



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**CARACTERIZACIÓN, AGRESIVIDAD Y DISTRIBUCIÓN DE
Rotylenchulus reniformis EN CAMPOS DE TOMATE EN
SINALOA, Y SU INTERACCIÓN CON *Meloidogyne enterolobii***

Por

María Trinidad Valdez Morales

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS DE
ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito parcial para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de María Trinidad Valdez Morales, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctora en Ciencias.



Dr. Juan Manuel Tovar Pedraza
Director de tesis



Dr. Raymundo Saúl García Estrada
Integrante de comité de tesis



Dra. Josefina León Félix
Integrante de comité de tesis



Dr. José Ángel Martínez Gallardo
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Caracterización, Agresividad y Distribución de *Rotylenchulus reniformis* en Campos de Tomate en Sinaloa, y su Interacción con *Meloidogyne enterolobii*" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora María Trinidad Valdez Morales, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos

Dra. Graciela Calre Juvera
Directora General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnologías (CONAHCYT), por el apoyo económico brindado durante este posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), por abrirme las puertas una vez más y brindarme el apoyo para poder culminar mi doctorado en ciencias.

A mi director de tesis el Dr. Juan Manuel Tovar Pedraza. Gracias por su apoyo, sus consejos y enseñanzas, por compartir su conocimiento y por ser guía fundamental para la realización de este proyecto.

Al MC. José Armando Carrillo Fasio. Gracias por compartir conmigo sus conocimientos, por brindarme su apoyo durante toda mi estancia en el laboratorio de Nematodos, pero sobre todo agradezco su amistad y sus consejos de aliento.

A mis asesores de tesis: Dr. Raymundo Saúl García Estrada, Dra. Josefina León Félix y Dr. José Ángel Martínez Gallardo. Gracias por su apoyo y por la disponibilidad que siempre mostraron para compartir sus experiencias y conocimientos conmigo para la elaboración de este trabajo.

A los técnicos de los diferentes laboratorios de CIAD donde tuve la oportunidad de trabajar: Ing. Brissa Darinka Plata Vargas, Ing. Luis Osuna, Dr. Isidro Márquez, Dra. Isabel Cruz Lachica. Gracias por guiarme y facilitarme los instrumentos y herramientas de trabajo.

A MC. Omar Alejandro Miranda Campaña; Amigo gracias por todos tus consejos, por tu ayuda incondicional, por tu compañía y amistad, gracias por hacer más amena esta travesía, agradezco infinitamente haber coincidido contigo en esta etapa.

A mis compañeros del equipo FITONEMA: Perla Rubí García, Maria Bélica Contreras, Judith Salazar, Juan Pablo y Heriberto Bayardo. Gracias por la convivencia, por los buenos momentos compartidos.

A mis amigos y familiares. Por las palabras de motivación, por la convivencia y los momentos en los que lograron que olvidara un poco la presión que implica el posgrado.

DEDICATORIA

Dedicado especialmente a mi hijo Manuel Osuna Valdez (Manuelito). A quien en muchas ocasiones le robe tiempo de compañía y juego porque mamá tenía tareas pendientes, clases que tomar o experimentos que atender. Gracias por ser el motor de mi vida.

A mi esposo José Manuel Osuna Rodríguez. Gracias por tu apoyo incondicional, pero sobre todo gracias por ser el aliento donde siempre encuentro consuelo y solución a cualquier problema u obstáculo.

A mi madre y hermanos. Gracias por su apoyo incondicional, ustedes son los cimientos más fuertes que sostienen mi vida. A mis ángeles del cielo, mis padres Gerónimo y Modesto.

A la familia Osuna Rodríguez. Por su apoyo incondicional, por sus palabras de ánimo y motivación. La presencia de todos ustedes, su amor incondicional, comprensión y aliento han sido mi luz en los momentos más oscuros. Este logro no solo es mío, sino también de ustedes, quienes han estado presentes en cada instante.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
CONTENIDO	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
1. SINOPSIS	9
1.1. Justificación	9
1.2. Antecedentes.....	9
1.2.1. Importancia del Cultivo de Tomate	9
1.2.2. Plagas y Enfermedades del Tomate	10
1.2.3. Nematodo Reniforme o Arriñonado (<i>Rotylenchulus reniformis</i>)	11
1.2.4. Taxonomía y Biología	11
1.2.5. Distribución y Rango de Hospedantes.....	13
1.2.6. Sintomatología y Umbral de daño económico.....	13
1.2.7. Identificación de <i>R. reniformis</i>	14
1.2.8. Competencia de <i>R. reniformis</i> con Otros Nematodos Fitoparásitos	15
1.2.9. Manejo Integrado de <i>R. reniformis</i>	16
1.3. Hipótesis	17
1.4. Objetivo General.....	18
1.5. Objetivos Específicos	18
1.6. Sección Integradora del Trabajo.....	19
1.7. Literatura Citada	20
2. MORPHOLOGY, PHYLOGENY, AND REPRODUCTION OF <i>Rotylenchulus reniformis</i> POPULATIONS FROM TOMATO FIELDS IN SINALOA, MEXICO	24
3. OCCURRENCE OF THE RENIFORM NEMATODE <i>Rotylenchulus reniformis</i> PARASITIZING CUCUMBER AND EGGPLANT IN MEXICO	49
4. COMPETITIVE INTERACTION BETWEEN <i>R. reniformis</i> AND <i>M. enterolobii</i> in TOMATO AND CUCUMBER PLANTS	52
5. RESPONSE OF COMMERCIAL CULTIVARS AND EFFICACY OF NEMATICIDES FOR THE MANAGEMENT OF <i>Rotylenchulus reniformis</i> IN TOMATO UNDER GREENHOUSE CONDITIONS	75
6. CONCLUSIONES GENERALES	97

RESUMEN

En Sinaloa, la producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es comúnmente afectada por el nematodo *Rotylenchulus reniformis*. Esta especie se considera como uno de los 10 principales nematodos fitoparásitos, en función de su impacto económico e importancia científica. Por lo anterior, el objetivo general de este estudio fue determinar la distribución, agresividad y estrategias de control de poblaciones de *Rotylenchulus* presentes en campos hortícolas de Sinaloa, así como su interacción con *Meloidogyne enterolobii*. Mediante la combinación de estudios morfológicos (microscopia electrónica de barrido y microscopia de luz), análisis filogenéticos y pruebas de patogenicidad, se comprobó la identidad de tres poblaciones de *R. reniformis* de las cuales, una resultó tener mayor agresividad en plantas de tomate que el resto de las poblaciones. Posteriormente se determinó la interacción de *R. reniformis*, con *M. enterolobii* a dosis de inóculo de 2000 juveniles-planta en plantas de tomate y pepino, colocando tratamientos con ambos nematodos en mezcla y separados. En plantas de pepino, *M. enterolobii* disminuyó su reproducción en presencia de *R. reniformis*, además redujo su índice de agallamiento; mientras que, *R. reniformis* disminuyó su reproducción en presencia de *M. enterolobii*, pero no redujo la severidad de necrosis. En plantas de tomate, ambos nematodos disminuyeron su factor de reproducción y la severidad de los síntomas en los tratamientos donde se inocularon en conjunto. Posteriormente, se determinó la reproducción y severidad de *R. reniformis* en tres cultivares de tomate (Imperial, Sweetelle y Byelsa) a dosis de inóculo de 0, 2000 y 5000 juveniles-planta. El cv. Sweetelle presentó menor factor de reproducción por lo cual se consideró el menos susceptible al nematodo. Finalmente se evaluaron nematicidas comerciales químicos, biológicos y botánicos en plantas de tomate inoculadas con 2000 juveniles-planta. En general, las plantas tratadas con los nematicidas químicos presentaron menor porcentaje de necrosis en raíces y menor factor de reproducción del nematodo. Los productos químicos, biológicos y botánicos con mayor control de *R. reniformis* fueron fluazaindolizine, *Purpureocillium lilacinum* y extracto de quillaja, respectivamente.

Palabras clave: *Rotylenchulus reniformis*, *Meloidogyne enterolobii*, factor de reproducción, susceptibilidad, interacción, biocontrol, extractos botánicos, nematicidas.

ABSTRACT

In Sinaloa, the production of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is commonly affected by the nematode *Rotylenchulus reniformis*. Based on its economic impact and scientific importance, this species is considered one of the top 10 plant-parasitic nematodes species is considered one of the top 10 plant-parasitic nematodes based on its economic impact and scientific importance. Therefore, the main objective of this study was to determine the distribution, aggressiveness, and control strategies of *Rotylenchulus* populations present in horticultural fields of Sinaloa, as well as their interaction with *Meloidogyne enterolobii*. Through the combination of morphological studies (scanning electron microscopy and light microscopy), phylogenetic analyses, and pathogenicity tests, the identity of three *R. reniformis* populations was confirmed, one of which showed greater aggressiveness on tomato plants than the others. Subsequently, the interaction between *R. reniformis* and *M. enterolobii* was assessed using an inoculum dose of 2,000 juveniles-plant on tomato and cucumber plants, with treatments involving both nematodes in mixture and separately. In cucumber plants, *M. enterolobii* reduced its reproduction and galling index in the presence of *R. reniformis*, while *R. reniformis* also reduced its reproduction in the presence of *M. enterolobii* but did not decrease necrosis severity. In tomato plants, both nematodes reduced their reproduction factor and symptom severity in the treatments where they were co-inoculated. Subsequently, the reproduction and severity of *R. reniformis* were determined in three tomato cultivars (Imperial, Sweetelle, and Byelsa) with inoculum doses of 0, 2,000, and 5,000 juveniles/plant. The Sweetelle cultivar showed the lowest reproduction factor, making it less susceptible to the nematode. Finally, commercial chemical, biological, and botanical nematicides were evaluated on tomato plants inoculated with 2,000 juveniles-plant. In general, plants treated with chemical nematicides showed a lower percentage of root necrosis and a lower nematode reproduction factor. The chemical, biological, and botanical products that provided the best control of *R. reniformis* were fluazaindolizine, *Purpureocillium lilacinum*, and quillaja extract, respectively.

Keywords: *Rotylenchulus reniformis*, *Meloidogyne enterolobii*, reproduction factor, susceptibility, interaction, biocontrol, botanical extracts, nematicides.

1. SINOPSIS

1.1. Justificación

En Sinaloa, la información sobre el nematodo reniforme *R. reniformis* es escasa, aunado a que la presencia de *R. reniformis* en cultivos hortícolas es de suma importancia, ya que ocasiona daños significativos en las plantas y genera pérdidas económicas en la producción. La principal justificación de esta investigación es de carácter científica ya que generó conocimiento sobre la distribución, identificación, agresividad y estrategias de manejo del nematodo *R. reniformis*, además, de su interacción con *Meloidogyne enterolobii*. Esta información servirá en un futuro para establecer estrategias de manejo que ayuden a reducir pérdidas económicas ocasionadas por el nematodo reniforme bajo condiciones de campo.

1.2. Antecedentes

1.2.1. Importancia del Cultivo de Tomate

El tomate cultivado (*Solanum lycopersicum* L.) pertenece a la familia de las solanáceas que incluye a más de 3000 especies, muchas con importancia económica como la papa (*Solanum tuberosum*), berenjena (*Solanum melongena*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) y pimiento (*Capsicum annuum*), entre otras (Spooner *et al.*, 2005). El tomate es un cultivo muy importante a nivel mundial, debido a su demanda y alto valor nutricional, su producción ha ido en aumento en los últimos años. Este cultivo es una de las principales hortalizas en el mundo tanto por la superficie que se cultiva como por la producción obtenida; ya que ocupa el segundo lugar después de la papa (Hernández-Herrera *et al.*, 2014). La notable producción de tomate que generan los horticultores mexicanos ha permitido a México mantenerse dentro de los principales exportadores mundiales. La oferta ha

promediado en los últimos cinco años un millón 710 mil t anuales. En particular, la zona noreste de México es la de mayor importancia, destacando al estado de Sinaloa como principal productor de tomate (SIAP, 2024). De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en 2023 se sembraron en México 11,843 hectáreas y se tuvo una producción de 712,013 toneladas de tomate, lo que representó un rendimiento de 60.11 t, con lo cual Sinaloa logró colocarse en tercer lugar nacional en cuanto a valor de la producción con 80 mil 187 millones de pesos.

1.2.2. Plagas y Enfermedades del Tomate

El cultivo de tomate como cualquier otro cultivo agrícola, está sujeto a la afectación por varios patógenos causantes de enfermedades que limitan su crecimiento y rendimiento. Dentro de los principales fitopatógenos destacan *Phytophthora infestans*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Xanthomonas* spp., *Clavibacter michiganensis*, *Leveillula taurica* (Panno *et al.*, 2021) y el agallamiento de raíz por los nematodos del género *Meloidogyne*, principalmente por las especies *M. hapla*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. enterolobii* (Faske *et al.*, 2022). Así como también, los nematodos lesionadores de raíz, principalmente la especie *Rotylenchulus reniformis* (Faske *et al.*, 2022; Bhuyan y Devi, 2024).

La mayoría de los cultivos vegetales incluido el tomate, son afectados por nematodos fitoparásitos, en EE. UU., se han reportado pérdidas de rendimiento por nematodos fitoparásitos de más de 7 % en cultivos de solanáceas (Gorny *et al.*, 2024). El cultivo de tomate es afectado de manera significativa por nematodos lesionadores, siendo el nematodo reniforme *Rotylenchulus reniformis* la especie más predominante en este hospedante (Ye, 2018). Por otra parte, este nematodo afecta a diversos cultivos agrícolas en todo el mundo (Sikora *et al.*, 2021), y se ha reportado ocasionando pérdidas sustanciales en cultivos de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y soja (*Glycine max* L.) en el sur de EE. UU. (Faske y Sisson 2024).

