arco dorsal alto y cuadrado formado por estrías lisas a ondulada tal cual se reportan para *M. incognita* (Wesemael *et al.*, 2024). Por lo que se confirma la especie usando tanto los fenotipos de EST, MDH y la forma del patrón perineal. *Meloidogyne incognita* es la especie más distribuida a nivel mundial, ya sea en forma individual o en mezcla con otras poblaciones (Trudgill *et al.*, 2000), como en este caso. Es importante conocer cuando hay mezcla de especies porque se ha observado, que si éstas se reproducen por partenogénesis y bajo condiciones favorables del medio ambiente es factible la hibridación, dando lugar a nuevos fenotipos de MDH (Van Der Beek & Karszen, 1997).

Por su parte *M. enterolobii* mostró el fenotipo de EST VS1-S1 (= M2, = En2), el que ha sido reportado anteriormente en Brasil y es especie específico (Carneiro *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2022), China (Xu *et al.*, 2004), Florida (Brito *et al.*, 2004), Martinica (Quénéhervé *et al.*, 2011) y en Portugal (Santos *et al.*, 2019). En cuanto a la MDH se encontró el fenotipo N1a, coincidente con *M. enterolobii* (Carneiro *et al.*, 2000; Brito *et al.*, 2004; Quénéhervé *et al.*, 2011). Con lo que respecta a la morfología del patrón perineal mostró arco dorsal redondeado, con estrías finas espaciadas y campo lateral ausente distintivo de esta especie (Wesemael *et al.*, 2024); sin embargo, Brito *et al.* (2004), así como Perichi & Crozzoli, (2010) comentan que existe variabilidad en estos patrones, los que pueden ser confundidos con *M. incognita*. En este estudio *M. enterolobii* se encontró asociada a zanahoria, lo cual constituye un nuevo registro en el Estado de Puebla, pues esta especie ya había sido identificada en zanahoria en el estado de Veracruz (Salinas-Castro *et al.*, 2022). Esta especie aparece en el panorama mundial como polífaga parasitando ornamentales, arvenses y una gran variedad de plantas de cultivo, entre ellas jitomate, pimiento (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.), perejil (*Petroselinum crispum* Mill.), papa, col (*Brassica oleracea* var. *esculenta* L.), calabaza, zanahoria, brócoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), apio (*Apium graveolens* L.), *Cereus hildmannianus* (Cactaceae), *Lampranthus* sp. (Aizoaceae), *Physalis peruviana* (Solanaceae) y *Callistemon* sp. (Myrtaceae) (Wang *et al.*, 2004;

Rodríguez *et al.*, 2007; Moens *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2019); además, se ha encontrado a *M. enterolobii* en poblaciones concomitantes, conviviendo con *M. incognita*, *M. arenaria* y *M. javanica* (Rodríguez *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2019; Cid del Prado-Vera *et al.*, 2018; Carrillo-Fasio *et al.*, 2020) tal y como se observó en este estudio. Es importante resaltar: Xu *et al.* (2004) determinaron que esta especie es conespecífica con *M. mayaguensis* debido a que los marcadores moleculares IGS (espaciador intergénico largo), COII (Citocromo oxidasa II) e rRNA (RNA ribosomal) son idénticos para ambas especies, al igual que el fenotipo de esterasa; además, existe gran similitud en la gama de hospedantes y la morfología. Por tal motivo, Brito *et al.* (2008) mencionan que ambos nombres son sinónimos; sin embargo, se prefiere referir como *M. enterolobii* debido a que esta especie fue descrita primero (Yang & Eisenback, 1983). Esta especie ha sido considerada una de las más importantes por su amplia distribución geográfica, se ha detectado su presencia en África, Estados Unidos, Sudamérica, Centroamérica y Europa (Moens *et al.*, 2009), en México *M. enterolobii* fue identificada por primera vez en sandía (*Citrullus lanatus* var. *sunsugar*) en el estado de Veracruz (Ramírez-Suárez *et al.*, 2014). Esta especie actualmente ha sido reportada en el estado de Sinaloa en tomate (*Solanum lycopersicum* L.), en papa (Cid del Prado-Vera *et al.*, 2018; Carrillo-Fasio *et al.*, 2020; Rosas-Hernández *et al.*, 2024) y en Veracruz parasitando zanahoria (Salinas-Castro *et al.*, 2022) en estos casos la identificación se realizó a nivel morfométrico y molecular.

