

Parasitic behavior of *Nacobbus aberrans* populations from different geographical origin in tomato plants

Habilidad parasítica de poblaciones de *Nacobbus aberrans* de diferente origen geográfico en plantas de jitomate

Mireya Palacios-Alcántara, Nahum Marban-Mendoza, Calixto Leopoldo Carrillo-Fonseca, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Edo. de México, C.P. 56230. Jesús Alberto Acuña-Soto, Anselmo de Jesús Cabrera-Hidalgo*, TecNM-Instituto Tecnológico Superior de Tlatlauquitepec (ITSTL) Carretera Federal Amozoc-Nautla Km. 122+600, Almoloni, Tlatlauquitepec, Puebla C.P. 73907.

*Corresponding author: anselmo.cabrera@tlatlauquitepec.tecnm.mx

Received: March 13, 2022.

Accepted: April 24, 2022.

Palacios-Alcántara M, Marban-Mendoza N, Carrillo-Fonseca CL, Acuña-Soto JA and Cabrera-Hidalgo ADJ. 2022. Parasitic behavior of *Nacobbus aberrans* populations from different geographical origin in tomato plants. Mexican Journal of Phytopathology 40(2): 284-297.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2203-2>

Primera publicación DOI: 29 de Abril, 2022.

First DOI publication: April 29, 2022.

Abstract. The parasitic behavior of eight populations of *N. aberrans* from different geographical origin on tomato plants cv Miroma was evaluated. Tomato plants 29 days old were transplanted in pots previously inoculated with 0.5 g of galls from each population of nematode. Inoculated plants and control plants were kept for 45 days in a greenhouse. After transplanting (dat),

Resumen. Se evaluó el comportamiento parasítico de ocho poblaciones de *N. aberrans* de diferente origen geográfico en plantas de jitomate cv. Miroma. Plantas de 29 días de edad se colocaron en macetas previamente inoculadas con 0.5 g de raíces agalladas, de cada población del nematodo, y se mantuvieron en invernadero durante 45 días. Plantas sin inocular fueron incluidas con fines de comparación. Se realizaron tres evaluaciones, a intervalos de 15 días después de la inoculación (ddi), para determinar la penetración e invasión de juveniles en las raíces de las plantas de jitomate. A los 15 ddi, las poblaciones de Romita, Tetela y Chapingo presentaron las mayores tasas de penetración e invasión con 58, 50 y 50 juveniles/g de raíz respectivamente; mientras que a los 30 ddi, la presencia de juveniles en las raíces se redujo significativamente, y solo la población de Silao incrementó su penetración con 66 juveniles/g de raíz. A los 45 ddi, hubo un incremento en la cantidad

three evaluations of penetration and invasion of juveniles were made at 15, 30 and 45 dat. The results showed that at 15 dat, the populations of Romita, Tetela and Chapingo presented the highest penetration and invasion rates with 58, 50 and 50 juveniles/g of root, respectively. At 30 dat, only the Silao population increased its penetration with 66 juveniles/g root, while the rest of the populations showed a significant decrease in their penetration rates. At the end of the experiment, the number of juveniles had increased, causing root swelling in the plants, mainly in those that were inoculated with the populations of Romita (158 juveniles/g of root) and Tetela (102 juveniles/g of root). In conclusion, there are clear differences in the behavior of the populations of *N. aberrans* in terms of fertility, penetration capacity and invasion of the root system in tomato plants, depending on their geographical origin.

Key words: False root-knot nematode, parasitic ability, juveniles, penetration and *Solanum lycopersicum*.

The tomato (*Solanum lycopersicum*) is a widely cultivated vegetable around the world, and its production covers a total surface of 5,030,545 ha, and it is produced in 166 countries, where Asia concentrates over 51% of the global production. In the American continent, more than 23,786,872 t of tomato are produced, with the United States, Mexico and Brazil being the largest producers of tomato. In 2019, Mexico reported a production of 4,271,914 t in an area of 87,917 ha, with Chihuahua (330,371 t), Guanajuato (197,126 t) and Zacatecas (153,349 t) being the states with the highest production (FAOSTAT, 2021; SIAP, 2021).

Plant-parasitic nematodes are a strong limitation in agricultural systems, causing losses in yield of

de juveniles e hinchamientos en las raíces, principalmente con las poblaciones de Romita y Tetela con 158 y 102 juveniles/g de raíz, respectivamente. Existen claras diferencias en el comportamiento de las poblaciones de *N. aberrans* en cuanto a su fecundidad, capacidad de penetración e invasión del sistema radical en plantas de jitomate, en función de su origen geográfico.

Palabras clave: “Falso nematodo del nudo”, habilidad parasítica, juveniles, penetración, *Solanum lycopersicum*.

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) es una hortaliza ampliamente cultivada en el mundo, destinándose para su cultivo una superficie de 5,030,545 ha, y es producida en 166 países, donde Asia concentra más del 51 % de la producción mundial. En el continente americano, se producen poco más de 23,786,872 t de jitomate, siendo Estados Unidos, México y Brasil los principales productores de esta hortaliza. En el 2019, México reportó una producción de 4,271,914 t en un área sembrada de 87,917 ha, siendo Chihuahua (330,371 t), Guanajuato (197,126 t) y Zacatecas (153,349 t) los estados con mayor producción (FAOSTAT, 2021; SIAP, 2021).

Los fitonematodos representan una fuerte limitante en los sistemas de producción agrícola, ocasionando pérdidas de rendimiento del 8.8 al 14.6% por año en varios cultivos en todo el mundo, lo que en términos monetarios se traduce en aproximadamente \$USD 80 a 173 000 millones (Ahuja y Singh, 2020). *N. aberrans* representa una amenaza en la agricultura mexicana e internacional, debido a que posee una alta capacidad reproductiva, una amplia gama de hospedantes, potencial de pérdidas en rendimiento y amplia distribución geográfica, y al menos 40 países establecieron medidas cuarentenarias para prevenir su ingreso. Estos factores

8.8 to 14.6% every year in several crops around the world, which in economic terms translates to approximately \$USD 80-173,000 million (Ahuja and Singh, 2020). *N. aberrans* is a threat to Mexican and international agriculture, since it has a high reproductive ability, a wide range of hosts, potential for losses in yield and a wide geographic distribution, along with the fact that at least 40 countries have established quarantine measures to prevent its entry. These factors lead *N. aberrans* to be considered as one of the 10 most important nematodes in phytopathology (Jones *et al.*, 2013) and make it an important pathogen, and difficult to manage, since, under favorable environmental conditions, a female can produce 37-833 eggs (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Some studies confirm that the behavior of this nematode is directly influenced by temperature and humidity (Inserra *et al.*, 1985). A study by Martínez-Fuentes *et al.* (2010) indicates that the *N. aberrans* populations in Mexico display variation when parasiting bean plants, and reports that some populations do not affect it, whereas other populations can penetrate it and establish themselves in the roots without being able to reproduce, and those that establish themselves display different degrees of reproduction. The variation in pathogenicity within and among populations is common in plant-parasitic nematodes, and it takes places particularly between populations of different geographic origins and they are the result of genetic selection due to specific environmental factors.