1.2.3. Nematodo Reniforme o Arriñonado (*Rotylenchulus reniformis*)

El término “reniforme” proviene del nombre de la especie tipo, *R. reniformis* (Linford y Oliveira, 1940), y se refiere a la forma similar a un riñón del cuerpo de las hembras maduras sedentarias, una forma que caracteriza a todos los miembros del género *Rotylenchulus*. El nematodo reniforme, es un parásito sedentario de la raíz que representa una amenaza significativa para la producción agrícola en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Zhang, 2019; Shi *et al.*, 2023) y se considera como uno de los 10 principales nematodos fitoparásitos en función de su impacto económico e importancia científica (Jones *et al.*, 2013). Este nematodo puede infectar las raíces de más de 300 especies de plantas, incluyendo algodón, soja, piña, olivo y tomate (Wubben *et al.*, 2010; Nguyen *et al.*, 2020). En comparación con la mayoría de los nematodos fitoparásitos, *R. reniformis* está ampliamente adaptado a diferentes tipos de suelo, incluidos suelos con alto contenido de limo y arcilla, y puede colonizar profundamente el suelo y mantener un estado anhidrobiótico (el nematodo pierde el agua de su cuerpo) para sobrevivir al invierno (Robinson, 2007).

Las especies de *Rotylenchulus* se consideran patógenos potencialmente peligrosos, ya que existen reportes de especies bien adaptadas a condiciones de sequía. Además, su ciclo de vida tiende a ser más corto en plantas hospedantes altamente susceptibles (Palomares *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021). Todas estas características dificultan la eliminación de este nematodo de los suelos infestados (Nguyen *et al.*, 2020). La identificación de las especies de nematodos reniformes, su distribución y su rango de hospedantes es de fundamental importancia para un manejo integrado efectivo (Sikora *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2023).

1.2.4. Taxonomía y Biología

La clasificación de los nematodos reniformes ha sido objeto de discusión durante muchos años. Este género comprende 16 especies descritas (Palomares *et al.*, 2018). La ubicación taxonómica de *Rotylenchulus reniformis* de acuerdo con Starr *et al.* (2002) es la siguiente:

Phylum	Nematoda
Clase	Secernentea
Orden	Tylenchida
Suborden	Tylenchina
Superfamilia	Tylenchidea
Familia	Hoplolaimidae
Subfamilia	Rotylenchulinae
Género	<i>Rotylenchulus</i>
Especie	<i>R. reniformis</i>

El comienzo del ciclo de vida de *R. reniformis* como el de otros nematodos parásitos de plantas inicia con la muda del estado de J1 a J2 que ocurre dentro del huevo y la eclosión del J2 (Starr *et al.*, 2013). Sin embargo, a diferencia de la mayoría de los otros nematodos fitoparásitos, el estado J2 de *R. reniformis* no es la etapa infectiva; en cambio, el J2 entra en una serie de tres mudas superpuestas sin alimentarse (Jones *et al.*, 2013). La muda final produce un macho adulto o una hembra vermiforme inmadura, es decir, una hembra en forma de gusano (no arriñonada) (Agudelo *et al.*, 2005). Los nematodos machos adultos de *R. reniformes* no se alimentan. Las hembras vermiformes infecciosas penetran en la epidermis de la raíz del hospedante y establecen un sitio de alimentación llamado sincitio, en el periciclo de la raíz (Starr *et al.*, 2013). El sincitio multinucleado proporciona los nutrientes necesarios para que la hembra madure y produzca huevos tras la fertilización por parte del macho. En el caso de *Rotylenchulus*, se ha reportado que existen poblaciones con ausencia de machos y por lo tanto solo se lleva a cabo la reproducción por partenogénesis. El sincitio de alimentación comienza como una célula sincitial inicial (ISC), generalmente de origen endodérmico, que se expande rápidamente para abarcar 100–200 células a través de la disolución extensa de la pared celular y la fusión citoplasmática. El sincitio muestra un aumento de la actividad metabólica, núcleos hipertrofiados y citoplasma granular (Agudelo *et al.*, 2005).

1.2.5. Distribución y Rango de Hospedantes

Rotylenchulus reniformis es un nematodo que está ampliamente distribuido en zonas tropicales, subtropicales y templadas cálidas de América del Sur, América del Norte, la Cuenca del Caribe, África, el sur de Europa, el Medio Oriente, Asia, Australia y el Pacífico. Esta distribución le permite tener un amplio rango de hospedantes y una adaptabilidad extremadamente evolucionada (Van den Berg y Quénéhervé, 2012).

Las poblaciones de nematodos reniformes están determinadas por el tipo de plantas susceptibles a las que ataca, así como por las temperaturas y condiciones del suelo que favorecen su actividad (Koon, 2007). Al respecto, se ha reportado que la textura del suelo, la aireación, el nivel de humedad y las características químicas del suelo (pH y conductividad eléctrica) influyen en gran medida en el ciclo biológico de los nematodos, siendo la textura del suelo el factor más importante para su desarrollo y reproducción (Guzmán *et al.*, 2008; Silva y Franzener, 2015). Estudios previos han indicado que las mayores poblaciones de *R. reniformis* se encuentran en suelos de textura arenosa, con un pH ligeramente alcalino, ricos en materia orgánica y con un alto contenido de humedad (Guevara *et al.*, 2016; Castilla *et al.*, 2017).

1.2.6. Sintomatología y Umbral de daño económico

Los efectos observables de los nematodos reniformes en las plantas son generalmente sutiles. La infección por *R. reniformis* con poblaciones muy elevadas provoca retraso en el crecimiento en las plantas, así como clorosis en las hojas, mientras que, en las raíces se muestra raquitismo y necrosis (Nguyen *et al.*, 2020). Además, las plantas infectadas por *R. reniformis* a menudo presentan complejos de enfermedades que involucran otros patógenos con origen en el suelo, como *Neocosmospora solani*, *Verticillium* spp. y *Rhizoctonia solani*, lo que lleva a pérdidas aún mayores (Castilla *et al.*, 2017).

Rotylenchulus reniformis ocasiona pérdidas que van de 10 a 60% en cultivos de algodón en la región de Louisiana, Mississippi y Alabama (Starr *et al.*, 2013). Porcentajes similares, aunque un

poco más reducidos, se presentan en legumbres y vegetales en la India donde se han empleado para su control productos químicos, sin éxito. En Brasil, se presenta en cultivos de algodón, soja, plátano, tomate y maracuyá, ocasionando pérdidas que oscilan alrededor de 60% y con niveles poblacionales de 11,360 a 25,320 nematodos en muestras de 1 kg de suelo (Machado *et al.*, 2010).

1.2.7. Identificación de *R. reniformis*

El género *Rotylenchulus* comprende 16 especies descritas, algunas de ellas con una distribución global y otras con un rango más limitado (Van den Berg *et al.*, 2016; Palomares *et al.*, 2018). La identificación del género se basa principalmente en caracteres morfológicos de las hembras vermiformes pre-parasíticas. La identificación a nivel de especie es posible basándose en la presencia o ausencia de machos y en caracteres morfológicos de las hembras inmaduras, incluyendo la longitud del estilete, la posición de la vulva, la forma de la región cefálica y la forma del extremo de la cola (Palomares *et al.*, 2018).

Las hembras de *Rotylenchulus* poseen un cuerpo vermiforme delgado y espiral en forma de C; con una longitud alrededor de 0.40 mm. El estilete da vuelta y se inclina posteriormente, además, el bulbo medio del esófago posee distintas válvulas y las glándulas basales del esófago están posicionadas de forma lateral y ventral al intestino. La vulva no es prominente y ocurre en el 70% de la longitud de su cuerpo. Los ovarios de la hembra inmadura están opuestos por una doble flexión y la cola es estrecha y se posiciona con una curva (Sipes, 2000).

El cuerpo de las hembras maduras adquiere la forma de un riñón, con un cuello irregular que mide 0.38–0.52 mm de longitud. Al sufrir este cambio de forma, la vulva se diferencia por la aparición de labios y el cuerpo que se encuentra alejado del ano tiene forma hemisférica con una parte delgada con una longitud de 5-9 μm . En esta etapa el estilete está bien desarrollado y la cutícula es más gruesa. Los ovarios son más largos y los huevos son depositados en una matriz gelatinosa (Sipes, 2000).

Los machos son vermiformes, con la parte anterior reducida y la presencia de un estilete reducido. El esófago de los machos es degenerado con el bulbo y la válvula de tamaño mediano, además que los machos de este género no se alimentan; siendo las hembras las únicas que se alimentan. La

espícula es larga y delgada con forma curva y ubicada en la parte ventral. Los machos y juveniles permanecen en el suelo (Starr *et al.*, 2002).

La alta variabilidad intraespecífica de las características diagnósticas hace que la identificación de este grupo en función de la morfología sea una tarea difícil. Recientemente, se han empleado con éxito enfoques basados en ADN para el diagnóstico molecular y la exploración de la diversidad de especies de *Rotylenchulus* (Leach *et al.*, 2012; Nyaku *et al.*, 2013a; Deng *et al.*, 2015; Van den Berg *et al.*, 2016). Los estudios filogenéticos han informado que este género de nematodos exhibe altos niveles de variación intraespecífica e intraindividual en secuencias de ARNr 18S (Nyaku *et al.*, 2013b; Van Den Berg *et al.*, 2016; Palomares *et al.*, 2018; Qing *et al.*, 2019). La mayoría de los tipos de la región D2 del ARNr 28S (tipos A y B) en *R. reniformis* se han caracterizado como funcionales a través del modelado de la estructura secundaria y el mapeo de mutaciones. Van Den Berg *et al.* (2016) reportaron tres marcadores moleculares (dominios de expansión D2-D3 del gen ARNr 28S, región ITS y ADNmt *coxI*) para la caracterización filogenética de especies de *Rotylenchulus*. De manera similar, Shi *et al.* (2023) también utilizaron las secuencias del gen ARNr 28S y la región ITS, reportando la presencia de dos tipos (A y B) de la especie *R. reniformis*.

1.2.8. Competencia de *R. reniformis* con Otros Nematodos Fitoparásitos

Los estudios de interacciones entre nematodos fitoparásitos han demostrado que dichas relaciones pueden ser antagónicas para cualquiera de los nematodos cuando se alimentan de la misma planta (Diez *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2015).

Rotylenchulus reniformis y *Meloidogyne enterolobii* son especies de nematodos muy importantes y ambas especies se encuentran dentro de los 10 nematodos fitoparásitos de mayor impacto económico e importancia científica a nivel mundial (Jones *et al.*, 2013). Tanto *Rotylenchulus* spp. como *Meloidogyne* spp. forman sitios de alimentación en las raíces de las plantas. *Meloidogyne enterolobii* es un nematodo endoparásito sedentario y su parasitismo implica la inducción de células gigantes en el parénquima (Starr *et al.*, 2002; Perry y Moens, 2013). Entretanto, *R. reniformis* es un nematodo semiendoparásito e induce la formación de sincitios, principalmente en las células del periciclo (Starr *et al.*, 2002). Aunque los sitios de infección por nematodos ecto y

endoparásitos son diferentes, pueden ocurrir interacciones entre las especies y estas pueden ser antagónicas o supresoras para una de las especies involucradas (Robinson *et al.*, 2007; Gomes *et al.*, 2014).

Los estudios de interacciones entre nematodos fitoparásitos han demostrado que dichas relaciones pueden ser antagónicas para cualquiera de los nematodos cuando se alimentan de la misma planta (Diez *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2015). Además, los efectos de las interacciones entre especies de nematodos están relacionados con la naturaleza del parasitismo y competencia, dado que, la relación competitiva aumenta a medida que la relación hospedante-parásito se vuelve más compleja (Kesba *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2007).

Se ha demostrado que existe interacción por competencia de espacio y nutrientes en el caso de nematodos lesionadores de los géneros *Helicotylenchus*, *Pratylenchus* y *Rotylenchulus*, (Gomes *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2015). Por otra parte, existen diversos estudios que determinaron la interacción de *R. reniformis* con *Meloidogyne* spp., incluyendo a *M. javanica* y *M. incognita* en distintas plantas hospedantes como piña (*Ananas comosus* L), algodón (*Gossypium hirsutum* L), tomate y ricino (*Ricinus communis* L). En dichos estudios, se registró que *R. reniformis* presentó una ventaja competitiva sobre especies de *Meloidogyne* en inoculaciones conjuntas, ya que se observó una reducción en el agallamiento de raíces (Diez *et al.*, 2003; Faske y Hurd, 2015; Ferreira *et al.*, 2015). También se ha evaluado la interacción de *M. enterolobii* con nematodos lesionadores como *Helicotylenchus dihysteroides* en plántulas de guayaba (*Psidium guajava* L), no obstante, solo se observaron síntomas ocasionados por *M. enterolobii* tanto en los tratamientos donde se inocularon separados como en conjunto (Gomes *et al.*, 2014).

Las interacciones entre *M. enterolobii* y *R. reniformis* en plantas de tomate y pepino no se han estudiado, pero se menciona que *R. reniformis* puede tener una ventaja competitiva sobre el nematodo agallador debido a su alto grado de parasitismo (Diez *et al.*, 2003; Robinson, 2007, Aryal *et al.*, 2011).