En el campo de zanahoria de la localidad de Santa María Aticpa, municipio de Acatzingo se identificó a *M. arenaria*, con los fenotipos de EST A1, A2a, A2b y A3, lo cual concuerda con Esbenshade & Triantaphyllou, (1985) ya que esta especie es la que presenta mayor variabilidad intraespecífica y se le ha designado seis fenotipos (Murata *et al.*, 2023; Carneiro *et al.*, 2024). Los fenotipos de EST más comunes son A2 y A3 y han sido reportados en Brasil y Argentina (Carneiro *et al.*, 1996; Carneiro *et al.*, 2000; Da Cunha *et al.*, 2003; García & Sánchez-Puerta, 2012). El fenotipo de EST A1 es poco común y solo ha sido reportado por Esbenshade & Triantaphyllou, (1985) y por Cofcewicz *et al.* (2005) en un cultivo de banana (*Musa paradisiaca* L.). Además, se observaron dos fenotipos atípicos designados en este estudio como A2a y A2b, estos han sido reportados en poblaciones de *M. arenaria* en Japón provenientes de plantas de jitomate, taro, berenjena y soya (Murata *et al.*, 2023). Para MDH se determinó el fenotipo N1, el cual ha sido ampliamente reportado para *M. arenaria* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Carneiro *et al.*, 1996; Carneiro *et al.*, 2000; Molinari, 2001; Carneiro *et al.*, 2004; Cofcewicz *et al.*, 2005; Brito *et al.*, 2008; Brito *et al.*, 2010; Quénehervé *et al.*, 2011) y también se observó un fenotipo atípico designado como N1e. A estos resultados se suma la morfología del patrón perineal, el cual fue redondeado con arco dorsal bajo, con hombreras en los costados característicos de la especie *M. arenaria* (Wesemael *et al.*, 2024).

En cilantro se determinó la presencia de dos especies de *Meloidogyne* que no pudieron ser identificadas por este método, la primera con un fenotipo de EST designado como G1-VF1, el cual no coincide con alguno que haya sido reportado hasta el momento. La segunda especie mostró el fenotipo de EST designado como G1 (en este trabajo) el cual es de migración lenta, según lo reportado por Blok & Powers, (2009), el único fenotipo de EST de migración lenta reportado hasta el momento es Mg1 y corresponde a *M. graminis*. Este fenotipo de EST ha sido reportado en *Stenotaphrum secundatum* (planta arvense) (Brito *et al.*, 2010), sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.) y maíz (*Zea mays*) (Karssen, 2002; Perichi *et al.*, 2006) y pastos de campo de golf (Azevedo de Oliveira *et al.*, 2018). El cilantro no se encuentra dentro del grupo de las gramíneas, no ha sido reportado como un hospedante de *M. graminis* y además la morfología del patrón perineal obtenido no es característico de *M. graminis*, por lo que es necesario confirmar la identificación de la especie con técnicas moleculares en conjunto con la caracterización morfológica de hembras, machos y juveniles (Blok & Powers, 2009).

En la zona hortícola del Valle de Tepeaca, de donde proceden las muestras, se sabe de la presencia de *M. chitwoodi* (Montes-Belmont, 2000), *M. hapla*, *M. arenaria* (Medina-Canales *et al.*, 2011) y *M. incognita* (Cid del Prado Vera *et al.*, 2001), identificadas por caracteres morfológicos y morfométricos. La presencia de *M. chitwoodi* en calabaza y *M. javanica* en betabel en la zona constituyen nuevos registros en el país, mientras que *Meloidogyne enterolobii* en zanahoria es el primer registro en la zona. Lo que hace necesario tomar medidas para evitar su dispersión. Estos informes reafirman la importancia que tienen las especies emergentes como *M. enterolobii*, la cual cuenta con una amplia gama de hospedantes y es capaz de parasitar cultivos importantes que