An important aspect in the management of any phytopathological agent is the understanding of aspects related to its biology and interaction with its host. For the case of *N. aberrans*, there is little information related to its biological cycle, stages of survival in the soil and activation factors, pathogenic ability, influence of environmental factors in the eclosion of eggs and behavior of the

hacen que *N. aberrans* este considerado como uno de los 10 nematodos más importantes en fitopatología (Jones *et al.*, 2013) y lo convierten en un patógeno importante y de difícil manejo, ya que, bajo condiciones ambientales favorables, una hembra puede producir de 37-833 huevos (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Algunos estudios confirman que el comportamiento de este nematodo está directamente influenciado por la temperatura y la humedad (Inserra *et al.*, 1985). Un estudio realizado por Martínez-Fuentes *et al.* (2010) indican que las poblaciones de *N. aberrans* presentes en México muestran variación al parasitar plantas de frijol, reportando que algunas poblaciones no lo afectan, otras poblaciones pueden penetrar y establecerse en las raíces sin lograr reproducirse, y aquellas que se establecen, manifiestan diferentes grados de reproducción. La variación de patogenicidad dentro y entre poblaciones es común en los fitonematodos, y ocurre especialmente entre poblaciones de diferente origen geográfico y son el resultado de la selección genética debido a factores ambientales específicos.

Un aspecto importante en el manejo de cualquier agente fitopatológico, es comprender aspectos relacionados a su biología e interacción con su hospedante. Para el caso de *N. aberrans*, existe poca información relacionada con su ciclo biológico, estadios de sobrevivencia en el suelo y factores de activación, capacidad patogénica, influencia de los factores ambientales en la eclosión de huevos y comportamiento de los juveniles, entre otros, es por ello, que el objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento patológico de poblaciones de *N. aberrans* de diferente origen geográfico en plantas de jitomate cv Miroma.

Material biológico. Se recolectaron muestras edáficas y vegetales (raíces agalladas) de diferentes regiones agrícolas de Puebla (Tetela de Ocampo y

juveniles, among others. For this reason, the aim of the present study was to evaluate the pathological behavior of *N. aberrans* populations from different geographic origins in tomato cv Miroma plants.

Biological material. Edaphic and plant (galled root) samples were collected from different agricultural regions of Puebla (Tetela de Ocampo and Libres), Guanajuato (Silao and Romita), Michoacán (Tanhuato and Yurécuaro), Nayarit (Compostela) and the State of Mexico (Chapingo). They were kept in greenhouses (28 ± 3 °C, with 13 hours of light and $\pm 40\%$ relative humidity, on average) for the conservation and increase in nematode populations. All populations were previously identified as *N. aberrans* by sequencing ribosomal genes (Cabrera-Hidalgo *et al.*, 2015).

Parasitism of *N. aberrans* in tomato plants cv Miroma. Eight *N. aberrans* populations, named after their place of origin (Tetela de Ocampo-TE ($19^{\circ}48'40''$ N, $97^{\circ}48'53''$ O), Libres-Li ($19^{\circ}28'51''$ N, $97^{\circ}39'19''$ O), Silao-Si ($20^{\circ}56'09''$ N, $101^{\circ}26'09''$ O), Romita-RO ($20^{\circ}52'25''$ N, $101^{\circ}32'42.1''$ O), Tanhuato-Ta ($20^{\circ}18'48.4''$ N, $102^{\circ}20'40.3''$ O), Yurécuaro-Yu ($20^{\circ}18'43.7''$ N, $102^{\circ}15'47.9''$ O), Compostela-Co ($21^{\circ}14'37''$ N, $104^{\circ}53'10''$ O) and Chapingo-Cha ($19^{\circ}29'25''$ N, $98^{\circ}52'23''$ O) were inoculated in tomato cv Miroma plants, placing 0.5 g of small, galled root sections of each nematode population in plastic pots with a substrate mixture composed of tezontle + peat moss (1:1). Eight days after inoculation (dai), a tomato cv Miroma plant, aged 29 days, was transplanted into every pot. The inoculated pots were distributed under a completely randomized design with four repetitions and kept in the greenhouse for 45 days. Non-inoculated plants were included to discard the presence of galling plant-parasitic nematodes in the substrate and anatomically compare the growth

Libres), Guanajuato (Silao y Romita), Michoacán (Tanhuato y Yurécuaro), Nayarit (Compostela) y Estado de México (Chapingo). Se mantuvieron en invernadero (28 ± 3 °C, con 13 horas de luz y ± 40 % de humedad relativa en promedio) para la conservación e incremento de las poblaciones del nematodo. Todas las poblaciones fueron identificadas previamente como *N. aberrans*, mediante la secuenciación de genes ribosomales (Cabrera-Hidalgo *et al.*, 2015).

Parasitismo de *N. aberrans* en plantas de jitomate cv Miroma. Ocho poblaciones de *N. aberrans* denominadas por su lugar de procedencia (Tetela de Ocampo-TE ($19^{\circ}48'40''$ N, $97^{\circ}48'53''$ O), Libres-Li ($19^{\circ}28'51''$ N, $97^{\circ}39'19''$ O), Silao-Si ($20^{\circ}56'09''$ N, $101^{\circ}26'09''$ O), Romita-RO ($20^{\circ}52'25''$ N, $101^{\circ}32'42.1''$ O), Tanhuato-Ta ($20^{\circ}18'48.4''$ N, $102^{\circ}20'40.3''$ O), Yurécuaro-Yu ($20^{\circ}18'43.7''$ N, $102^{\circ}15'47.9''$ O), Compostela-Co ($21^{\circ}14'37''$ N, $104^{\circ}53'10''$ O) y Chapingo-Cha ($19^{\circ}29'25''$ N, $98^{\circ}52'23''$ O) se inocularon en plantas de jitomate cv Miroma, colocando 0.5 g de pequeñas secciones de raíces agalladas de cada población del nematodo, en macetas de plástico que contenían una mezcla de sustrato compuesta por tezontle + peat moos (1:1). Ocho días después de la inoculación (ddi), se trasplantó una planta de jitomate cv Miroma de 29 días de edad en cada maceta. Las macetas inoculadas se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y se mantuvieron en invernadero durante 45 días. Plantas sin inocular fueron incluidas para descartar la presencia de fitonematodos agalladores en el sustrato y comparar anatómicamente el crecimiento y desarrollo de las raíces durante el experimento. Las plantas se regaron diariamente por goteo y se fertilizaron vía edáfica con una solución nutritiva cada ocho días (N-P-K: 8-24-0). El experimento se estableció en dos momentos diferentes y los resul-

and development of roots during the experiment. The plants were irrigated every day with drip irrigation and they were fertilized edaphically with a nutrient solution every eight days (N-P-K: 8-24-0). The experiment was established in two different moments and the results were the average of both repetitions. The number of juveniles in the radical system of the tomato plants was quantified 15, 30 and 45 days after transplanting (dat), by staining the roots with acid fuchsine, following the protocol by Byrd *et al.* (1983) with some modifications. This procedure helps us observe nematodes, after staining, in a bright red color, in contrast to the roots, which are transparent or translucent. The specimens inside the tomato roots stained with acid fuchsine were counted along and the number of eggs/females under an Olympus® model CX31 compound microscope (Olympus, Tokyo, Japan).