1.2.9. Manejo Integrado de *R. reniformis*

En comparación con la mayoría de los nematodos fitoparásitos, *R. reniformis* está ampliamente

adaptado a diferentes tipos de suelos, incluidos suelos con alto contenido de limo y arcilla, y puede colonizar profundamente el suelo y mantenerse en un estado anhidrobiótico, es decir que pierde su humedad para sobrevivir el invierno (Robinson, 2007). Todas estas características dificultan la eliminación de este nematodo de los suelos infestados, además que, las estrategias de manejo para este nematodo dependen de los nematicidas químicos, ya sea que se utilicen como parte de un programa de manejo integrado o como una estrategia de control individual. Los nematicidas fumigantes son altamente efectivos, pero requieren equipos de aplicación especializados y tienen costos de producción más altos que los nematicidas no fumigantes. Los nematicidas no fumigantes son los nematicidas más comúnmente utilizados en la producción agrícola y los más efectivos, como el aldicarb y el oxamil, no obstante, son altamente tóxicos para el medio ambiente y la salud humana (Faske y Hurd, 2015; Chen *et al.*, 2020).

Recientemente se han evaluado nematicidas no fumigantes, incluyendo al fluensulfone, fluopyram y fluazaindolizine para el control de *R. reniformis* en diferentes cultivos como tomate, pepino y algodón (Sikora *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2023; Soto-Ramos *et al.*, 2023). Además, para promover la producción de alimentos saludables y de alta calidad utilizando métodos efectivos, de bajo impacto al ambiente y costo se han propuesto estrategias de manejo integrado de plagas que combinan múltiples tácticas para el control de *R. reniformis*, como son, el uso de productos biológicos y productos a base de extractos botánicos, la rotación de cultivos y el desarrollo de cultivares resistentes (Shi *et al.*, 2023).

La utilización de cultivares resistentes para el manejo de *R. reniformis* es una opción que se ha estudiado desde hace varios años, por lo que la identificación de marcadores de resistencia a nematodos es esencial para el desarrollo de cultivares comerciales (Soto-Ramos *et al.*, 2023). Por ejemplo, estudios demostraron que, en el cultivo de algodón, la combinación de nematicidas y cultivares resistentes puede potencialmente extender las temporadas en las que se podría producir un cultivar resistente sin necesidad de una rotación de cultivos para manejar nematodos fitoparásitos (Sikora *et al.*, 2021).

1.3. Hipótesis

H1. Al menos dos especies de *Rotylenchulus* ocasionan daños en cultivos hortícolas de Sinaloa

siendo *R. reniformis* la especie más frecuente. Además, las poblaciones de *Rotylenchulus* son diferentes con respecto a su factor de reproducción en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero.

H2. Las poblaciones de *Rotylenchulus* son diferentes con respecto a su factor de reproducción y severidad de síntomas en plantas de tomate, pepino y berenjena bajo condiciones de invernadero.

H3. En presencia de *Rotylenchulus reniformis* se disminuye el factor de reproducción de *Meloidogyne enterolobii* en plantas de tomate y pepino, y viceversa.

H4. La susceptibilidad de los cultivares comerciales de tomate es diferente con base en el factor de reproducción del nematodo y la severidad de los síntomas ocasionados.

H5. Al menos uno de los productos químicos, biológicos y botánicos reducirá con más de 50% el factor de reproducción de *R. reniformis* y la severidad de los síntomas ocasionados en plantas de tomate.

1.4. Objetivo General

Identificar mediante análisis morfo-molecular, determinar la agresividad y evaluar estrategias de control de las poblaciones de *Rotylenchulus* presentes en campos con tomate en Sinaloa, además de estudiar su interacción con *Meloidogyne enterolobii*.

1.5. Objetivos Específicos

1. Identificar la especie de *Rotylenchulus* presente en zonas hortícolas de Sinaloa mediante análisis morfológicos y filogenéticos, y determinar el factor de reproducción de las poblaciones de *Rotylenchulus* en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero.
2. Determinar el factor de reproducción y severidad de daños de poblaciones de *Rotylenchulus* en plantas de tomate, pepino y berenjena bajo condiciones de invernadero.
3. Evaluar la interacción entre *Rotylenchulus reniformis* y *Meloidogyne enterolobii* en plantas de

tomate y pepino bajo condiciones de invernadero.

4. Determinar la severidad de la enfermedad y la reproducción de *R. reniformis* en cultivares comerciales de tomate bajo condiciones de invernadero.
5. Determinar la efectividad de productos químicos, biológicos y botánicos para el manejo de *Rotylenchulus reniformis* en plantas de tomate.

1.6. Sección Integradora del Trabajo

En esta tesis se incluyen cuatro artículos de investigación, de los cuales: el primero se encuentra enviado, el segundo se encuentra publicado, el tercero se encuentra enviado y el cuarto están en preparación para enviarse a la revista.

El primer artículo “Morphology, phylogeny, and reproduction of *Rotylenchulus reniformis* populations from tomato fields in Sinaloa, Mexico” se encuentra enviado a la revista *Phytoparasitica*, pertenece al objetivo 1. En dicho artículo se caracterizaron morfológica y molecularmente a tres poblaciones de *R. reniformis* presentes en áreas productoras de hortalizas en Sinaloa, México; además, se determinó su patogenicidad y agresividad en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero. Los resultados de dicho artículo permitieron seleccionar una población de *R. reniformis* para los posteriores estudios, ya que se confirmó la identidad del nematodo reniforme y se observó mayor agresividad en una de las poblaciones evaluadas.

El segundo artículo “Occurrence of the reniform nematode *Rotylenchulus reniformis* parasitizing cucumber and eggplant in Mexico” se encuentra publicado en la revista *Plant Health Progress*, abordó en objetivo 2. En este estudio se reporta por primera vez la presencia del nematodo reniforme *R. reniformis* afectando cultivo de pepino y berenjena en el estado de Sinaloa, México y se demostró a través de pruebas de patogenicidad que el cultivo de pepino es mayormente susceptible al nematodo reniforme que el cultivo de berenjena.

El tercer artículo “Competitive interaction between *R. reniformis* and *M. enterolobii* in tomato and cucumber plants” se encuentra enviado a la *Revista Mexicana de Fitopatología* y abordó el objetivo 3. En este artículo se evaluó la interacción de *R. reniformis* y *M. enterolobii* y se registró FR (factor de reproducción) de cada nematodo y la severidad de la enfermedad de cada especie (necrosis para

R. reniformis e índice de agallamiento para *M. enterolobii*). Los resultados mostraron que inoculaciones por separado con *M. enterolobii* y *R. reniformis*, muestran mayor FR y severidad de la enfermedad, por otra parte, se observa que cuando se inoculan plantas de tomate y pepino con las dos especies en estudio, por separado, la especie que se inocula primero muestra mayor FR y severidad de la enfermedad respecto a la segunda.

Por último, el cuarto artículo “Response of commercial cultivars and efficacy of nematicides for the management of *Rotylenchulus reniformis* in tomato under greenhouse conditions” aborda los objetivos 4 y 5 de la tesis y se encuentra en preparación para ser enviado a la revista Plant Health Progress. Lo cual consistió en la evaluación de tres cultivares comerciales de tomate (Imperial, Sweetelle y Byelsa) con una dosis de inóculo de 2000 juveniles/planta, se demostró que el cultivar Sweetelle es menos preferido por *R. reniformis* ya que presentó menor FR. Además se evaluaron 12 productos nematicidas (químicos, biológicos y botánicos) para el control de *R. reniformis*, y se demostró que todos los productos estudiados presentaron eficacia para el control del nematodo reniforme, sin embargo en el caso de los químicos, el producto que presentó menor FR y menor severidad de la enfermedad fue fluazaindolizine, mientras que en los productos basados en biocontrol, *Purpureocillium lilacinum* y extractos botánicos, el extracto botánica a base de quillaja, fue el que redujo mayormente el FR y la severidad de la enfermedad.

1.7. Literatura Citada

- Agudelo, P., Robbins, R. T., Stewart, J. M., & Szalanski, A. L. (2005). Intraspecific variability of *Rotylenchulus reniformis* from cotton-growing regions in the United States. *Journal of Nematology*, 37, 105–114.
- Aryal SK, Davis RF, Stevenson KL, Timper P, & Ji P. (2011). Induction of systemic acquired resistance by *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* in cotton following separate and concomitant inoculations. *Journal of Nematology* 43(3-4): 160.
- Bartz, J.A., and Adaskaveg, J.E. (2022). Chapter 11: Postharvest diseases of tomato and other solanaceous crops. *Postharvest Pathology of Fruit and Nut Crops*. 225-261
- Bhuyan, P., & Devi, G. (2024). Pathogenic level of reniform nematode (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940) on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Archives of Current Research International*, 24(5), 377-382.
- Castilla, E., Millán, E., Mercado, J., & Millán, C. (2017). Relación de parámetros edáficos sobre

la diversidad y distribución espacial de nematodos de vida libre. *Tecnología en Marcha*, 30, 24–34. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v30i3.3270>

- Castillo JD, Lawrence KS, Morgan-Jones G, Ramírez CA. (2010) Identification of fungi associated with *Rotylenchulus reniformis*. *J Nematol.* 42(4):313–8.
- Diez A, Lawrence GW, & Lawrence KS. (2003). Competition of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* on cotton following separate and concomitant inoculations. *Journal of Nematology* 35:422–429.6
- Faske TR & Hurd K. (2015). Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to fluopyram. *Journal of Nematology*, 47(4): 316
- Faske, T. R., Brown, K., & Kelly, J. (2022). Toxicity of Tioxazafen to *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. *Journal of Nematology*, 54(1).
- Faske, T., and Sisson, A. (2024). Cotton disease loss estimates from the United States - 2023. Crop Protection Network. CPN-7001-23. <https://doi.org/10.31274/cpn-20240219-0>
- Ferreira TF, Souza RM, Idalino WSS, Ferreira KDS & Brioso PST. (2015). Interaction of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica* with mealybug wilt of pineapple, in microplots. *European Journal of Plant Pathology* 141: 761-768. <http://doi.org/10.1007/s10658-014-0576-5>
- Gomes VM, Souza RM, Almeida AM & Dolinski C. (2014). Relationships between *M. enterolobii* and *F. solani*: spatial and temporal dynamics in the occurrence of guava decline. *Nematoda* 1: e01014. <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.01014>
- Gorny, A., Reeves, E., Scruggs, A., & Meadows, I. (2024). Prevalence, spatial distribution, and population density of plant-parasitic nematodes in vegetable fields of North Carolina, South Carolina, and Tennessee counties. *Plant Health Progress*, 25(1), 78-83. <https://doi.org/10.1094/PHP-05-23-0044-S>
- Guevara, H. E., Mestanza, I. C., Oliva, M., & Vera, O. N. (2016). Population of plant parasitic nematodes associated with coffee (*Coffea arabica* L.) crops in relation to soil texture, Cuispes, Bongará - Amazonas. *INDES Revista de Investigación para el Desarrollo Sustentable*, 1, 9–15.
- Guzmán, P. R. A., Hernández, F. B., Franco, N. F. y Cadena, H. M. (2008). Nematodos agalladores en la Vega de Meztlán, Hidalgo, México: identificación, distribución espacial y relación con factores edáficos. *Nematopica*, 38: 47-61.
- Jones JT, Haegeman A, Danchin EG, Gaur HS, Helder J, Perry RN. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 14(9):946–61. <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>.
- Kesba HH & Al-Sayed ASA. (2005). Interactions of three species of plant-parasitic nematodes with arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus macrocarpus*, and their effect on grape biochemistry. *Nematology*, 7(6): 945-952.
- Koon-Hui, W., (2007). Reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira (Nematoda: Tylenchida: Tylenchoidea: Haplolaimidae: Rotylenchulinae). University of Florida.
- Leach, M., Agudelo, P., y Lawton-Rauh, A (2012). Genetic variability of *Rotylenchulus reniformis*.

Plant Disease, 96: 30–36.

- Machado, C.Z., Galbieri, R., Cia, E., Lurdes, R., Carvalho, L.H., (2010). Avaliação da tolerância de cultivares de algodoeiro a *Rotylenchulus reniformis* no Estado de São Paulo.
- Nguyen HT, Trinh QP, Nguyen TD, Bert W. (2020) First report of *Rotylenchulus reniformis* infecting turmeric in Vietnam and consequent damage. *J Nematol.* 52:1–5. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2020-053>.
- Nyaku, S. T., Kantety, R. V., Tilahun, Y., Lawrence, K. S., Soliman, K. M., Cebert, E., & Sharma, G. C. (2013). 18S and ITS1 genomic sequence variations in *Rotylenchulus reniformis* isolates from Alabama. *The Journal of Cotton Science*, 17, 184–194.
- Palomares, J. E., Cantalapedra, N. C., Yuste, A. A., Tzortzakakis, E. A., Birmopilis, I. G., Vovlas, N., Subbotin, S. A., & Castillo, P. (2018). Prevalence and molecular diversity of reniform nematodes of the genus *Rotylenchulus* (Nematoda: *Rotylenchulinae*) in the Mediterranean Basin. *Plant Pathology*, 150, 439–455. <http://doi.org/10.1007/s10658-017-1292-8>
- Palomares, J. E., Clavero, I., Archidona, A., Cantalapedra, C., León, G., Braun, S., & Castillo, P. (2020). Global distribution of the reniform nematode genus *Rotylenchulus* with the synonymy of *Rotylenchulus macrosoma* with *Rotylenchulus borealis*. *Plants*, 10, 1–7. <https://doi.org/10.3390/plants10010007>
- Panno, S., Davino, S., Caruso, A. G., Bertacca, S., Crnogorac, A., Mandić, A., ... & Matic, S. (2021). A review of the most common and economically important diseases that undermine the cultivation of tomato crop in the mediterranean basin. *Agronomy*, 11(11), 2188.
- Perry RN & Moens M. (2013). *Plant Nematology*. 2nd edition. P 40-214.
- Qing, X., Bik, H., Yergaliyev, T. M., Gu, J., Fonderie, P., Brown, S., Szitenberg, A., & Bert, W. (2020). Widespread prevalence but contrasting patterns of intragenomic rRNA polymorphisms in nematodes: Implications for phylogeny, species delimitation and life history inference. *Molecular Ecology Resources*, 20, 318–332. <http://doi.org/10.1111/1755-0998.13118>
- Robinson AF. (2007). Reniform in US cotton: When, where, why, and some remedies. *Annual Review of Phytopathology* 45:263–288. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.45.011107.143949>.
- Shi, Q., Cai, X., Zhang, Z., Song, W., Liang, C., Duan, F., & Zhao, H. (2023). The identification, characterization, and management of *Rotylenchulus reniformis* on Cucumis melo in China. *Phytopathology Research*, 5(1), 58.
- Sikora, R. A., Desaegeer, J., & Molendijk, L. (Eds.). (2021). *Integrated nematode management: state-of-the-art and visions for the future*. CABI; pags. 87-93. <https://doi.org/10.1079/9781789247541.000>
- Silva, M. G., & Franzener, G. (2015). Biodiversity of nematodes biological indicators of soil quality in the agroecosystems. *Arquivos do Instituto Biológico*, 84, 1–8. <http://doi.org/10.1590/1808-1657000142015>
- Silva, R. A., Santos, T. F. S., & Asmus, G. L. (2021). Reprodução do nematoide reniforme em cultivares de soja que antecedem o algodoeiro no cerrado. *Nematropica*, 51, 137–144.
- Sipes, B. (2000). *Rotylenchulus reniformis* damage thresholds on pineapple. *Acta Hort.* 239-246 p.