poseen el gen que les confiere resistencia a otras especies de *Meloidogyne* (Moens *et al.*, 2009). Es de suma importancia conocer la distribución de estos nematodos en toda la zona y para ello es necesario llevar a cabo el diagnóstico integral, el cual implicaría el análisis morfológico, morfométrico, molecular y enzimático mediante el uso de fenotipos isoenzimáticos. Este método de identificación es poco usado en el país, a pesar de que en Europa es parte del protocolo para la identificación de algunas especies de *Meloidogyne* propuesto por la EPP0 (2016), por lo que es necesario incluir este método como parte de la taxonomía integrativa y crear bases de datos de los perfiles de EST y MDH de especies de *Meloidogyne* presentes en México. La identificación precisa y rápida de las especies del género *Meloidogyne* es de gran utilidad debido a que estos nematodos son los causantes de las mayores pérdidas en los cultivos, por lo que conocer la (s) especies presentes en una zona agrícola determinada permite poder implementar las estrategias adecuadas para llevar a cabo las prácticas para el manejo integrado de estos patógenos para cada cultivo (Sikora *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

Se identificaron a partir de los fenotipos isoenzimáticos de esterasa (EST), malato deshidrogenasa (MDH) y la morfología del patrón perineal seis especies de *Meloidogyne* en hortalizas provenientes de cuatro cultivos y cinco localidades muestreadas en el Valle de Tepeaca, Puebla; siendo de mayor importancia el hallazgo de *M. enterolobii*, *M. chitwoodi* y *M. javanica*, ya que representan nuevos registros para la zona de estudio, por lo que deben tomarse las medidas necesarias para evitar su dispersión.

Se encontraron los fenotipos de esterasa G1 y G1-VF1 los que no pudieron asociarse a ninguna especie, por lo que es necesario complementar la identificación con métodos moleculares, lo cual nos confirma la importancia de usar varias herramientas complementarias entre sí para realizar un diagnóstico certero.

En México, es importante establecer nuevos protocolos de diagnóstico que permitan la identificación precisa de las especies de *Meloidogyne*; dónde deben considerarse la determinación de los fenotipos isoenzimáticos a partir de una sola hembra, ya que es un método sensible, reproducible y confiable. Esto representa todo un reto para las autoridades fitosanitarias de nuestro país, pero los resultados serán favorables para el correcto manejo de las especies.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo económico de la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN, quien otorgó financiamiento para realizar la presente investigación como parte de los proyectos SIP-IPN: 20195105 y 20200707.

LITERATURA CITADA

- Adam, M. A. M., Phillips, M. S., & Blok, V. C. (2007). Molecular diagnostic key for identification of single juveniles of seven common and economically important species of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). *Plant Pathology*, 56(1), 190–197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01455.x>
- Blok, V. C., & Powers, T. O. (2009). Biochemical Methods. In R. N. Perry, Moens M., & J. L. Starr (Eds.), *Root-Knot nematodes*. (pp. 100–103). CABI.
- Brito, J. A., Kaur, R., Cetintas, R., Stanley, J. D., Mendes, M. L., Mcavoy, E. J., Powers, T. O., & Dickson, D. W. (2008). Identification and isozyme characterization of *Meloidogyne* spp. infecting horticultural and agronomic crops and weed plants in Florida. *Nematology*, 10(5), 757–766. www.brill.nl/nemy