The data obtained in the study underwent an analysis of variance and a means comparison test (LSD, $\alpha = 0.05$). All analyses were performed using the statistical program SAS (Statistical Analysis System) version 9.3.

Response of the parasitism of *N. aberrans* in tomato plants. The number of juveniles found inside the roots of the tomato cv Miroma plants displayed significant differences in the three evaluation times ($\alpha = 0.05$) (Table 1). Fifteen dat, the populations of Romita, Tetela and Chapingo presented the highest rates of penetration and invasion in the tomato roots with a total of 58, 50 and 50 juveniles/g of root, respectively (Table 1). It is possible that the speed at which these populations penetrate and invade the root system of the plant give them a competitive advantage against other organism populations, including other species of nematodes, since this may favor, to a higher or lesser degree, their successful establishment and survival, and guarantee a quick source of food.

tados fueron el promedio de ambas repeticiones. Se cuantificó el número de juveniles dentro del sistema radical de las plantas de jitomate a los 15, 30 y 45 días después del transplante (ddt), mediante la tinción de raíces con fucsina ácida, siguiendo el protocolo de Byrd *et al.* (1983) con algunas modificaciones. Este procedimiento permite observar los nematodos, después del desteñido, de un color rojo brillante en contraste con las raíces que muestran un color trasparente o translucido. Se contaron los especímenes en el interior de las raíces de jitomate teñidas con fucsina ácida y el número de huevos/hembra bajo un microscopio compuesto marca Olympus® modelo CX31 (Olympus, Tokio, Japón). Los datos obtenidos en el estudio se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (LSD, $\alpha = 0.05$). Todos los análisis se hicieron con el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.3.

Respuesta del parasitismo de *N. aberrans* en plantas de jitomate. El número de juveniles encontrados en el interior de las raíces de las plantas de jitomate cv Miroma mostró diferencias significativas en los tres tiempos de evaluación ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 1). A los 15 ddt, las poblaciones de Romita, Tetela y Chapingo presentaron las mayores tasas de penetración e invasión en las raíces de jitomate con un total de 58, 50 y 50 juveniles/g de raíz, respectivamente (Cuadro 1). Es posible que la rapidez con la que estas poblaciones penetran e invaden el sistema radicular de las plantas, les confiera una ventaja competitiva contra otras poblaciones de organismos, incluidos otras especies de nematodos, ya que esto puede favorecer, en menor o mayor grado, su exitoso establecimiento y supervivencia, y garantizar una rápida fuente de alimentación. Como lo reportó Umesh (1994), al investigar la competencia entre *Pratylenchus neglectus* y *Meloidogyne chitwoodi* en plantas de cebada, encontró que

Table 1. Total penetration and juveniles average of *N. aberrans* in tomato roots cv Miroma at 15, 30 and 45 dat.**Cuadro 1. Penetración total y promedio de juveniles de *N. aberrans* en raíces de jitomate cv Miroma a los 15, 30 y 45 ddt.**

Población	Juveniles/gramo de raíz								
	15 ddt			30 ddt			45 ddt		
	Total	\bar{x}^y	NS ^z	Total	\bar{x}	NS	Total	\bar{x}	NS
TETELA	50.00	16.67	AB	18.00	6.00	B	102	34.00	B
TANHUATO	30.00	10.00	AB	0.00	0.00	B	38	12.67	C
LIBRES	36.00	12.00	AB	6.00	2.00	B	24	8.00	C
ROMITA	58.00	19.33	A	1.50	0.50	B	158	52.67	A
YURECUARO	6.00	2.00	B	0.00	0.00	B	6	2.00	C
COMPOSTELA	6.00	2.00	B	6.00	2.00	B	42	14.00	C
SILAO	6.00	2.00	B	66.00	22.00	A	18	6.00	C
CHAPINGO	50.00	16.67	AB	8.00	2.67	B	16	5.33	C
CONTROL	0.00	0.00	B	0.00	0.00	B	0	0.00	C
LSD		16.83			13.28			15.78	

^y Number of juveniles/g of galls (average of three repetitions). dat= Days after transplanting. LS= Level of Significance. LSD= Least Significant Difference. / ^y Número de juveniles/g de agallas (promedio de tres repeticiones). ddt= Días después del transplante. NS= Nivel de Significancia. LSD= Diferencia Mínima significativa.

^z Means with the same letter in the same column are not statistically different ($\alpha=0.05$). / ^z Medias con la misma letra en la misma columna, no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Reports by Umesh (1994) when investigating the competition between *Pratylenchus neglectus* and *Meloidogyne chitwoodi* in barley plants claim that the species that first parasites the roots prevented the penetration and development of the other. Fernández and Ortega (1982) explain that this effect could be due to the damage caused in the tissues by the genus that first invades the host.

The penetration of the juveniles (J2) occurred mainly in the area of elongation of the root (Figure 1A), where, according to Perry (1997), the cells of the apical meristem prepare for their cellular differentiation. The sites of penetration of the juveniles could be easily identified by the presence of necrotic lesions along the cortical parenchyma (Figure 1A-C, red arrows) as a result of the inter and intracellular migration carried out by the nematode, including the vascular cylinder (Figure 1B) (Souza and Baldwin, 2000).

la especie que parasita primero las raíces impidió la penetración y desarrollo de la otra. Fernández y Ortega (1982) explican que este efecto podría deberse al daño que causa en los tejidos el género que invade en primera instancia al hospedante.

La penetración de los juveniles (J2) ocurrió principalmente por la zona de elongación de la raíz (Figura 1A), donde de acuerdo con Perry (1997) las células del meristemo apical se preparan para su diferenciación celular. Los sitios de penetración de los juveniles se pudieron identificar fácilmente por la presencia de lesiones necróticas a lo largo del parénquima cortical (Figura 1A-C, flechas rojas), como resultado de la migración inter e intracelular que realiza el nematodo, incluyendo al cilindro vascular (Figura 1B) (Souza y Baldwin, 2000).