- Soto-Ramos, C., Wheeler, T. A., Shockey, J., & Monclova-Santana, C. (2023). Rotation of cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars and fallow on yield and *Rotylenchulus reniformis*. *Journal of Nematology*, 55(1). <https://doi.org/10.2478/jofnem-2023-0024>
- Spooner D.M., Peralta I.E., Knapp S. (2005) Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.]. *Taxon*. 54(1): 43-61.
- Starr JL, Cook R & Bridge J. (2002). *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. CABI publishing. P. 153.
- Van Den Berg, E., & Quénéhervé, P. (2012). Hoplolaimidae. In: *Practical Plant Nematology*. Manzanilla-López RH, Marban-Mendoza N. Biblioteca Básica de Agricultura, México. pp 251–297.
- Van Den Berg, E., Palomares-Rius, E. J., Vovlas, N., Tiedt, R. L., Castillo, P. y Subbotin, A. S (2016). Morphological and molecular characterization of one new and several known species of the reniform nematode, *Rotylenchulus* Linford & Oliveira, 1940 (Hoplolaimidae: Rotylenchulinae), and a phylogeny of the genus. *Nematology*, 18: 67-107.
- Wubben MJ, Ganji S, Callahan FE. Identification and molecular characterization of a beta-1,4-endoglucanase gene (Rr-eng-1) from *Rotylenchulus reniformis*. *J Nematol*. 2010;42(4):342–51
- Ye, W. (2018). Nematodes of agricultural importance in North and South Carolina. *Plant parasitic nematodes in sustainable agriculture of north America: Vol. 2-Northeastern, Midwestern and Southern USA*, 247-276.
- Zhang, F., Wang, Y., Zhan, X., Dai, D., Guo, G., Guo, S., & Zhang, J. (2019). First report of *Rotylenchulus reniformis* on tomato in Henan, China. *Plant Disease*, 103, 1044–1044. <https://doi.org/10.1094/pdis-09-18-1633-pdn>

2. MORPHOLOGY, PHYLOGENY, AND REPRODUCTION OF *Rotylenchulus reniformis* POPULATIONS FROM TOMATO FIELDS IN SINALOA, MEXICO

Maria Trinidad Valdez-Morales¹ · José Armando Carrillo-Fasio¹ · Raymundo Saúl García-Estrada¹
Josefina León-Félix¹ Kamila Câmara Correia² Greta Hanako Rosas-Saito³ Juan Manuel Tovar-
Pedraza^{1*}

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Coordinación Regional Culiacán, 80110, Culiacán, Sinaloa, Mexico

² Universidade Federal do Cariri, Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Crato, 63130-025, Ceará, Brazil

³ Instituto de Ecología, Red de Estudios Moleculares Avanzados, Xalapa, 91070, Veracruz, Mexico

Correspondence to: Juan Manuel Tovar Pedraza. **E-mail:** juan.tovar@ciad.mx

Estatus:

Aceptado

Revista:

PHYTOPARASITICA

Abstract

Tomato production (*Solanum lycopersicum* L.) is widely affected by nematodes of the genus *Rotylenchulus* in Sinaloa, Mexico; however, there is a lack of information on their identity and reproduction. This study aimed to identify *Rotylenchulus* species associated with tomatoes in Sinaloa, Mexico, as well as to determine the reproduction factor of different populations. Soil samples were collected from nine tomato fields from different locations in Sinaloa, Mexico, and nematodes were extracted. Morphological characteristics of *Rotylenchulus* populations were observed by light microscopy and scanning electron microscopy. For phylogenetic analyses, DNA was extracted from females. The D2-D3 expansion region of the 28S rRNA gene and a partial region of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*coxI*) were amplified by PCR, and sequenced. Populations with the highest number of juveniles were selected by each location. They were inoculated in tomato plants to evaluate reproduction factor (RF) at 75 days after inoculation with different inoculum concentrations (500, 1000, and 2000 juveniles per plant). In total, six populations of *Rotylenchulus* belonging to the municipalities of Guasave (3), Navolato (2), and Culiacan (1) were obtained. The three populations with the most nematodes were selected for morphological and molecular identification. The morphological characteristics of the three analyzed populations were similar to the previous descriptions reported for *Rotylenchulus reniformis*. The phylogenetic analyses confirmed the results of the morphological characterization. On the other hand, the three populations were selected to evaluate the reproduction factor showed a statistically significant difference. The population of Culiacan showed the highest RF with values of 53, 59, and 66 for each inoculum concentration (500, 1000, and 2000), respectively; meanwhile, the population of Guasave showed the lower RF with values of 12, 18, and 19, respectively.

Keywords *Solanum lycopersicum* · reproduction factor · electron microscopy · reniform nematode

Introduction

Mexico ranks ninth in tomato (*Solanum lycopersicum*) production worldwide, with the state of Sinaloa being the primary producer and exporter (SIAP, 2023). However, this crop and other vegetables produced in Sinaloa are severely affected by various plant parasitic nematodes such as *Meloidogyne enterolobii* (Martínez-Gallardo *et al.*, 2019; Salazar-Mesta *et al.*, 2023a, 2023b) and *Rotylenchulus reniformis* (Valdez-Morales *et al.*, 2024).

Rotylenchulus reniformis is a widely distributed throughout tropical and subtropical countries parasitizing many cultivated plants and is considered one of the most injurious nematode pests in agricultural soils. After *Meloidogyne* species, this is the most important nematode affecting vegetables (Van den Berg & Quénéhervé, 2012).

Reniform nematode populations are determined by the type of susceptible plants it attacks, as well as by temperatures and soil conditions that favor its activity (Koon, 2007). In this regard, it has been reported that soil texture, aeration, moisture level, and soil chemical characteristics (pH and electrical conductivity) greatly influence the biological cycle of nematodes, with soil texture being the most important factor for their development and reproduction (Guzmán *et al.*, 2008; Silva & Franzener, 2015). Previous studies have indicated that the highest populations of *R. reniformis* are found in sandy-textured soils with a slightly alkaline pH, rich in organic matter, and with high moisture content (Guevara *et al.*, 2016; Castilla *et al.*, 2017).

The genus *Rotylenchulus* comprises 16 described species, with some having a global distribution and others being more limited in their range (Van den Berg *et al.*, 2016; Palomares *et al.*, 2018). Furthermore, *Rotylenchulus* species are considered potentially dangerous pathogens, as there are reports of species well-adapted to drought conditions. Additionally, their life cycle tends to be shorter on highly susceptible host plants (Palomares *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021).

Recently, DNA-based approaches have been successfully employed for molecular diagnosis and exploring the species diversity of *Rotylenchulus* (Agudelo *et al.*, 2005; Leach *et al.*, 2012; Nyaku *et al.*, 2013a; Deng *et al.*, 2015; Van den Berg *et al.*, 2016). Phylogenetic studies have reported that this genus of nematodes exhibits high levels of intraspecific and intra-individual variation in 18S rRNA sequences (Nyaku *et al.*, 2013b; Van Den Berg *et al.*, 2016; Palomares *et al.*, 2018; Qing *et al.*, 2019). Most types of the 28S rRNA region D2 (types A and B) in *R. reniformis* have been characterized as functional through secondary structure modeling and

mutation mapping. Van Den Berg *et al.* (2016) reported three molecular markers (D2-D3 expansion domains of the 28S rRNA gene, ITS region, and mtDNA *coxI*) for the phylogenetic characterization of *Rotylenchulus* species. Similarly, Shi *et al.* (2023) also utilized the sequences of the 28S rRNA gene and the ITS region, reporting the presence of two types (A and B) of the *R. reniformis* species.

In plant parasitic nematodes, aggressiveness refers to the nematode's capacity to parasitize and reproduce on a host plant, determined by the reproduction factor (Bos & Parlevliet, 1995; Bellafiore *et al.*, 2015; Mantelin *et al.*, 2017; Cabasan *et al.*, 2018). According to Oostenbrink's classification (1996), susceptible cultivars exhibit an RF (reproduction factor) >1. Specifically for tomatoes, *R. reniformis* has been documented as a highly susceptible host, with reported RF values reaching up to 16.9 (Zhang *et al.*, 2019).

In Sinaloa, Mexico, *Rotylenchulus* has been found affecting vegetable crops. However, populations have not been characterized, and there is limited global research on its pathogenicity and reproduction. Therefore, it is essential to generate more information to gain a deeper understanding of population diversity, as well as the mechanisms of parasitism and aggressiveness. Hence, the objectives of this study were to identify *Rotylenchulus* species associated with tomato fields in Sinaloa, Mexico, using the combination of morphology and DNA sequence analysis, as well as determine the pathogenicity and reproduction of the different populations.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection

During several surveys carried out from September 2021 to February 2022, soil samples were collected from nine tomato fields located in the state of Sinaloa, Mexico (Table 1). From each sampled site, 500 g of soil were collected at a depth of 20 to 25 cm. Nematodes (juveniles and males) were extracted from 200 g of fresh soil using the Baermann funnel and Cobb's sieving methods (Christie & Perry, 1951). For preparation of females, pieces of 0.5 g of roots per plant were rinsed with tap water and stained using the acid fuchsin method described by Bybd *et al.* (1983). Additionally, at each sampling site, soil pH was analyzed using the AS-02 method, and soil texture type was determined using the Bouyoucos procedure through the AS-09 method, following the methodology specified in the Official Standard (NOM-021-RECNAT-2000).

Characterization by Light Microscopy (LM)

For the characterization of mature females, tomato seedlings were inoculated with each of the obtained populations. At 60 days post-inoculation (dpi), roots were extracted to obtain qualitative and quantitative data on mature females and egg masses (Zhang *et al.*, 2019). The description of vermiform stages (juveniles and males) was conducted through observations of nematodes extracted from the soil. Specimens were examined under LM, and morphological characteristics were recorded using an Axio Imager M2 microscope (Zeiss, Germany) equipped with an AxioCam 305 camera (Zeiss, Germany).

The morphological characters recorded under LM included the length of the stylet and its lumen, the position of the vulva in immature females, the shape of the labial region, and the tail shape. For males, the position of the spicule was recorded. In mature females, the presence/absence of a mucron at the posterior end of their body was recorded. For each obtained population, 10 egg masses were ruptured to count and measure individual eggs (Zhang *et al.*, 2019; Nakae & Yoshiga, 2021).

Characterization by scanning electron microscopy (SEM)

For SEM characterization, roots with females were washed with distilled water for 2 min, immersed in Karnovsky fixative for 12 h, rinsed three times with phosphate buffer, gradually dehydrated (in increments of 10%) through two changes of 100% ethanol, and then placed in a K850 critical point dryer (Quorum, UK). The dried samples were mounted on aluminum stubs with double-sided carbon tape and sputter coated with gold using a Q150RS metal coater (Quorum, UK). The prepared samples were observed, and images were captured using a Quanta FEG 250 Field Emission Scanning Electron Microscope at 10 kV.

DNA extraction, PCR amplification, and sequencing

DNA extraction was carried out from five mature females using the cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) method (Doyle & Doyle, 1991).

The amplification of the partial region of the 28S rRNA, including the expansion domains D2 and D3, and the cytochrome c oxidase subunit 1 (*coxI*) gene was carried out using the primer pairs D2A/D3B (De Ley *et al.*, 1999) and JB3/JB5 (Bowles *et al.*, 1992; Derycke *et al.*, 2005), respectively. The reactions were performed in a 15 μ L volume, including 7.5 μ L of GoTaq[®] Green

Master Mix (Promega, USA), 1 μ L of each primer, 4.5 μ L of sterile water, and 1 μ L of DNA (at a concentration of 10 ng). The amplification was conducted in a T100 thermocycler (BioRad, USA) following the PCR cycling conditions for ITS: 95°C for 3 min, 35 cycles of 95°C for 30 s, 55°C for 30 s, and 72°C for 1 min, with a final extension step at 72°C for 5 min. For *coxI*, annealing temperature was 60°C. A 1% agarose gel was run to visualize the expected amplicons.

The purification of the PCR's product was performed using the Wizard[®] SV Gel and PCR Clean-Up System kit, following the manufacturer's instructions. PCR products were sequenced in both directions by the National Laboratory of Agricultural, Medical, and Environmental Biotechnology at IPICYT (San Luis Potosi, Mexico).