- Brito, J. A., Kaur, R., Cetintas, R., Stanley, J. D., Mendes, M. L., Powers, T. O., & Dickson, D. W. (2010). *Meloidogyne* spp. infecting ornamental plants in Florida. *Papers in Plant Pathology*, 441.
- Brito, J., Powers, T. O., Mullin, P. G., Inserra, R. N., & Dickson, D. W. (2004). Morphological and molecular characterization of *Meloidogyne mayaguensis* isolates from Florida. *Journal of Nematology*, 36, 232–240.
- Carneiro M. D. G. R., Souza F. B. C., Mattos S. V., & Correia R. V. (2024). Molecular techniques for root-knot Nematode identification. In: Molinari S. (Ed.), *Plant-Nematode Interactions* (pp. 227–246). Springer Nature. <http://www.springer.com/series/7651>
- Carneiro, R., Almeida, R., & Quénéhervé, P. (2000). Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* pp. populations. *Nematology*, 2, 645–654.
- Carneiro, R., Tigano, M., Randing O., & Almeida R. (2004). Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. *Nematology*, 6, 287–298.
- Carneiro, R. M. O. G., Ritta, M., Almeida, A., & Carneiro, R. G. (1996). Enzyme phenotypes of Brazilian populations of *Meloidogyne* spp. *Fundamental and Applied Nematology*, 19(6), 555-560.
- Carrillo-Fasio, J. A., Angúlo-Castro, A., Ángel Martínez-Gallardo, J., Ayala-Tafuya, F., Gilberto Yáñez-Juárez, M., Jesús, & Retes-Manjarrez, E. (2020). Distribution and incidence of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on pepper in Sinaloa, Mexico. *Tropical Plant Pathology*, 46, 195–200. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00400-6>
- Carta, L. K., Handoo, Z. A., Powers, T. O., Miller, S. A., Pérez-Zubiri, R., & Ramírez-Suárez, A. (2005). Sistema de información científica guidelines for isolation and identification of regulated nematodes of potato (*Solanum tuberosum* L.) in North America. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2), 211-222. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61223216>
- Cid del Prado Vera I., Tovar Soto A., & Hernández Alfonsina, J. (2001). Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(1), 32–39. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219105>
- Cid del Prado-Vera I., Franco-Navarro F., & Godínez-Vidal D. (2018). Plant parasitic nematodes and managements strategies of major crops in Mexico. In: Subbotin, S. A., & Chitambar, J. J. (Eds.). *Plant parasitic nematodes in sustainable agriculture of North America 1st Ed.* (pp. 31–68). Springer.
- Cofcewicz, E. T., Carneiro, R. M. D. G., Randig, O., Chabrier, C., & Quénéhervé, P. (2005). Diversity of *Meloidogyne* spp. on Musa in Martinique, Guadeloupe, and French Guiana. *Journal of Nematology*, 37(3), 313–322.
- Cristóbal-Alejo J, Cetz-Chi JI, Tún-Suárez J Ma, Moo-Koh FA, Peraza-Luna FA, & Candelero-De la Cruz J. (2018). Fungal filtrate of Trichoderma with nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Revista de Protección Vegetal*, 33(3), 2224–4697.
- Da Cunha, J., D'Arc, R., & Gomes. R. (2003). Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja. *Nematologia Brasileira*, 27, 1–12
- Cunha, T. G. D., Visôto, L. E., Pinheiro, L. M., God, P. I. V. G., Rosa, J. M. O., Oliveira, C. M. G., & Lopes, E. A. (2021). Distribution of *Meloidogyne* species in carrot in Brazil. *Ciência Rural*, 51, e20200552.
- De la Jara-Alcocer, F., Zeron-Bravo, F., Torres-Coronel, R., & Tovar-Soto, A. (1994). Manual de Prácticas de Nematología Agrícola. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN.
- Desaeger J. (2022). A Root-knot Nematode Paradise made in Plastic: The case of Florida vegetables. In Sikora R A., Desaeger J, & Molendijk L P G (Eds.), *Integrated nematode management. state-of-the-art and Visions for the Future.* (pp. 247–254). CABI.
- Esbenshade, P. R., & Triantaphyllou, A. C. (1985). Use of Enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, 17(1), 6.
- EPPO. (2016), PM 7/103 (2) *Meloidogyne enterolobii*. EPPO Bull, 46: 190-201. <https://doi.org/10.1111/epp.12293>