Se encontraron J3 y J4 aislados rodeados de tejido necrótico en la corteza radical (Figura 1D, flecha roja) y de acuerdo con Manzanilla-López *et*

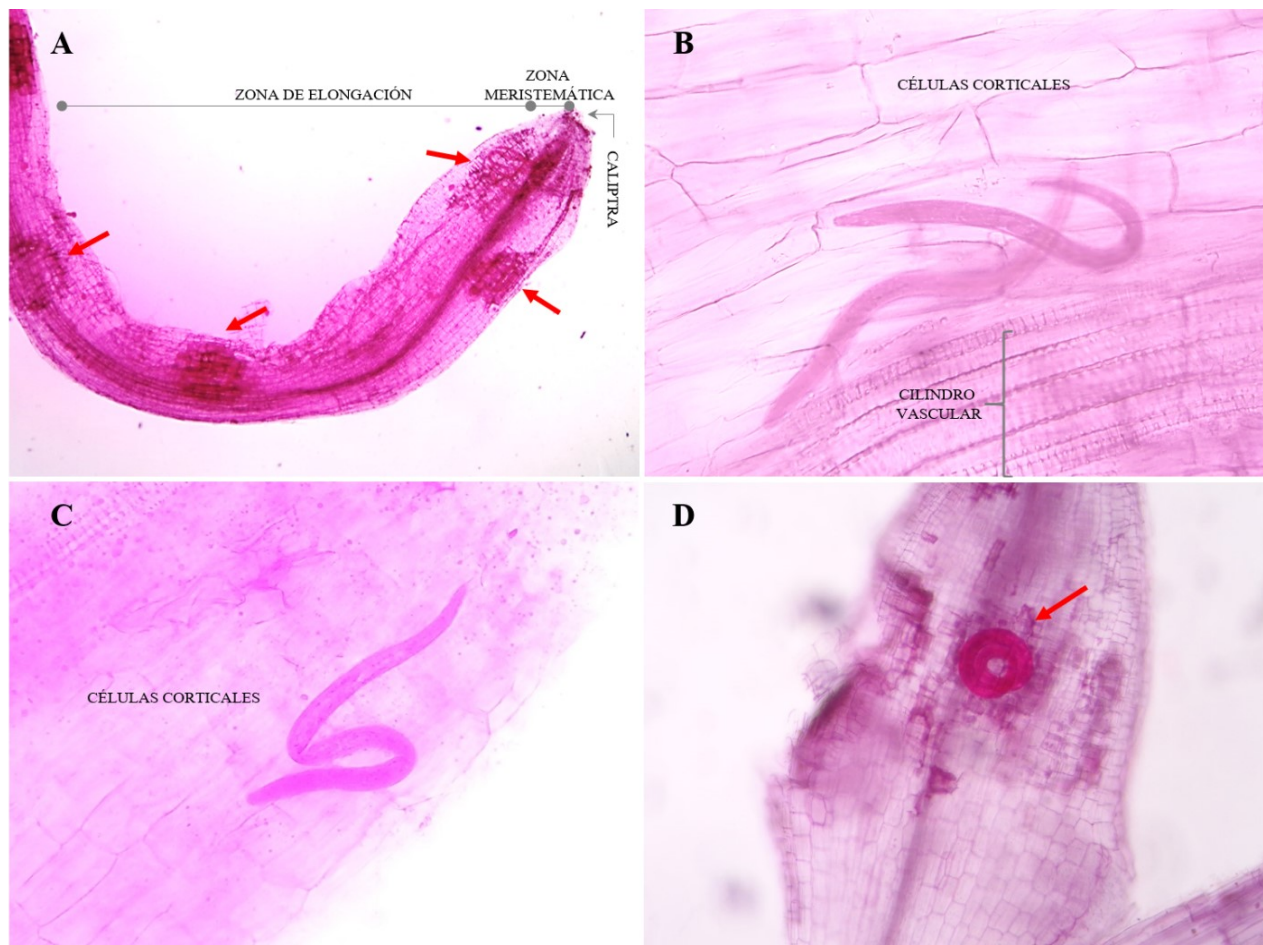


Figure 1. Invasion and penetration of juveniles of *N. aberrans* in tomato roots cv Miroma at 15 dat. A) Necrotic lesions caused by intra and intercellular movement of the nematode (red arrows). B-C) Juveniles inside cortical cells of the root. D) J3 with C-shaped body in the cortical parenchyma of the root (red arrow).

Figura 1. Penetración e invasión de juveniles de *N. aberrans* en las raíces de jitomate cv Miroma a los 15 ddt. A) Lesiones necróticas causadas por el movimiento intra e intercelular del nematodo (flechas rojas). B-C) Juveniles en el interior de las células corticales de la raíz. D) J3 en forma de C en el parénquima cortical de la raíz (flecha roja).

J3 and J4 were found isolated, surrounded by necrotic tissue in the radical cortex (Figure 1D, red arrow) and according Manzanilla-López *et al.* (2002), this is possible because el J2 can change in the root or in the soil to J3, which is less active and tends to remain rolled up in the root cortex (body in a “C” shape).

Thirty dat, a change in the behavior of the nematode populations was observed, since the presence of juveniles in the roots had, in general

al. (2002), esto es posible ya que el J2 puede mudar en la raíz o en el suelo a J3, el cual es menos activo y tiende a permanecer enrollado en la corteza de la raíz (cuerpo en forma de “C”).

A los 30 ddt, se observó un cambio en el comportamiento de las poblaciones del nematodo, ya que la presencia de juveniles en las raíces, de manera general, se redujo significativamente ($\alpha=0.05$). Esto pudo deberse al agotamiento de los juveniles inoculados en el suelo por la rápida penetración ini-

terms, reduced significantly ($\alpha=0.05$). This may be due to the exhaustion of the juveniles inoculated in the soil by the quick initial penetration (15 dat) of these in the roots of the host or by factors of intra and interspecific competition (predation or parasitism) and adaptation (limiting environmental conditions), since nematodes are a group of highly diverse organisms that display a variety of adaptations to extreme soil and plant environments (McSorley, 2003).

The only population to increase its penetration was the one from Silao, with 66 juveniles/g of root, whereas in the rest of the populations, penetration did not exceed 18 juveniles/g of root (Table 1), possibly as a result of partially or totally overcoming the stage of temporary inactivation conditioned by some type of environmental stress or a factor inherent to the biology of the nematode, since according to Evans and Perry (2009), the diapause that takes place in nematodes is not necessarily the result of adverse environmental conditions, nor does it end with favorable conditions, because this is a critical survival mechanism during colder seasons and in the absence of a susceptible host. They add that the latency of the development seems to take place mainly in the egg stage and in the juvenile stages inside the eggs, although cases of diapause are also known to occur in late juvenile stages or in adults, mostly in a few zooparasite nematodes.

In the examined roots, it was common to find juveniles rolled up or in a "C" shape (Figure 2A-D, red arrows) and bulges and swellings were found with necrotic areas (Figure 2C-D), indicating the presence of the nematode inside them, and the formation of the specialized feeding site (syncytium), since according to Prasad and Webster (1967) and Manzanilla-López *et al.* (2002), this leads to a series of histological and physiological alterations in the area of the radical system of the host, induced by the presence of immature females,

cial (15 ddt) de estos en las raíces del hospedante o por factores de competencia intra e interespecífica (depredación o parasitismo) y adaptación (condiciones ambientales limitantes); ya que los nematodos son un grupo de organismos sumamente diverso que muestra una variedad de adaptaciones a los ambientes extremos de suelo y plantas (McSorley, 2003).