Phylogenetic analyses

The analysis of the chromatograms generated, quality of the amplified nucleotide sequences, and the assembly of contigs were performed using the Staden Package v.2.0 software (Staden *et al.*, 1998). The ClustalX v.1.83 program (Thompson *et al.*, 1997) was used for the alignment of the sequences. *Rotylenchulus* sequences (Palomares *et al.*, 2018) were retrieved from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and included in the analyses. Phylogenetic relationships between individual gene sequences were carried out with maximum likelihood analysis (ML), using the GTR+G+I model of nucleotide evolution, and Maximum Parsimony analysis (MP). These analyses were performed using the MEGA 7 program (Kumar *et al.*, 2016) with 1000 rapid bootstrap replicates run.

Reproduction of *R. reniformis* in tomato plants

Tomato plants cv. 3718 (35-day-old) were planted individually in 6 kg pots containing a sterile substrate (50% soil, 25% sand, and 25% coconut fiber). Each pot received one plant, and four treatments were established, including a control without inoculum, and inoculations with 500, 1000, and 2000 juveniles. A two-factor fixed-effects design (origin and concentration of inoculum) with three replicates was used. The response variable was the reproduction factor (RF), calculated using the formula: $RF = Pf/Pi$ (Pf: Final population; Pi: Initial population) (Ferris *et al.*, 1993). The experiment was conducted twice.

For evaluations, three tomato roots and 200 g of rhizospheric soil were collected at 30, 45, 60, and 75-days post-inoculation (dpi). Root samples were stained with 1% acid fuchsin, placed in lacto-glycerol, and observed after 24 h to record the number of mature females and egg masses.

From the rhizospheric soil, males, and juveniles of *R. reniformis* were extracted using the Baermann funnel and Cobb's sieving methods. The final population of each treatment was determined by the sum of the number of eggs, juveniles, males, and females.

Statistical Analysis

The RF values were subjected to a one-way analysis of variance (ANOVA), and data were compared using the LSD test with a significance level at 5%. Statistical analyses were conducted in SAS version 9.3.

RESULTS

Distribution of *R. reniformis* in tomato fields

From the nine samples collected in tomato fields, six populations of *Rotylenchulus* were obtained, belonging to the municipalities of Culiacan (1), Navolato (2), and Guasave (3) in the state of Sinaloa, Mexico (Figure 1). Population densities ranging from 82 to 386 nematodes/100 g of soil and 28 to 65 nematodes/1 g of root. The highest population of *R. reniformis*, with 16,638 nematodes/100 g of soil, was observed at site Cull1 in the municipality of Culiacán (February 2022). In contrast, the lowest population, with 68 nematodes/100 g of soil, was observed at site Gua2 in the municipality of Guasave (October 2021). It is important to note that the sample from Guasave was collected at the beginning of the production season, whereas the sample from Culiacán was obtained during an advanced period of the tomato production season in a field with monoculture. Furthermore, the presence of *Rotylenchulus* was not observed in samples from three of the analyzed sites (Table 1).

Relationship between soil pH and texture with *R. reniformis* populations

The soils where *R. reniformis* populations were found exhibited various textures, including clay-loam, loam-clay, loam, clay, and loam-silt, with the percentages of sand, silt, and clay as indicated in Table 1. It is worth mentioning that populations of *R. reniformis* were found in all the soil types mentioned above. The pH results showed little variability, with samples ranging between 6.2–7.4 and this indicated that the agricultural soils in Sinaloa are quite homogenous in terms of their texture and pH. Consequently, no correlation was established between the distribution of *R. reniformis* populations and soil pH or texture. For the rest of the analyzes, the population with the greatest number of nematodes in each locality was selected.

Characterization by Light Microscopy

In the morphological analysis using LM, the length of the eggs was similar across all populations; however, the population in Cull showed a higher number of eggs per mass, with an average of 84 eggs/mass (Table 2). All populations in vermiform stages exhibited the typical feature of the *Rotylenchulus* genus, which is a body position in the shape of "C," as observed in Figure 2A. The juveniles were characterized by being vermiform with a hyaline tail, and less rounded compared to immature females and males (Figures 2A–F).

Immature females were vermiform with a well-developed and curved lumen (Figure 2B). The stylet was strong with knobs rounded anteriorly. Dorsal pharyngeal gland outlet about one stylet length posterior to stylet base. The tail was elongate conoid with prominent hyaline portion on tail tip (Figure 2C). Males were vermiform (Figures 2E–F) with a longest length compared to juvenile stages and immature females (Table 2). Anterior part less development with weak stylet. Spicules arcuate ventrally with gubernaculum linear. Bursa subterminal and reduced. Mature females were observed with a variably swollen kidney-shaped body (Figure 2G) and with the anterior part embedded in the tomato roots (Figures 3A–C). The length of the mature female, body length/body width, varied across all populations (body width was measured at the level of the vulva) (Table 2).

Characterization by SEM

In SEM, both immature and mature females were observed with a ventrally curved body in the shape of a "C," with the anterior part of their body embedded in the tomato root. The anterior part of the females' body exhibited a well-developed cephalic region and fully delineated annular striations (Figure 3A). The labial region was moderately sclerotized, extending forward to form a slightly rounded tip with well-developed openings. Mature females had an enlarged tail with the presence of a mucron at the tail's tip (Figure 3B). The entire body of the mature female appeared kidney-shaped with variable annular striations extending from the cephalic region to the tail (Figures 3C–D). The vulva was well-developed, extending forward and positioned at 75% of the female's body length (Figures 3D–E). Immature females exhibited a slight narrowing at the posterior part of the body and had 38 to 45 annular rings. In vermiform females, the lateral field was observed with four incisures and three equally spaced longitudinal bands that terminated approximately opposite the beginning of the tail region (Figure 3F).

Phylogenetic analysis

The first sequence datasets for the 28S region and *coxI* gene were individually analyzed to infer intra- and interspecific relationships within *Rotylenchulus*. Amplification of the D2-D3 expansion domains of 28S rRNA and *coxI* genes yielded fragments of ≈ 760 bp and 420 bp, respectively. Phylogenetic analysis included 39 sequences for *coxI* and 42 sequences for 28S rRNA, with the outgroup *Hoplolaimus seinhorsti*. Similar tree topologies were obtained using ML and MV methods, and the best-scoring ML trees are shown in Figures 4 and 5. ML bootstrap values are given at nodes of each phylogram. The phylogenetic tree inferred from the *coxI* gene alignment and 28S region alignment resolved the three *Rotylenchulus* populations from the tomato fields in Sinaloa into one well-supported clade representing the known species, *Rotylenchulus reniformis* (Figures 4 and 5). The populations characterized in this study clustered with *R. reniformis* populations from Spain and the USA, as characterized in previous studies (Van den Berg *et al.*, 2016; Palomares-Rius *et al.*, 2020)

Reproduction of *R. reniformis* in tomato plants

Tomato roots inoculated with *R. reniformis* exhibited necrosis and limited development at 75 days post-inoculation (dpi), whereas control plants (non-inoculated) displayed well-developed and healthy roots. The final population increased with the rising inoculum quantity; however, the RF was consistent across different inoculum concentrations for the three evaluated populations. An increase in RF was observed as treatments were assessed, with the most substantial increase noted at 75 dpi for all three populations. The Culiacán population (Cul1) demonstrated the highest RF across all three inoculum concentrations (500, 1000, and 2000), with values of 53, 59, and 66, respectively. This was statistically different from the RF of the Guasave (Gua4) and Navolato (Nav1) populations. Although the Guasave population (Gua4) exhibited the lowest RF across all three inoculum concentrations, it was statistically equivalent to the Navolato population (Nav1) (Table 3).

DISCUSSION

In the site where the highest population of *R. reniformis* (Cul1) was detected, monoculture is practiced, meaning only tomatoes are grown in all seasons. In contrast, in the rest of the sampled sites, crop rotation with other plants such as cucumber and eggplant occur in each agricultural season. The nematode *R. reniformis* has a wide range of hosts, among which cucumber and

eggplant are some of its favorites (Starr *et al.*, 1991; Robinson *et al.*, 1997; Vhadera *et al.*, 2001; Valdez-Morales *et al.*, 2024). It has been reported that *R. reniformis* populations are influenced by host susceptibility, and in fields where crop rotation is practiced, nematode populations decrease significantly (Davis *et al.*, 2003; Stetina *et al.*, 2007). Furthermore, other authors mention that nematode populations depend primarily on crop management practices, such as pesticide application, irrigation, nutrition, etc. (Koon, 2007; Moore & Lawrence, 2013).

The agricultural soils sampled in Sinaloa, Mexico were highly homogeneous in terms of pH and texture. Therefore, it was not possible to establish a relationship between *R. reniformis* populations and the soil characteristics of the sampling sites. Although different soil textures were observed among the soil samples, the presence of *R. reniformis* was observed in all types of textures, including sandy, clayey, and loamy soils. In this regard, it has been demonstrated that some nematode genera, such as *Pratylenchus* and *Meloidogyne*, tend to increase their populations in sandy loam soils. However, in the case of the genus *Rotylenchulus*, it has been mentioned that it can thrive and distribute itself in any type of soil (Martínez-Gallardo *et al.*, 2015).

In the analyzed soils, pH ranged from 6.2 to 7.4, and no relationship was observed between the frequency of *R. reniformis* populations and this variable. Guzmán *et al.* (2008) reported that pH variation from 5 to 7.6 has no effect on plant-parasitic nematode populations. Similarly, Martínez-Gallardo *et al.* (2015) indicated that pH levels ranging from 6.2 to 7.5 do not have a significant effect on *Rotylenchulus* sp. nematode populations.

Morphological characterization using light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM), revealed the features previously reported for the species *R. reniformis* (Agudelo *et al.*, 2005; Palomares *et al.*, 2018; Riascos *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2023). Although species within the genus *Rotylenchulus* exhibit intraspecific variability, which makes their separation based solely on morphological characters challenging (Palomares *et al.*, 2018; Qing *et al.*, 2020), specific morphological features assist in the differentiation of these species. According to Robinson *et al.* (1997), Soares *et al.* (2003), Van Den Berg *et al.* (2016), Akyazi *et al.* (2022), and Shi *et al.*, (2023), *R. reniformis* is characterized by its widened tail, well-developed lip region, and clearly defined annular striations, distinguishing it from other species such as *R. parvus*, *R. macrosomoides*, *R. sacchari*, *R. macrodoratus*, *R. leptus*, *R. clavicaudatus*, and *R. borealis* (Van Den Berg *et al.*, 2016; Palomares *et al.*, 2018).

The species *R. macrosoma* is considered closely related to *R. reniformis* due to its significant morphological similarity. However, *R. reniformis* is characterized by a ventrally arched body, kidney-shaped and obese, with an irregular contour in the anterior region and a tail with a thin, hyaline terminal portion (Palomares *et al.*, 2018).

The differentiation of the species *R. macrosomoides* and *R. clavicaudatus* from the species *R. reniformis* is evident, as the tail of *R. macrosomoides* is very narrow with a rounded tip and a hyaline portion, whereas *R. reniformis* exhibits a widened and less rounded tail. In the case of the species *R. leptus*, the distinction from *R. reniformis* primarily lies in the mature females, as *R. leptus* has females with a narrow posterior (tail), while in *R. reniformis*, the tail is widened. Although the vulva of *R. reniformis* is well-defined, it is not as prominent as in the species *R. parvus*. In the case of *R. sacchari*, the main difference lies in the stylet, as this species is characterized by having a stylet >26.5 µm in length, while *R. reniformis* has a smaller stylet (16–22 µm) (Van Den Berg *et al.*, 2016).

The phylogenetic analyses based on sequences of the nuclear ribosomal DNA (28S) and mitochondrial DNA (*coxI*) genes revealed that the populations from Sinaloa, Mexico correspond to the species *R. reniformis*. In the phylogenetic tree, it was observed that the species *R. reniformis* grouped in the same clade with reference populations of *R. reniformis* type A. Recently, Shi *et al.* (2023) characterized six populations of *R. reniformis* from melon (*Cucumis melo*) in China using phylogenetic analyzes of ITS sequences and reported three type A populations and three type B populations. Various authors have mentioned differences between the sequences of *R. reniformis* type A and type B based on the D2-D3 region of the 28S rRNA gene, with the type A sequence having a higher number of base pairs (bp), up to 40 bp, while in type B, up to 34 bp have been observed (Agudelo *et al.*, 2005; Leach *et al.*, 2012; Nyaku *et al.*, 2013a; Van Den Berg *et al.*, 2016; Riascos *et al.*, 2019). In this context, Van den Berg *et al.* (2016) reported a GC content of 54.7% for type A and 58.8% for type B. Additionally, they indicated that *R. reniformis* type A has a close relationship with *R. macrosoma*, while type B has a close relationship with *R. macrosomoides*. Other authors mentioned that *R. reniformis* type A is associated with a wide variety of economically important crops, including tomatoes (Soares *et al.*, 2003; Van den Berg *et al.*, 2016).

Regarding the reproduction of *R. reniformis*, the Culiacán population (Cul1) exhibited a significantly higher reproduction factor compared to the populations in Guasave and Navolato.

This could be attributed to the Culiacán population having a higher quantity of eggs/mass, almost double that of the other populations (Table 2). In addition, Nakasono (2004) reported that the reproductive level of *R. reniformis* largely depends on the abundance or absence of males in the population; populations with a high number of males reproduce through amphimixis, while populations with few or no males reproduce through parthenogenesis (Khanal *et al.*, 2018; Nakae & Yoshiga, 2021). Also, it has been reported that populations with both types of reproduction achieve a higher reproduction factor than populations with only one type (Robinson *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2019).