- Ferris, H., Carlson, H. L., Viglierchio, D. R., Westerdahl, B. B., Wu, F. W., Anderson, C. E., Juurma, A., & Kirby, A. D. W. (1993). Host status of selected crops to *Meloidogyne chitwoodi*. *Journal of Nematology*, 25(4S), 849.
- García, L. E., & Sánchez-Puerta, R. V. (2012). Characterization of a root-knot nematode population of *Meloidogyne arenaria* from Tupungato (Mendoza, Argentina). *Journal of Nematology*, 44, 291–301.
- Hunt D. I., & Handoo Z. (2012). Root-knot Nematodes. In Practical plant nematology 1st Ed (pp. 359–409). Colegio de Postgraduados-Universidad Autónoma de Chapingo-Mundi Prensa.
- Hunt, D. J., & Handoo Z. A. (2009). Taxonomy, identification and principal species. In Perry N. R., Moens M., & Starr L. J. (Eds.), *Root-Knot nematodes* (pp. 55–97). CABI.
- Karssen, G. (2002). The plant-parasitic nematode genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe. Brill.
- Karssen, G., Wesemael, W., & Moens, M. (2013). Root-knot Nematodes. In N. R. Perry & M. Moens (Eds.), *Plant Nematology*, Second Ed. (pp. 73–108).
- Machado, A. C. Z., Lemes, C. F. C., Silva, S. A., Shigueoka, L. H., Dorigo, O. F., Deuner, C. C., & Ribeiro, N. R. (2022). Variant *Meloidogyne javanica* populations from Brazil could impact the breeding programs and the management in soybean fields. *Tropical Plant Pathology*, 47(3), 442–449. <https://doi.org/10.1007/s40858-022-00492-2>
- Medina-Canales, M. G., Rodríguez-Tovar, A. V., Manzanilla-López, R. H., Zúñiga, G., & Tovar-Soto, A. (2014). Identification and molecular characterisation of new Mexican isolates of *Pochonia chlamydosporia* for the management of *Meloidogyne* spp. *Biocontrol Science and Technology*, 24(1), 1–21. <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.838623>
- Medina-Canales, Ma. G., Ramírez-San Juan, E., Torres-Coronel, R. & Tovar-Soto, A. (2012). Pathogenicity of *Meloidogyne arenaria* against two varieties of carrot (*Daucus carota* L.) in Mexico. *Nematropica* 42 (2): 335-340.
- Medina-Canales Ma. G., Carvajal-Sandoval A., Alejandre-Aguilar R., & Tovar-Soto A. (2011). Alteraciones histológicas inducidas por *Meloidogyne hapla* y *M. arenaria* en zanahoria (*Daucus carota* L.) en el valle de Tepeaca, Puebla, México. *Nematropica*, 41, 223–228.
- Medina-Molina, C.O., Medina-Canales, MA. G., Torres-Coronel, R., Carvajal-Sandoval, A. & Tovar-Soto, A. (2018). Histological changes for root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in beetroot roots (*Beta vulgaris* L.). *Polibotánica*, 46 (2): 58-64.
- Moens, M., Perry, R. N., & Starr, J. L. (2009). *Meloidogyne* species a diverse group of novel and important plant parasites. In: R. N. Perry, M. Moens, & J. L. Starr (Eds.), *Root-Knot nematodes*. (pp. 1–17). CABI.
- Molinari, S. (2001). Polymorphism of esterase isozyme zymograms of *Meloidogyne* populations detected by phastsystem. *Nematologia Mediterranea*, 29, 63–66.
- Molinari, S., Lamberti, F., Crozzoli, R., Sharma S. B., & Sánchez Portales L. (2005). Isozyme patterns of exotic *Meloidogyne* spp. populations. *Nematologia Mediterranea*, 33, 61–65.
- Montes-Belmont, R. (2000). Nematología Vegetal en México. Investigación documental. Sociedad Mexicana de Fitopatología.
- Murata, G., Yashiro, T., Uehara, T., Uesugi, K., Iwahori, H., & Narabu, T. (2023). Characterization of the atypical *Meloidogyne arenaria* (Tylenchida: Meloidogynidae) in Japan. *Applied Entomology and Zoology*, 58(3), 245-255.
- Perichi, G., & Crozzoli, R. (2010). Morfología, morfometría y hospedantes diferenciales de poblaciones de *Meloidogyne* de los estados Aragua y Zulia, Venezuela. *Fitopatología Venezolana*, 23, 5–15.
- Perichi, G., Crozzoli, R., & Alcano, M. (2006). Primer reporte de *Meloidogyne graminis* (Nematoda: Tylenchida) en Venezuela. *Fitopatología Venezolana*, 19, 17–18.
- Powers T O., & Ramírez-Suárez A. (2012). Molecular diagnostics of nematodes: some practical considerations. In Manzanilla-López R. H. & Marbán-Mendoza N. (Eds.), *Practical Plant Nematology* (1st ed., Vol. 1, pp. 131–145). Editorial Colegio de Postgraduados-Universidad Autónoma de Chapingo-Mundi Prensa.
- Quénéhervé, P., Godefroid, M., Mège, P., & Marie-Luce, S. (2011). Diversity of *Meloidogyne* spp. parasitizing plants in Martinique Island, French West Indies. *Nematropica*, 41, 191–199.