La única población que incrementó su penetración fue la de Silao, con 66 juveniles/g de raíz; mientras que, en el resto de las poblaciones la penetración no superó los 18 juveniles/g de raíz (Cuadro 1), posiblemente como resultado de superar parcial o totalmente la etapa de inactivación temporal condicionada por algún estrés ambiental o algún factor inherente a la biología del nematodo. Ya que de acuerdo con Evans y Perry (2009) la diapausa que ocurre en nematodos, no necesariamente es el resultado de condiciones ambientales adversas ni termina con condiciones favorables, esto por tratarse de un mecanismo crítico de supervivencia durante las estaciones frías y en ausencia de un hospedante susceptible. Añaden que la latencia del desarrollo parece ocurrir, principalmente, en la etapa de huevo y en las etapas juveniles dentro de los huevos, aunque también se conocen casos de diapausa en las etapas juveniles tardías o en adultos, principalmente en unos pocos nematodos zooparásitos.

En las raíces examinadas fue común encontrar juveniles enrollados o adoptando una forma de "C" (Figura 2A-D, flechas rojas) y se observaron abultamientos e hinchamientos con áreas necróticas (Figura 2C-D), indicando la presencia del nematodo en su interior y la formación del sitio especializado de alimentación (sincito), ya que de acuerdo con Prasad y Webster (1967) y Manzanilla-López *et al.* (2002), esto da lugar a una serie de alteraciones histológicas y fisiológicas en esa zona del sistema radical del hospedante, inducido por la presencia de hembras inmaduras, normalmente fijadas en la proximidad del cilindro central (Figura 2C-D).

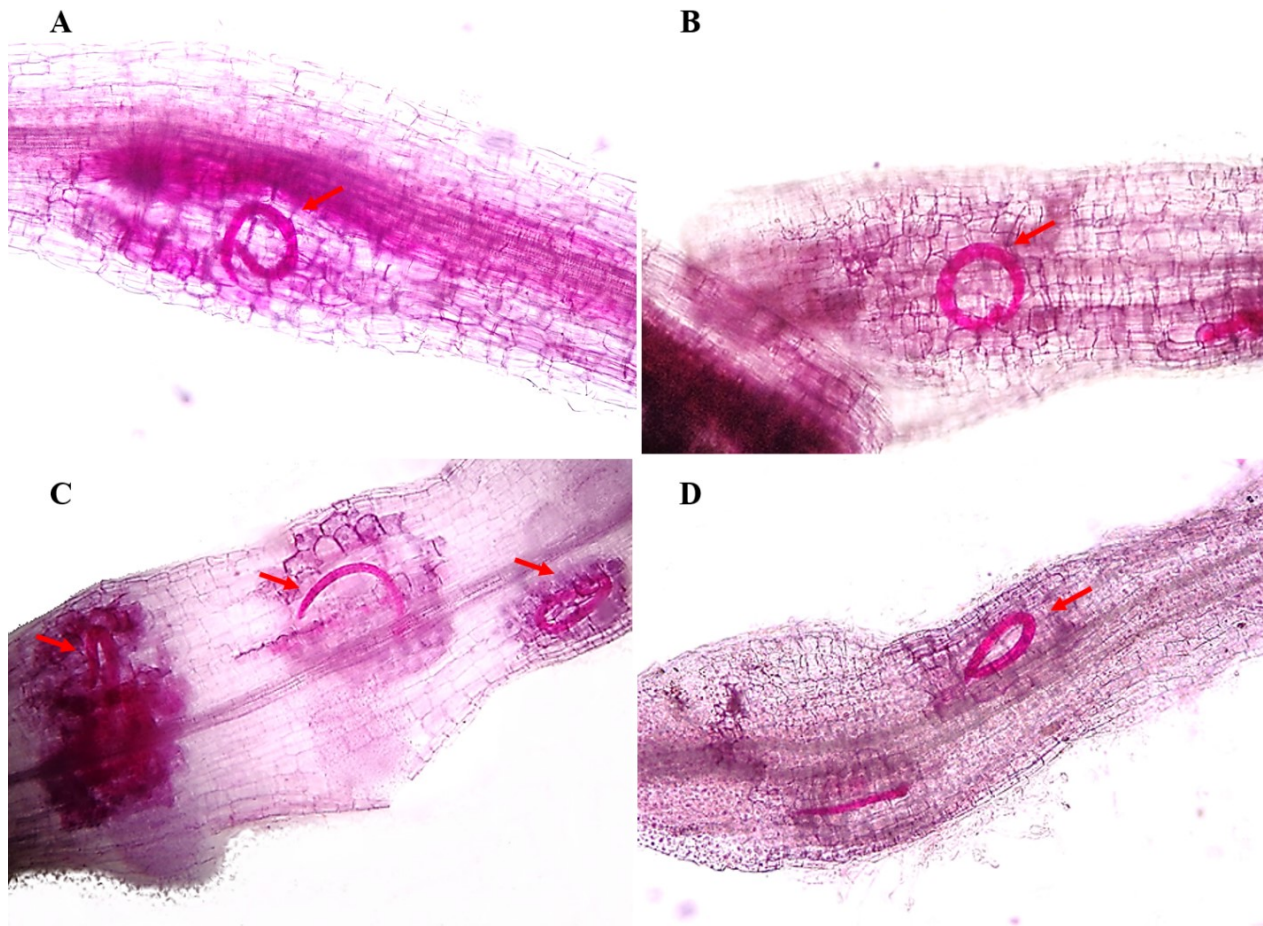


Figure 2. Invasion and penetration of juveniles of *N. aberrans* in tomato roots cv Miroma at 30 dat. A-D) Juveniles with C-shaped body inside the cortical cells (red arrows). C-D) Juveniles surrounding the vascular cylinder. Notice the swelling associated with the presence of juveniles.

Figura 2. Penetración e invasión de juveniles de *N. aberrans* en las raíces de jitomate cv Miroma a los 30 ddt. A-D) Juveniles en forma de “C” en el interior de las células corticales (flechas rojas). C-D) Juveniles alrededor del cilindro vascular. Nótese la presencia de abultamientos asociados con la presencia de los juveniles.

normally fixated in the proximity of the central cylinder (Figure 2C-D).