According to the classification reported by Oostenbrink (1996), an $RF > 1$ indicates that the host is susceptible, an $RF < 1$ indicates host resistance, and when there is no reproduction ($RF = 0$), the host is considered immune. In this context, the tomato cv. 3718 used in this study showed an $RF > 1$ in all three evaluated populations at 80 dpi. Therefore, it was considered highly susceptible to the *R. reniformis* nematode.

There are limited studies on *R. reniformis* populations in vegetables. Zhang *et al.* (2019) indicated that tomato is a susceptible host to the reniform nematode and reported an RF of up to 16.9. Similarly, other crops such as cotton (*Gossypium hirsutum*), spinach (*Spinacia oleracea*), and canola (*Brassica napus*) have been recorded as susceptible hosts with RF values of 4.2, 1.1, and 1.0, respectively. On the contrary, crops like radish (*Raphanus sativus*), black mustard (*Brassica nigra*), white mustard (*Sinapis alba*), canola (*Brassica napus*), wheat (*Triticum* spp.), oat (*Avena sativa*), and rye (*Secale cereale*) were recorded as non-susceptible to *R. reniformis* with RF values < 1 (Jones *et al.*, 2006).

Conclusions

This study identified *Rotylenchulus reniformis* through a combination of morphological and phylogenetic analyses. The populations of this nematode are widely distributed in tomato fields in Sinaloa, Mexico and although they exhibit limited morphological and molecular variation, they differ in terms of their reproduction factor. Therefore, further studies are recommended to determine the severity and development of symptoms caused by *R. reniformis* on tomato crops. Additionally, there is a need for studies focused on evaluating integrated management strategies to reduce *R. reniformis* populations in vegetable production fields in Sinaloa, Mexico.

Acknowledgments The authors thank Isidro Marquez-Zequera and Isabel Cruz-Lachica for their technical support in the laboratory.

Authors' contributions Conceptualization was done by MTVM and JMTP; methodology was done by MTVM, JACF and GHR; validation was done by RSGE and JLF; formal analysis was done by MTVM and KCC; investigation was done by MTVM; writing—original draft preparation was done by MTVM; writing—review and editing were done by JMTP and KCC; and funding acquisition was done by JACF and JMTP.

Data availability Sequences from this study were submitted to GenBank and assigned the accession numbers OR479674–OR479676 and OR509934–OR509936.

Declarations

Competing interests The authors declare no competing interests.

Ethical approval This article does not contain any studies with human subjects.

REFERENCES

Agudelo, P., Robbins, R. T., Stewart, J. M., & Szalanski, A. L. (2005). Intraspecific variability of *Rotylenchulus reniformis* from cotton-growing regions in the United States. *Journal of Nematology*, 37, 105–114.

Allen, T. W., Bradley, C. B., Sisson, A. J., Byamukama, E., Chilvers, M. I., Coker, C. M., & Collins, A. A. (2017). Soybean yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2010 to 2014. *Plant Health Progress*, 18, 19–27. <https://doi.org/10.1094/PHP-RS-16-0066>

Akyazi, F., Güvercin, B., & Yilmaz, O. (2022). Morphological and molecular characterization of *Rotylenchulus borealis* loof and Oostenbrink, 1962 from Turkey. *Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 9, 244–255. <https://doi.org/10.30910/turkjans.1005585>

Bellafiore, S., Jouglu, C., Chapuis, É., Besnard, G., Suong, M., Vu, P. N., De Waele, D., Gantet, P., & Thi, X. N. (2015). Intraspecific variability of the facultative meiotic parthenogenetic root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) from rice fields in Vietnam. *Comptes Rendus Biologies*, 338, 471–483. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2015.04.002>

- Bos, L., & Parlevliet, J. E. (1995). Concepts and terminology on plant/pest relationships: toward consensus in plant pathology and crop protection. *Annual Review. Phytopathology*, 33, 69–102. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.33.090195.000441>
- Cabasan, M. T. N., Kumar, A., & De Waele, D. (2018). Evaluation of resistance and tolerance of rice genotypes from crosses of *Oryza glaberrima* and *O. sativa* to the rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*. *Tropical Plant Pathology*, 43, 230–241. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0210-8>
- Castilla, E., Millán, E., Mercado, J., & Millán, C. (2017). Relación de parámetros edáficos sobre la diversidad y distribución espacial de nematodos de vida libre. *Tecnología en Marcha*, 30, 24–34. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v30i3.3270>
- Cobb, N. A. (1918). Estimating the nematode population of soil. United States. Department of Agriculture of United State, pp 5–15.
- Davis, R. F., Koenning, S. R., Kemerait, R. C., Cummings, T. D., & Shurley, W. D. (2003). *Rotylenchulus reniformis* management in cotton with crop rotation. *Journal of Nematology*, 35, 58–64.
- Deng, Y. F., Xu, H. B., Tian, Z. L., & Zheng, J. W. (2015). Interindividual variability of internal transcribed spacer (ITS) region of ribosomal DNA in *Rotylenchulus reniformis*. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 41, 252–250.
- Ferris, H. L. C., Viglierchio, R., Westerdahl, B., Wu, W., Anderson, C. E., & Juurma, A. (1993). Host Status of selected crops to *Meloidogyne chitwoodi*. *Journal of Nematology*, 25, 849–857.
- Guevara, H. E., Mestanza, I. C., Oliva, M., & Vera, O. N. (2016). Population of plant parasitic nematodes associated with coffee (*Coffea arabica* L.) crops in relation to soil texture, Cuispes, Bongará - Amazonas. *INDES Revista de Investigación para el Desarrollo Sustentable*, 1, 9–15.
- Guzmán, P. R. A., Hernández, F. B., Franco, N. F., & Cadena, H. M. (2008). Nematodos agalladores en la Vega de Meztlán, Hidalgo, México: identificación, distribución espacial y relación con factores edáficos. *Nematropica*, 38, 47–61.
- Jones, J. R., Lawrence, K. S., & Lawrence, G. W. (2006). Evaluation of winter cover crops in cotton cropping for management of *Rotylenchulus reniformis*. *Nematropica*, 36, 53–66.

- Khanal, C., McGawley, E. C., Overstreet, C., Stetina, S. R., Myers, G. O., Kularathna, M. T., & Godoy, F. M. C. (2018). Reproduction and pathogenicity of endemic populations of *Rotylenchulus reniformis* on cotton. *Nematropica*, 48, 68–81.
- Koon, H. W. (2007). Reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira (Nematoda: Tylenchida: Tylenchoidea: Haplolaimidae: Rotylenchulinae). University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS, 2001.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Leach, M., Agudelo, P., & Lawton, R. A. (2012). Genetic variability of *Rotylenchulus reniformis*. *Plant Disease*, 96, 30–36. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-11-0132>
- Mantelin, S., Bellafiore, S., & Kyndt, T. (2017). *Meloidogyne graminicola*: una gran amenaza para la agricultura del arroz. *Patología Molecular de Plantas*, 1, 3–15.
- Martínez-Gallardo, J. A., Díaz-Valdes, T., Allende-Molar, R., Retes-Manjarrez, J. E., & Carrillo-Fasio, J. A. (2019). Identificación y distribución de *Meloidogyne* spp. en tomate de Sinaloa México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10, 453-459. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.392>
- Martínez-Gallardo, J. A., Díaz-Valdes, T., Partida-Ruvalcaba, L., Allende-Molar, R., Valdez-Torres, J. B., & Carrillo-Fasio, J. A. (2015). Nematodos fitoparásitos y su relación con factores edáficos de papaya en Colima, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6, 251–257. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i7.2531>.
- Moore, S. R., & Lawrence, K. S. (2013). The effect of soil texture and irrigation on *Rotylenchulus reniformis* and cotton. *Journal of Nematology*, 45, 99–105.
- Nakae, K., & Yoshiga, T. (2021). Distribution of *Rotylenchulus reniformis* (Tylenchida, Haplolaimidae) reproductive types in Kyushu, Japan. *Applied Entomology and Zoology*, 56, 75–81. <http://doi.org/10.1007/s13355-020-00710-w>
- Nakasono, K. (2004). Studies on morphological and physioecological variations of the reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* (Lindford and Oliveira, 1940) with emphasis on the differential geographical distribution of amphimictic and parthenogenetic populations in Japan.

Journal of Nematology, 36, 356-420.

Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Secretaria de medio ambiente y recursos naturales (online). <http://www.gob.mx/semarnat>. Accessed 12 May 2022.

Nyaku, S. T., Kantety, R. V., Tilahun, Y., Lawrence, K. S., Soliman, K. M., Cebert, E., & Sharma, G. C. (2013). 18S and ITS1 genomic sequence variations in *Rotylenchulus reniformis* isolates from Alabama. *The Journal of Cotton Science*, 17, 184–194.

Nyaku, S. T., Sripathi, V. R., Kantety, R. V., Gu, Y. Q., Lawrence, K., & Sharma, G. C. (2013). Characterization of the two intra-individual sequence variants in the 18S rRNA gene in the plant parasitic nematode, *Rotylenchulus reniformis*. *PLoS ONE*, 8, 4, e60891.

Oostenbrink, M. (1996). Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen*, 66, 1–46.

Palomares, J. E., Cantalapedra, N. C., Yuste, A. A., Tzortzakakis, E. A., Birmopilis, I. G., Vovlas, N., Subbotin, S. A., & Castillo, P. (2018). Prevalence and molecular diversity of reniform nematodes of the genus *Rotylenchulus* (Nematoda: *Rotylenchulinae*) in the Mediterranean Basin. *Plant Pathology*, 150, 439–455. <http://doi.org/10.1007/s10658-017-1292-8>

Palomares, J. E., Clavero, I., Archidona, A., Cantalapedra, C., León, G., Braun, S., & Castillo, P. (2020). Global distribution of the reniform nematode genus *Rotylenchulus* with the synonymy of *Rotylenchulus macrosoma* with *Rotylenchulus borealis*. *Plants*, 10, 1–7. <https://doi.org/10.3390/plants10010007>

Qing, X., Bik, H., Yergaliyev, T. M., Gu, J., Fonderie, P., Brown, S., Szitenberg, A., & Bert, W. (2020). Widespread prevalence but contrasting patterns of intragenomic rRNA polymorphisms in nematodes: Implications for phylogeny, species delimitation and life history inference. *Molecular Ecology Resources*, 20, 318–332. <http://doi.org/10.1111/1755-0998.13118>

Redding, W. N., Agudelo, P., & Wells, E. C. (2017). Multiple Nodulation Genes Are Up-Regulated During Establishment. *Phytopathology*, 108, 275–291. <http://doi.org/10.1094/PHYTO-04-17-0154-R>

Riascos, D., Mosquera, A. T., De Agudelo, F. V., De Oliveira, C., & Muñoz, J. E. (2019). Morpho-molecular characterization of Colombian and Brazilian populations of *Rotylenchulus* associated with *Musa* spp. *Journal of Nematology*, 51, 1–13. <http://doi.org/10.21307/jofnem-2019-047>

Robinson, A. F., Inserra, R. N., Caswell-Chen, E. P., Vovlas N., & Troccoli, A. (1997). *Rotylenchulus* species: Identification, distribution, host ranges, and crop plant resistance. *Nematropica*, 27, 127–180.

Salazar-Mesta, R. J., Carrillo-Fasio, J. A., Tovar-Pedraza, J. M., García-Estrada, R. S., Mora-Romero, G. A., Vega-Hernandez, R., & Torres-López, J. (2023a). First report of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* parasitizing eggplant in Mexico. *Plant Disease*, 107, 16–38. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1846-PDN>

Salazar-Mesta, R. J., Carrillo-Fasio, J. A., Retes-Manjarrez, J. E., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Mora-Romero, G. A., Osuna-Enciso, T., & Tovar-Pedraza, J. M. (2023b). Characterization, pathogenicity, and reproduction of *Meloidogyne enterolobii* populations parasitizing vegetables in Sinaloa, Mexico. *Tropical Plant Pathology*, 48, 394–407. <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00576-7>

Shi, Q., Cai, X., Zhang, Z., Song, W., Liang, C., Duan, F., & Zhao, H. (2023). The identification, characterization, and management of *Rotylenchulus reniformis* on *Cucumis melo* in China. *Phytopathology Research*, 5, 58–72. <http://doi.org/10.1186/s42483-023-00217-6>

SIAP. (2023). Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Secretaria de agricultura y desarrollo rural (online). www.gob.mx/siap. Accessed 22 May 2023

Silva, M. G., & Franzener, G. (2015). Biodiversity of nematodes biological indicators of soil quality in the agroecosystems. *Arquivos do Instituto Biológico*, 84, 1–8. <http://doi.org/10.1590/1808-1657000142015>

Silva, R. A., Santos, T. F. S., & Asmus, G. L. (2021). Reprodução do nematoide reniforme em cultivares de soja que antecedem o algodoeiro no cerrado. *Nematropica*, 51, 137–144.

Soares, P., Santos, J., & Lehman, P. (2003). Comparative morphometric study of populations of *Rotylenchulus reniformis* (Nemata: Rotylenchulinae) from Brazil. *Fitopatología Brasileira*, 28, 292–297. <http://doi.org/10.1590/S0100-41582003000300011>

Staden, R., Beal, K. F., & Bonfield, J. K. (1998). The staden package, In: Misener, S.; Krawetz, S. A. (ed.). *Bioinformatics Methods and Protocols*. Humana Press Totowa, p. 115–130. <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:115>

Starr, J. L. (1991). *Rotylenchulus reniformis* on greenhouse-grown foliage plants: host range and

sources of inoculum. *Journal of Nematology*, 23, 6–34.