Recibido:
3/septiembre/2024

Aceptado:
4/junio/2025

- Ramírez-Suárez, A., Rosas-Hernández, L., Alcasio-Rangel, S., & Powers, T. O. (2014). First report of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* parasitizing watermelon from Veracruz, Mexico. *Plant Disease*, 98, 428.
- Riascos, D. H., Mosquera-Espinosa, A. T., de Agudelo, F. V., Rosa, J. M. O., Oliveira, C. M. G., & Muñoz, J. E. (2019). Morphological, biochemical, and molecular diagnostics of *Meloidogyne* spp. associated with *Musa* spp. in Colombia. *Nematropica*, 49(2), 229-245.
- Rodríguez, M., L., Gómez, L., & Peteira, B. (2007). *Meloidogyne mayaguensis*, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. *Revista Protección Vegetal*, 22, 183–198.
- Rosas-Hernandez, L., Patiño-Espejel, M. G., & Rodríguez-Mendoza, J. (2024). Detección del nematodo agallador *Meloidogyne enterolobii* en tubérculos de papa de Ahome, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, S123.
- Rusique, L., Inácio, M. L., Mota, M., & Nóbrega, F. (2018). Morphological, biochemical and molecular characterisation of *Meloidogyne javanica*, from North Portugal, in tomato. *Revista de Ciências Agrárias*, 41(1), 193-198.
- Santos, D., Abrantes, I., & Maleita, C. (2019). The quarantine root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* a potential threat to Portugal and Europe. *Plant Pathology*, 68(9), 1607–1615. <https://doi.org/10.1111/ppa.13079>
- Shurtleff M. C., & Averre C. W. (2000). Diagnosing plant diseases caused by nematodes 1st Ed, APS Press. 189 p.
- SIAP. (2020). Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- Sikora R A, Desaeger J., & Molendijk L. (2022). Integrated nematodes management: State-of-the-art and Visions for the Future 1st Ed. CABI.460 p.
- Souza, F. de B. C., Rafael, G., Belot, J. L., Negri, B. F., Perina, F. J., Cares, J. E., & Carneiro, D. G. R. M. (2022). Occurrence of a new race of *Meloidogyne enterolobii* and avirulent *M. incognita* populations parasitizing cotton in western Bahia state, Brazil. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 121. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101874>
- Souza, R. (2008). Taxonomic coffee-parasitic Root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. In R. Carneiro & Cofcewicz E.T. (Eds.), *Plant-Parasitic Nematodes of coffee*. (pp. 87–122). Springer.
- Subbotin, S. A., Palomares-Rius, J. E. & Castillo, P. (2021). Systematics of root-knot nematodes (Nematoda: Meloidogynidae). Brill. Leiden-Boston. 585 pp.
- Taylor, A. L., & Sasser, J. N. (1983). Biología, identificación y control de los nematodos del nódulo de la raíz. Departamento de Fitopatología de la universidad de Carolina del norte y agencia de Estados Unidos para el desarrollo internacional.
- Trudgill, D. L., Bala, G., Blok V. C., Daudi, A., Davies, K. G., Gowen, S. R., Fargette, M., Madulu, J. D., Mateille, T., Mwageni, W., Netscher, C., Phillips, M. S., Sawadogo, A., Trivino C. G., & Voyoukalou, E. (2000). The importance of tropical root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and factors affecting the utility of *Pasteuria penetrans* as a biocontrol agent. *Nematology*, 2, 823–845.
- Van Der Beek, J. G., & Karssen, G. (1997). Interspecific hybridization of meiotic parthenogenetic *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Phytopathology*, 87(10), 1061-1066.
- Wang, Y. F., Xiao S., Huang, Y. K., Zhou, X., Zhang, S. S., & Liu, G. K. (2004). First report of *Meloidogyne enterolobii* on carrot in China. *Plant Disease*, 98, 1019.
- Wesemael, W., Moens, M. & Bellafiore, S. (2024). Root-Knot Nematodes. Pp.74-123. In: Perry, R., Moens, M. and Jones, T.J. (Eds.). *Plant Nematology 3rd edition*. CABI, Wallingford, Oxon, UK. 582 pp.
- Xu, J., Liu P., Meng, Q., & Long, H. (2004). Characterisation of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. *European Journal of Plant Pathology*, 110, 309–315.
- Yang, B., & Eisenback, J. D. (1983). *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (Meloidogynidae), a Root-knot nematode parasitizing pacara earpod tree in China. *Journal of Nematology*, 15, 381–391.