At 45 dat, an increase in the number of juveniles and radical galling was observed in the tomato plants, mainly with the populations of Romita and Tetela, finding 158 and 102 juveniles/gram of root, respectively (Table 1, Figure 3A-B). These populations displayed constant flows of penetration (Figure 4) as a result of a better adaptation to the particular soil and environmental

A los 45 ddt, se observó un aumento en la cantidad de juveniles y agallamiento radical en las plantas de jitomate, principalmente con las poblaciones de Romita y Tetela, encontrándose 158 y 102 juveniles/gramo de raíz, respectivamente (Cuadro 1, Figura 3A-B). Estas poblaciones mostraron flujos de penetración constante (Figura 4) como resultado de una mejor adaptación a las condiciones particulares del suelo y ambiente; inicialmente, es posible que los huevos presentes en los fragmentos de raíces

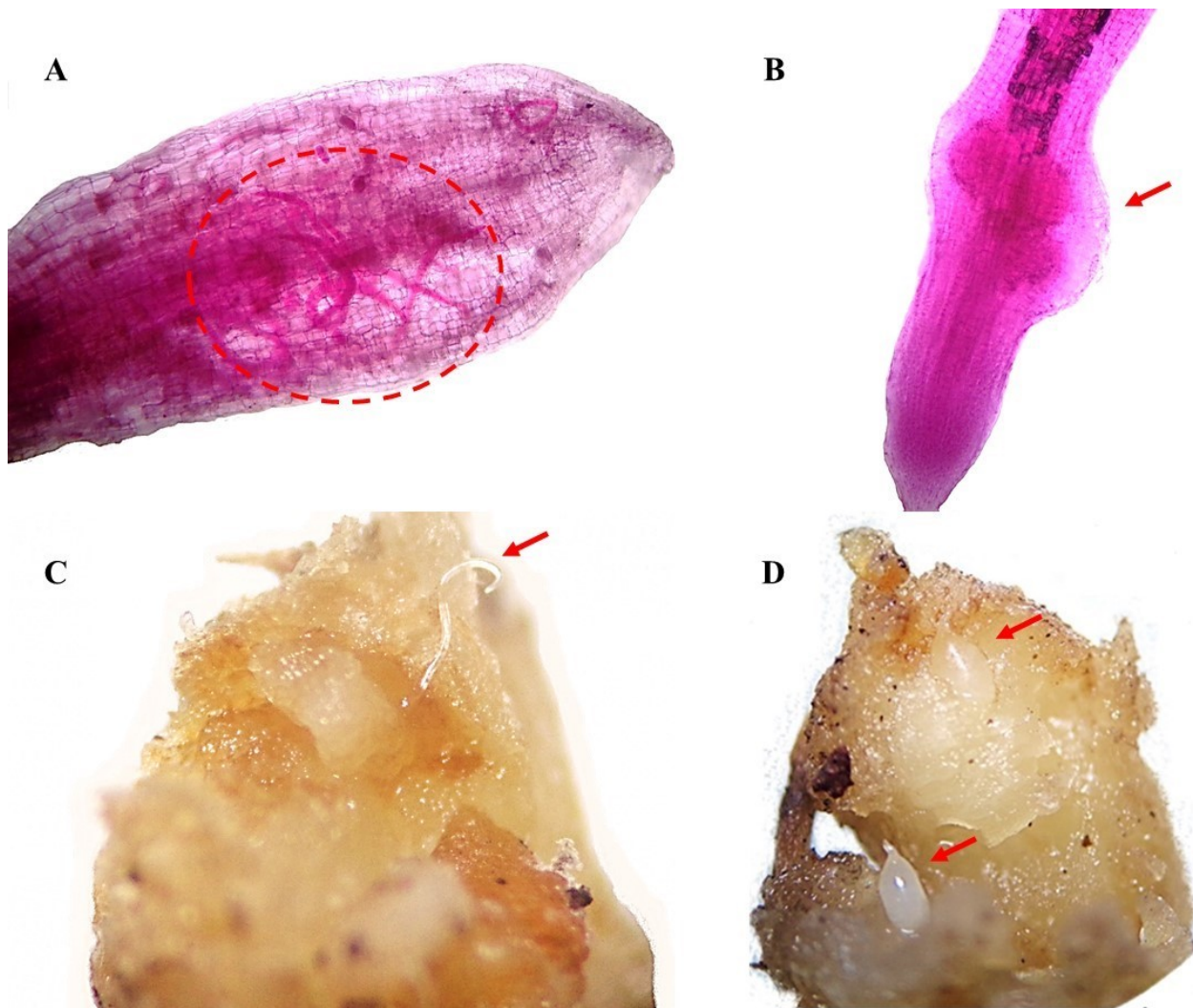


Figure 3. Invasion and penetration of juveniles of *N. aberrans* in tomato roots cv Miroma at 45 dat. A) Clustering of nematodes in the cortical cells and vascular cylinder of tomato roots (red circle). B) Swelling and root necrosis (red arrow). C) Adult male in galls (red arrow). D) Adult females in galls (red arrows).

Figura 3. Penetración e invasión de juveniles de *N. aberrans* en raíces de jitomate cv Miroma a los 45 ddt. A) Aglomeración de nematodos en las células corticales y cilindro vascular de las raíces de jitomate (círculo rojo). B) Abultamiento y necrosamiento radical (flecha roja). C) Presencia de macho adulto en agalla (flecha roja). D) Hembras adultas en agalla (flechas rojas).

conditions. Initially, it is possible that the eggs found in the fragments of inoculated root in both populations responded favorably to the stimuli for their eclosion and finalization of some internal latency condition (diapause) or to some type of environmental stress (quiescence) such as temperature (Van Gundy, 1985) or the presence

inoculadas de estas dos poblaciones respondieron favorablemente a los estímulos para su eclosión y finalización de alguna condición de latencia interna (diapausa) o por algún estrés ambiental (quiescencia) como la temperatura (Van Gundy, 1985) o la presencia del hospedante o lixiviados radicales (Huang y Pereira, 1994; Sikora y Noel, 1996).

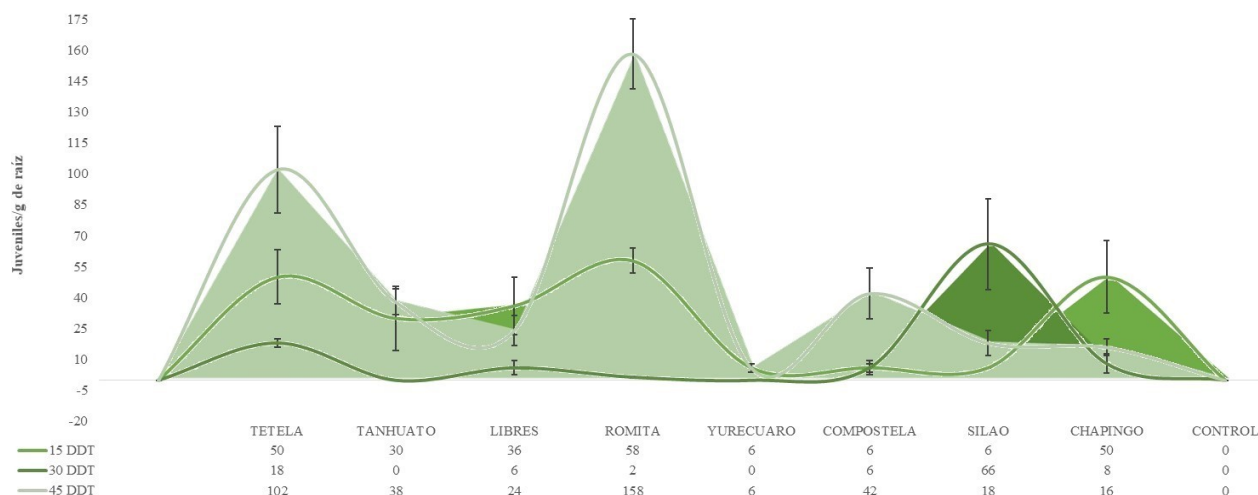


Figure 4. Penetration flows of *N. aberrans* populations at 15, 30 and 45 ddt. Bars indicate standard deviation.