Stetina, S. R., Young, L. D., Pettigrew, W. T., & Bruns, H. A. (2007). Effect of corn-cotton rotations on reniform nematode populations and crop yield. *Nematropica*, 37, 237–248.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D. G. (1997). The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876–4882. <https://doi.org/10.1093/nar/25.24.4876>

Vadhera, I., Shukla, B. N., & Bhatt, J. (2001). Studies on *Rotylenchulus reniformis* – a review. *Agricultural Reviews*, 22, 222–227.

Valdez-Morales, M. T., Carrillo-Fasio, J. A., García-Estrada, R. S., Correia, K. C., Cruz-Lachica, I., Marquez-Zequera, I., & Tovar-Pedraza, J. M. (2024). Occurrence of the reniform nematode *Rotylenchulus reniformis* parasitizing cucumber and eggplant in Mexico. *Plant Health Progress*, <https://doi.org/10.1094/PHP-10-23-0087-BR>

Van Den Berg, E., & Quénehervé, P. (2012). Hoplolaimidae. In: Practical Plant Nematology. Manzanilla-López RH, Marban-Mendoza N. Biblioteca Basica de Agricultura, Mexico. pp 251–297.

Van Den Berg, E., Palomares, E. J., Vovlas, N., Tiedt, R. L., Castillo, P., & Subbotin, A. S. (2016). Morphological and molecular characterization of one new and several known species of the reniform nematode, *Rotylenchulus* Linford & Oliveira, 1940 (Hoplolaimidae: *Rotylenchulinae*), and a phylogeny of the genus. *Nematology*, 18, 67–107. <http://doi.org/10.1163/15685411-00002945>

Zhang, F., Wang, Y., Zhan, X., Dai, D., Guo, G., Guo, S., & Zhang, J. (2019). First report of *Rotylenchulus reniformis* on tomato in Henan, China. *Plant Disease*, 103, 1044–1044. <https://doi.org/10.1094/pdis-09-18-1633-pdn>

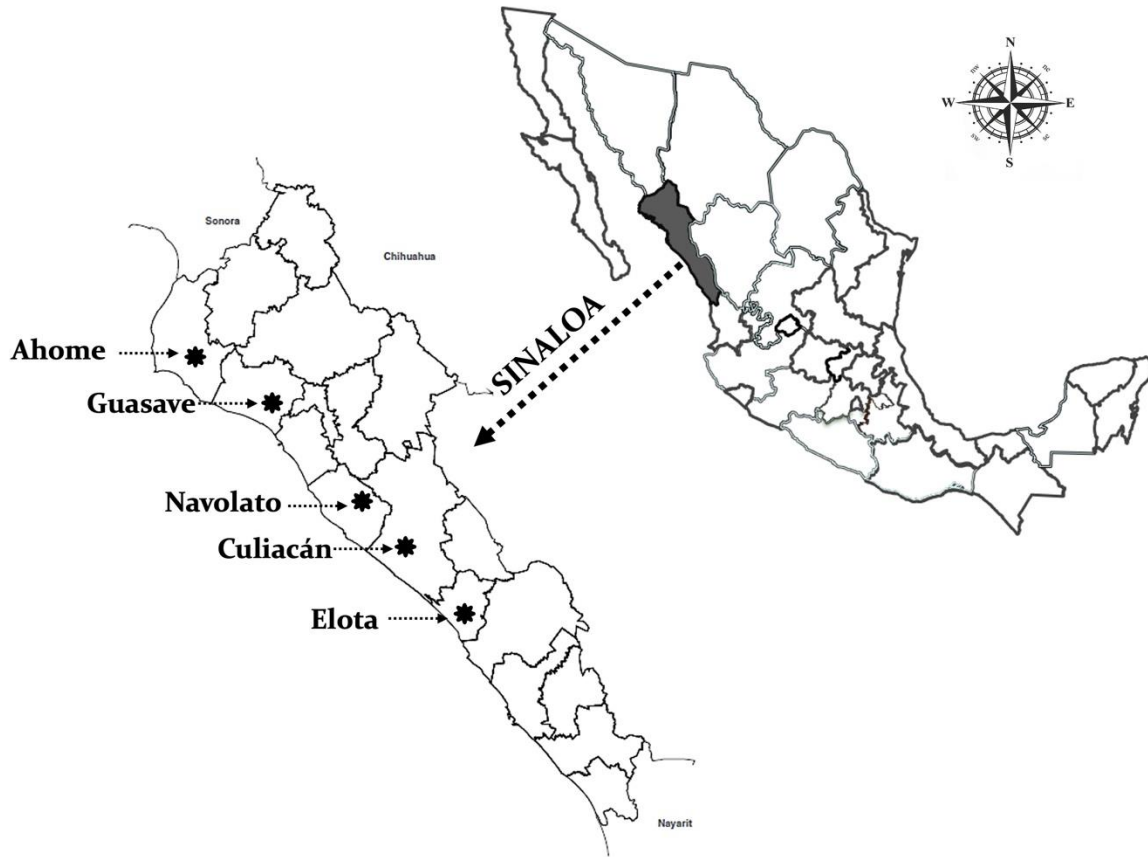


Fig. 1. Map showing soil sampling sites in tomato fields in the municipalities of Guasave, Navolato, and Culiacán, in the state of Sinaloa, Mexico.

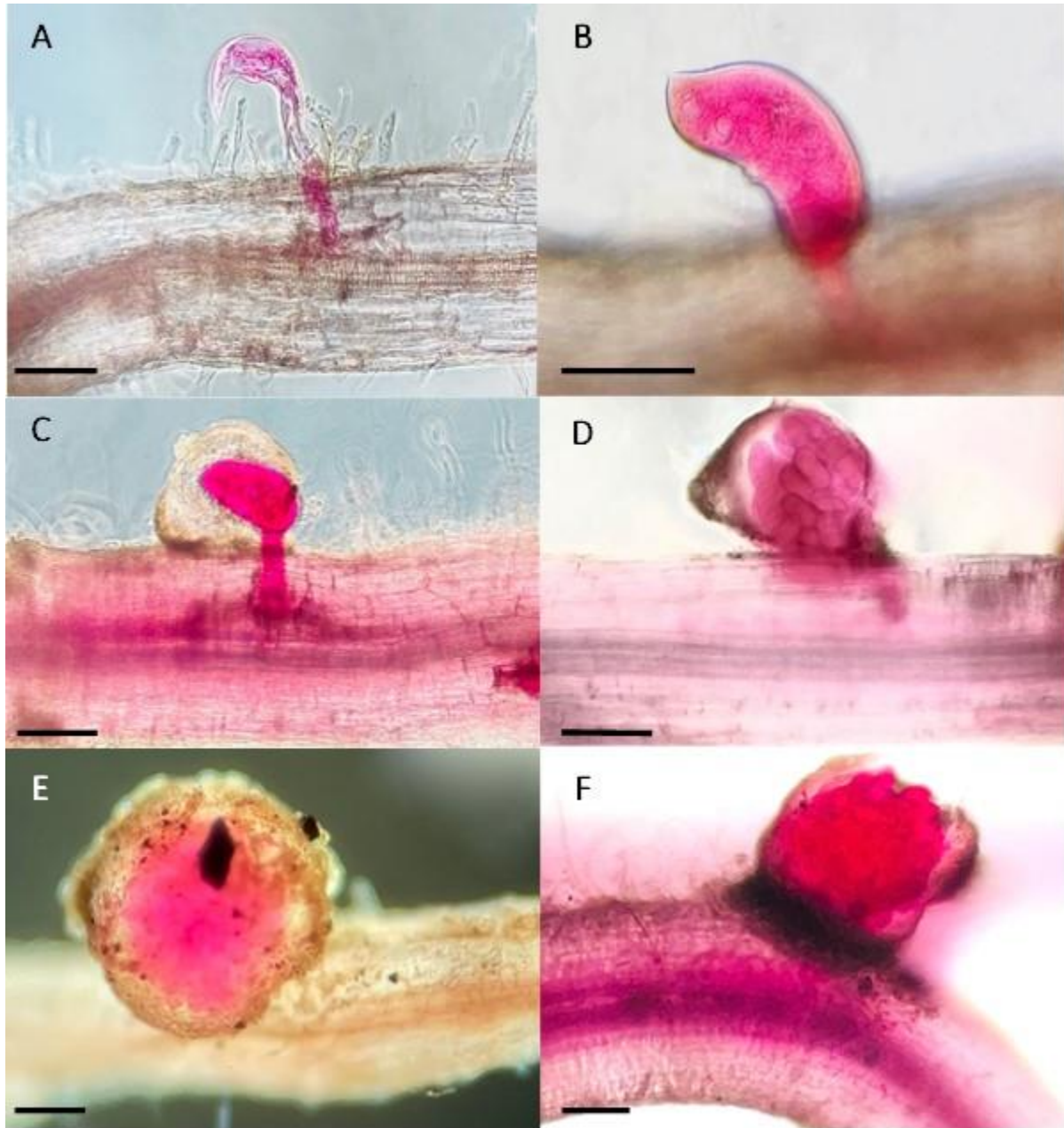


Fig. 2. Light microscopy images of acid fuchsin preparations of the development of *Rotylenchulus reniformis* on tomato roots. A. Female sets up feeding site in root and begins to swell. B. Mature swollen female. C. Gelatinous matrix surrounding the posterior two-thirds of the female's body. D. Female lays eggs in gelatinous matrix E-F. Egg masses on tomato root surface. Scale bars= 100 μ m.

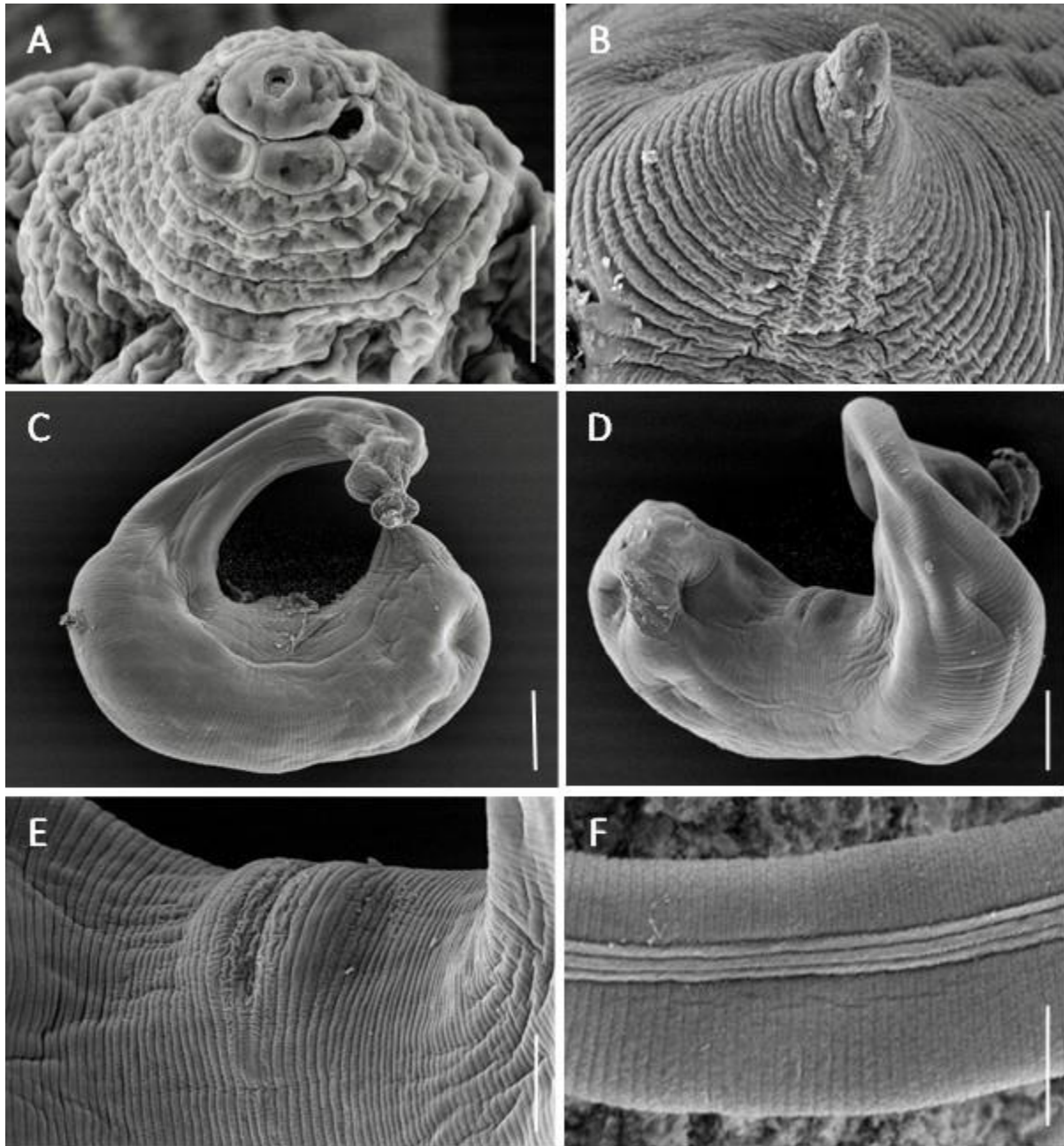


Fig. 3. Scanning electron microscopy images of *Rotylenchulus reniformis*. A. Lip region. B. Tail end of mature female; C–D. Different body postures of mature females. E. Vulval region. F. Lateral field at mid-body of immature female. Scale Bars. A= 2 μ m, B, F= 5 μ m, C–D= 50 μ m, E= 10 μ m.