Figura 4. Flujos de penetración de las poblaciones de *N. aberrans* a los 15, 30 y 45 ddt. Las barras indican la desviación estándar.

of the host or radical leachate (Huang and Pereira, 1994; Sikora and Noel, 1996). On the other hand, this could be due to these populations having found optimal conditions for their development, in such a way that allowed them to quickly complete their biological cycle (egg to egg) in comparison with the rest of the populations, leading to the production of overlapping populations.

It is possible that the low penetration of the juveniles of the populations from Yurécuaro and Compostela registered in this study are due to problems in the biological adaptation to the prevailing edaphic conditions, which may have affected their orientation, mobility and penetration abilities in the host, and the greater time it remained in the soil may have led it to experience some type of latency, since according to McSorley (2003), the soil surroundings provide nematodes with diverse degrees of protection against dehydration, although they run the risk of increasing the loss in body water as soils become drier, and this seriously affects their parasitic behavior.

Por otro lado, podría ser porque estas poblaciones encontraron las condiciones óptimas para su desarrollo, de tal modo que les permitió rápidamente completar su ciclo biológico (huevo a huevo) en comparación con el resto de las poblaciones llegando a producir generaciones superpuestas.

Es posible que la baja penetración de los juveniles, de las poblaciones provenientes de Yurécuaro y Compostela, registrada en este estudio, se deba a problemas de adaptación biológica a las condiciones edáficas prevalecientes, lo que pudo afectar su capacidad de orientación, movilidad y penetración en el hospedante, y al estar por mayor tiempo en el suelo pudieron experimentar algún tipo de latencia, ya que de acuerdo con McSorley (2003), el entorno del suelo ofrece diversos grados de protección a los nematodos contra la deshidratación, pero corren el riesgo de aumentar la pérdida de agua corporal a medida que los suelos se secan, y esto afectara seriamente su comportamiento parasítico.

Otra razón que explica la baja penetración de estas poblaciones, podría ser porque las etapas

Another reason that explains the low penetration of these populations may be that the biological stages (eggs and juveniles) were in a latency phase (diapause or quiescence) during inoculation and that a lack of favorable conditions for their development kept them in this way for longer. It is known that the stimulation of the eclosion of eggs in plant-parasitic nematodes is quite complex. For example, in some species of galling (*Meloidogyne* sp.) and cyst nematodes (*Heterodera* sp., *Globodera* sp.), a portion of the eggs hatching quickly, whereas others hatching slowly in time (Zheng and Ferris, 1991; Huang and Pereira, 1994), and the latter could have occurred in the Yurécuaro and Compostela populations.

All the populations, to a higher or lesser degree, managed to penetrate and invade the root system of the tomato plant, confirming the viability of the eggs and biological stages of the nematode. Differences in the rates of penetration and invasion based on the populational geographic origin of the nematodes were clearly observed, with the populations of Romita and Tetela being the most aggressive and best adapted, displaying several peaks of penetration (Figure 4). When fragments of galled roots are used as a source of inoculants, it is common to find all the biological stages of the nematode inside them, from masses of eggs in gelatinous matrices to mature and immature females, and uncommonly, adult males (Figure 3C), which have a certain degree of protection to edaphic factors (temperature, humidity, predators, parasites, etc.) when inside the roots. Once favorable conditions for their development are presented (whether environmental or the presence of a food source), they successfully infect their host, in comparison to those nematodes that only remain in associations with soil particles (Cristóbal-Alejo *et al.* 2001). According to McSorley (2003), the nematodes found in the roots of plants enjoy

biológicas (huevos y juveniles) se encontraban en una fase de latencia (diapausa o quiescencia) al momento de la inoculación y que al no contar con las condiciones favorables para su desarrollo se mantuvieron así por mayor tiempo. Se sabe que la estimulación de la eclosión de huevos en fitonemátodos es bastante compleja, por ejemplo, en algunas especies de nematodos agalladores (*Meloidogyne* sp.) y enquistadores (*Heterodera* sp., *Globodera* sp.), una porción de los huevos eclosiona rápidamente, mientras que otros eclosionan lentamente a través del tiempo (Zheng y Ferris, 1991; Huang y Pereira, 1994), y esto último pudo ocurrir en las poblaciones de Yurécuaro y Compostela.

Todas las poblaciones, en menor o mayor grado, lograron la penetración e invasión del sistema radical de las plantas de jitomate, confirmando la viabilidad de los huevos y estadios biológicos del nematodo. Se observó claramente diferencias en las tasas de penetración e invasión en función al origen geográfico poblacional del nematodo, siendo las poblaciones de Romita y Tetela más agresivas y mejor adaptadas al mostrar varios picos de penetración (Figura 4). Cuando se usan fragmentos de raíces agalladas como fuente de inóculo, es común encontrar en su interior todos los estadios biológicos del nematodo, desde masas de huevos en matriz gelatinosa hasta hembras inmaduras y maduras, y rara vez machos adultos (Figura 3C), que al estar en el interior de las raíces tienen cierto grado de protección a los factores edáficos (temperatura, humedad, depredadores, parásitos, etc.). Una vez que se presentan las condiciones favorables para su desarrollo (ambientales o presencia de una fuente de alimentación), infectan exitosamente a su hospedante, en comparación con aquellos nematodos que sólo permanecen asociados con las partículas del suelo (Cristóbal-Alejo *et al.* 2001). De acuerdo con McSorley (2003), los nematodos que se encuentran dentro de las raíces de las plantas disfrutaban de una

an optimum humidity and protection against desiccation, so long as the host—in this case, the fragments of inoculated galls—remains viable.

On the other hand, in the masses of eggs in the galls that were extracted, 1-2 females were found per gall (Figure 3D), similar to reports by Manzanilla-López *et al.* (2002). The adult female in the galls had a saccular-shaped midsection of the body, a rounded tail, a short neck and a rounded posterior section; these characteristics coincide with descriptions by Manzanilla-López *et al.* (2002) for *N. aberrans*. Several males were found around the egg masses (Figure 3C; data not registered). Manzanilla-López (1997) mentioned that up to 16 males have been found around the galls containing unfertilized females in tomato roots. This occurs because they are attracted by the gelatinous mass; they can be found in the egg mass (1 to 18) or inside the gall, beside the tail of the female.

Based on the results of this study, we can conclude that plant-parasitic nematodes in all biological stages were found (eggs, J2-J4, males, immature and mature females) in the different times evaluated (15, 30 and 45 dat). In addition, the populations of Romita and Tetela displayed the highest parasitic ability over the roots of tomato cv Miroma, presenting continuous flows of penetration and invasion in the plant root systems. Finally, there are clear differences in the behaviors of the populations of *N. aberrans* in terms of their fertility, ability of penetration and invasion of the radical system in tomato plants, depending on their geographic origin.

LITERATURE CITED

- Ahuja A and Singh SV. 2020. Diagnosis of plant-parasitic nematodes using loop-mediated isothermal amplification (LAMP): A review. *Crop Protection* 147: pp. 105459 <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105459>
- Byrd DWJr, Kirkpatrick T y Barker KR. 1983. An improved technique for clearing and staining tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15(1): 142-143.

óptima humedad y protección contra la desecación, mientras el hospedante se mantenga viable, en este caso los fragmentos de agallas inoculadas.

Por otro lado, las masas de huevos en las agallas que fueron extraídas, se encontraron de 1-2 hembras por agalla (Figura 3D), similar a lo reportado por Manzanilla-López *et al.* (2002). La hembra adulta presente en las agallas tenía el cuerpo en forma sacular en su parte media, cola redondeada, cuello corto y región posterior redondeada, estas características coinciden con las descripciones hechas por Manzanilla-López *et al.* (2002) para *N. aberrans*. Varios machos fueron encontrados alrededor de las masas de huevo (Figura 3C; datos no registrados). Manzanilla-López (1997) mencionó que se han encontrado hasta 16 machos rodeando a las agallas que contienen a hembras infertilizadas en raíces de jitomate, esto ocurre porque la masa gelatinosa los atrae; también pueden encontrarse en la masa de huevo (1 a 18) o dentro de la agalla, al lado de la cola de la hembra.

Con base a los resultados de este estudio se puede concluir que se encontraron nematodos de todos los estadios biológicos (huevos, J2-J4, machos, hembras inmaduras y maduras) en los diferentes tiempos evaluados (15, 30 y 45 ddt); además, las poblaciones de Romita y Tetela mostraron la mayor capacidad parasítica sobre las raíces de jitomate cv Miroma, presentando flujos continuos de penetración e invasión en el sistema radical de las plantas. Finalmente, existen claras diferencias en el comportamiento de las poblaciones de *N. aberrans* en cuanto a su fecundidad, capacidad de penetración e invasión del sistema radical en plantas de jitomate, en función de su origen geográfico.

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~



- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2618249/pdf/142.pdf>
- Cabrera-Hidalgo AJ, Marbán-Mendoza N, Valdovinos-Ponce G y Valadez-Moctezuma E. 2015. Genetic variability and phylogenetic analyses of *Nacobbus aberrans sensu lato* populations by molecular markers. *Nematropica* 45(2): 263-278. <https://journals.flvc.org/nematropica/article/view/87387>
- Cristóbal-Alejo J, Cid del Prado IV, Marbán-Mendoza N, Sánchez GP, Mora-Aguilera G y Manzanilla-López RH. 2001. Sobrevivencia de estadios biológicos de *Nacobbus aberrans* en condiciones de campo. *Nematropica* 31(2): 229-235. <https://journals.flvc.org/nematropica/article/view/69628>
- Evans AAF y Perry RN. 2009. Survival mechanisms, pp. 201-222. En: Perry, R. N., Moens, M., and Starr, J. L. (eds.). Root-knot nematodes. CAB International. Wallingford, Oxon. <https://doi.org/10.1079/9781845934927.0201>
- FAO/STAT, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2021. Cultivos. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (consulta marzo 2021).
- Fernández M y Ortega J. 1982. Comportamiento de las poblaciones de nematodos fitoparásitos en plátano enano Cavendish. *Ciencias de la Agricultura* 13: 7-17.
- Huang SP y Pereira AC. 1994. Influence of inoculum density, host, and low temperature period on delayed hatch of *Meloidogyne javanica* eggs. *Journal of Nematology* 26(1): 72-75. <https://journals.flvc.org/jon/article/view/66604/0>
- Inserra, R. N., Griffin G. D. y Anderson J. L. 1985. The false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *Research Bulletin, Utah Agricultural Experimental Station* No. 510. 14 p.
- Jones JT, Haegeman A, Danchin EGJ, Gaur HS, Kelder J, Jones MGK, Kikuchi T, Manzanilla-López RH, Palomares-Rius JE, Wesemael WML y Perry RN. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 14(9): 946-961. <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>
- McSorley R. 2003. Adaptations of nematodes to environmental extremes. *Florida Entomologist* 86(2): 138-142. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2003\)086\[0138:AONTEE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2003)086[0138:AONTEE]2.0.CO;2)
- Manzanilla-López RH. 1997. Studies on the characterisation and bionomics of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae). Ph. D. Thesis. University of Reading, U.K. 395 p.
- Manzanilla-López RH, Costilla MA, Doucet M, Inserra RN, Lehman PS, Cid del Prado-Vera I, Souza RM y Evans K. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32(2): 149-227. <https://journals.flvc.org/nematropica/article/view/69655>
- Martínez-Fuentes R, Tovar-Soto A y Torres-Coronel R. 2010. Penetración y Establecimiento de *Nacobbus aberrans* [(Thorne 1933) Thorne y Allen, 1944] Población Chapingo en Cultivares de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 28(1): 61-63. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092010000100007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092010000100007)
- Perry RN. 1997. Plant signals in nematode hatching and attraction. pp. 38-50. En: Fenoll C., Grubler F.M.W., Ohl S.A. (eds) Cellular and Molecular Aspects of Plant-Nematode Interactions. *Developments in Plant Pathology*, vol 10. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-5596-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-011-5596-0_4)
- Prasad SK y Webster JM. 1967. Effect of temperature on the rate of development of *Nacobbus serendipiticus* in excised tomato roots. *Nematologica* 13(1): 85-90. <https://doi.org/10.1163/187529267X00968>
- SIAP-SIACON, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera-Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. 2021. Modulo Agrícola Estatal. <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430> (consulta marzo, 2021).
- Sikora EJ y Noel GR. 1996. Hatch and emergence of *Heterodera glycines* in root leachate from resistant and susceptible soybean cultivars. *Journal of Nematology* 28(4): 501-509. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19277168/>
- Souza RM y Baldwin JG. 2000. Differential behaviour of the survival stages of *Nacobbus aberrans* (Nemata: Pratylenchidae) under sub-optimal environments. *Nematologica* 2(2): 211-215. <https://doi.org/10.1163/156854100508944>
- Umesh KC. 1994. Competition between the plant-parasitic nematodes *Pratylenchus neglectus* and *Meloidogyne chitwoodi*. *Journal of Nematology* 26(3): 286-295. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2619500/pdf/286.pdf>
- Van Gundy SD. 1985. Ecology of *Meloidogyne* spp. -emphasis on environmental factors affecting survival and pathogenicity. pp. 177-182. En: Sasser J. N., and Carter C. C. (eds.). *An Advanced Treatise of Meloidogyne*. Vol. I. Biology and Control. Carolina State University Graphics, Raleigh, NC.
- Zheng L y Ferris H. 1991. Four types of dormancy exhibited by eggs of *Heterodera schachtii*. *Revue de Nématologie* 14(3): 419-426. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.539.4099&rep=rep1&type=pdf>