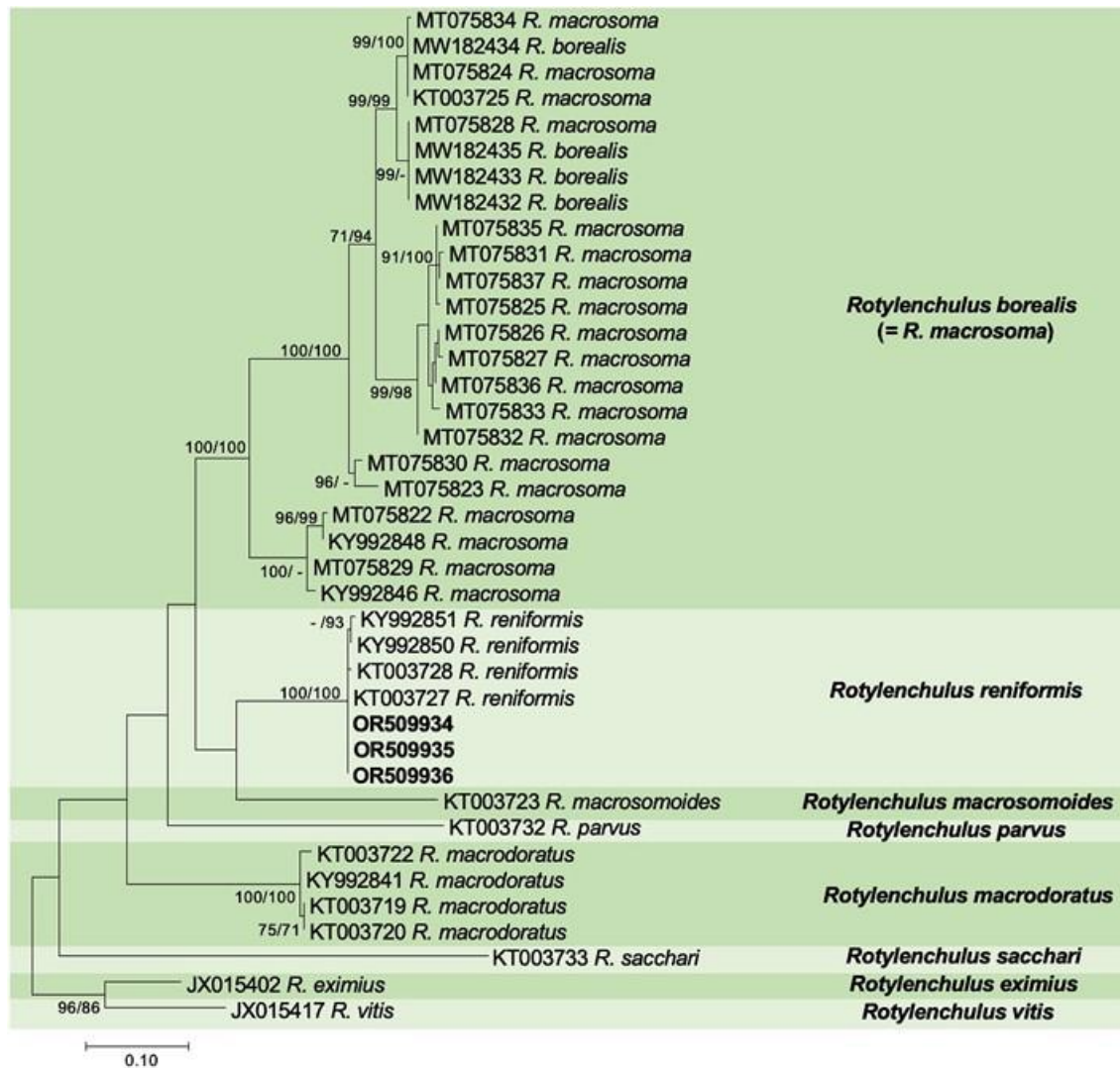


Fig. 4. Maximum likelihood tree generated from sequence analysis of the *coxI* gene dataset for *Rotylenchulus* spp. Bootstrap support (>70%) values for Maximum Likelihood and Maximum Parsimony are shown in the nodes. Accession numbers of sequences generated in this study are shown in bold.

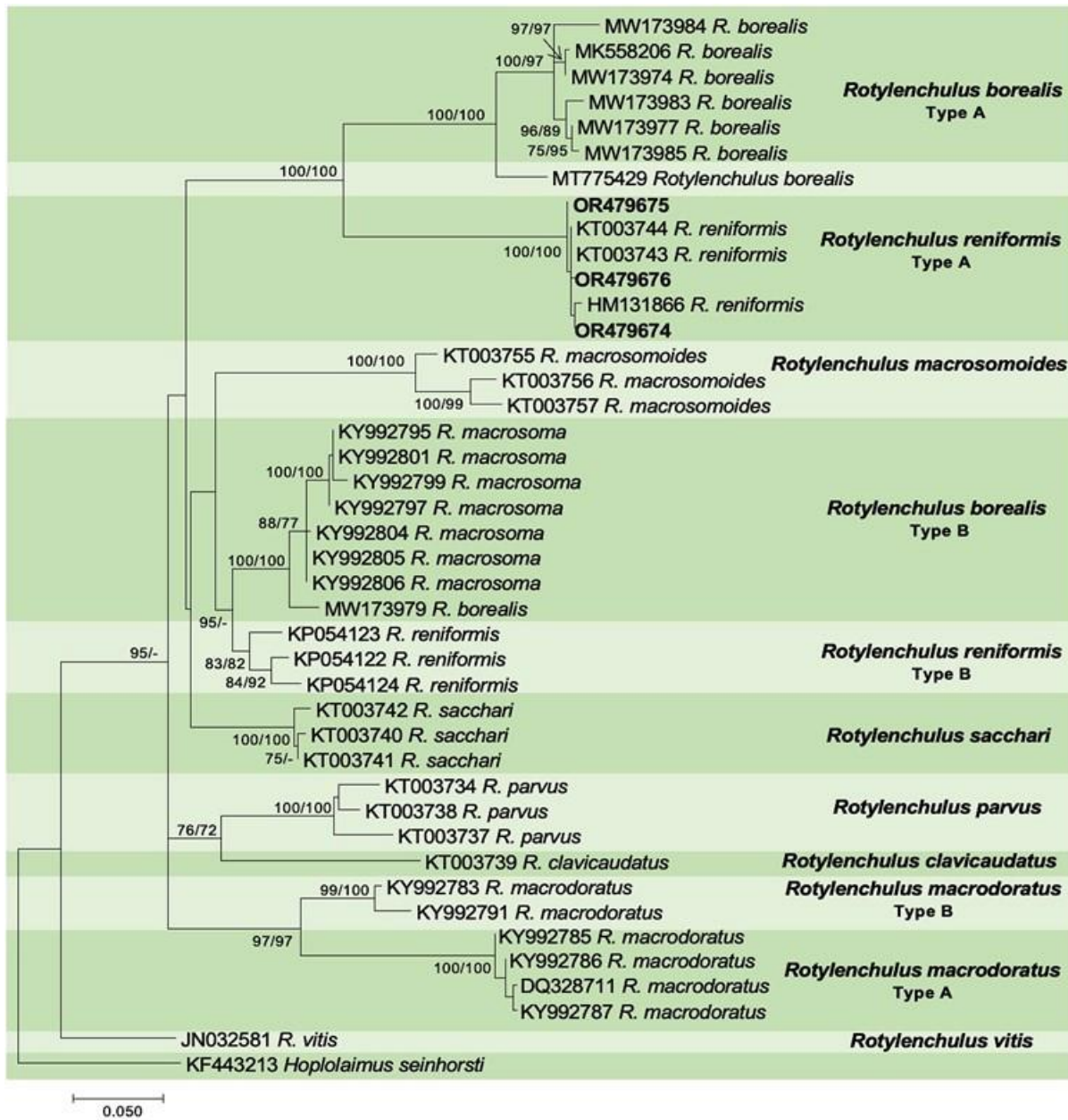


Fig. 5. Maximum likelihood tree generated from sequence analysis of the 28S gene dataset for *Rotylenchulus* spp. Bootstrap support (>70%) values for Maximum Likelihood and Maximum Parsimony are shown in the nodes. The tree was rooted to *Hoplolaimus seinhorsti* MK521873. Accession numbers of sequences generated in this study are shown in bold.

Table 1. Populations of *Rotylenchulus reniformis* obtained from tomato fields in municipalities of Sinaloa, Mexico.

Municipality	Population code	<i>R. reniformis</i> individuals/100 g soil	Soil texture	Percentage of clay/sand/silt	pH	No. samples	Sampling date
Ahome	Aho1	0	Clayey-silty	50.7/27.3/22.3	6.9	4	October 2021
Navolato	Nav1	297	Loamy-clayey	30.5/43.4/26	7.1	16	October 2021
Navolato	Nav2	156	Loamy-silty	12.5/31.4/56	6.3	13	September 2021
Culiacán	Cul1	16,638	Loamy	24.5/53.4/22	7.4	3	February 2022
Guasave	Gua1	0	Loamy-clayey	38.6/45.3/16	6.2	4	October 2021
Guasave	Gua2	68	Clayey	43.4/44.6/12	6.3	5	October 2021
Guasave	Gua3	101	Clayey-silty	44.5/35.4/20	7.3	5	October 2021
Guasave	Gua4	2,536	Clayey-silty	50.5/27.4/22	7.0	7	February 2022
Elota	Elo1	0	Clayey-silty	43.5/36/22.4	7.1	15	November 2021

Table 3. Reproduction factor of different populations of *Rotylenchulus reniformis* obtained from tomato fields in the municipalities of Navolato, Culiacan, and Guasave, in the state of Sinaloa, Mexico.

Municipality	Initial population (juveniles)	Reproduction factor			
		30 dpi ^x	45 dpi	60 dpi	75 dpi
Cul1 (Culiacan)	500	2.6 a ^y	11.3 a	14.6 a	53.3 a
	1000	3.0 a	7.6 b	12.0 ab	59.0 a
	2000	3.8 a	7.8 b	10.6 b	66.0 a
Nav1 (Navolato)	500	0.6 b	2.0 c	10.0 b	27.3 b
	1000	0.6 b	3.3 c	10.3 b	30.7 b
	2000	0.8 b	3.5 c	9.1 b	31.3 b
Gua4 (Guasave)	500	0.6 b	2.0 c	9.3 b	12.0 b
	1000	0.6 b	1.3 c	9.3 b	18.0 b
	2000	1.0 b	1.6 c	9.1 b	19.3 b

^xdpi: day posterior inoculation

^yMean values followed by different letters in the column indicate significant differences among treatments according to Fisher's LSD test ($P < 0.05$).

3. OCCURRENCE OF THE RENIFORM NEMATODE *Rotylenchulus reniformis* PARASITIZING CUCUMBER AND EGGPLANT IN MEXICO

Maria T. Valdez-Morales,¹ José A. Carrillo-Fasio,¹ Raymundo S. García-Estrada,¹ Kamila C. Correia,² Isabel Cruz-Lachica,¹ Isidro Marquez-Zequera,¹ and Juan M. Tovar-Pedraza^{1*}.

1 Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Coordinación Regional Culiacán, Culiacán, 80110, Sinaloa, México.

2 Universidade Federal do Cariri, Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Crato, 63130-025, Ceará, Brazil.

Correspondence to: Juan Manuel Tovar Pedraza. E-mail: juan.tovar@ciad.mx.

Published:

01 Noviembre 2023

Revista:

Plant Health Progress

DOI:

<https://doi.org/10.1094/PHP-10-23-0087-BR>

Brief

Occurrence of the Reniform Nematode *Rotylenchulus reniformis* Parasitizing Cucumber and Eggplant in Mexico

Maria T. Valdez-Morales,¹ José A. Carrillo-Fasio,¹ Raymundo S. García-Estrada,¹ Kamila C. Correia,² Isabel Cruz-Lachica,¹ Isidro Marquez-Zequera,¹ and Juan M. Tovar-Pedraza^{1,†} 

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Coordinación Regional Culiacán, Culiacán, 80110, Sinaloa, Mexico

² Universidade Federal do Cariri, Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Crato, 63130-025, Ceará, Brazil

Accepted for publication 1 November 2023.

Abstract

Cucumber and eggplant exhibiting symptoms of root necrosis and yellowing foliage were observed in two shade houses in Culiacán, Sinaloa, Mexico. Through morphological characterization and molecular analysis of the *coxI* sequences, *Rotylenchulus reniformis* was identified as the causal agent. This identification was further confirmed by the infection and reisolation of the

nematodes. This is the first report of *R. reniformis* causing diseases in cucumber and eggplant in Mexico.

Keywords: *Cucumis sativus*, morphology, phylogeny, reproduction factor, *Solanum melongena*

The state of Sinaloa is the largest producer and exporter of vegetables in Mexico, contributing 30 and 93% to the national production of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and eggplant (*Solanum melongena* L.), respectively (SIAP 2022). However, various plant-parasitic nematodes severely impact the production of these crops. Although most of the research in Mexico focuses on the study of root-knot nematodes such as *Meloidogyne enterolobii* (Salazar-Mesta et al. 2023), there are other economically significant yet underexplored nematodes, such as the reniform nematode *Rotylenchulus reniformis*.

In February 2022, eggplant cultivar Barcelona and cucumber cultivar Zeus plants (3 months old) exhibiting foliar symptoms of yellowing, as well as necrosis and a reduction in the root system, were observed in two shade houses in Culiacán, Sinaloa, Mexico. The disease incidence (yellowing) was 25 and 20% in the shade houses with cucumber and eggplant, respectively. From each shade house, 1 kg of soil was collected from the rhizosphere (20 to 25 cm of depth) of five plants. Nematodes (juveniles and males) were extracted from 200 g of fresh soil using the Baermann funnel and Cobb's sieving methods (Christie and Perry 1951). For preparation of females, pieces of 0.5 g of roots per plant were rinsed with tap water and stained using the acid fuchsin method described by Bybd et al. (1983). Nematodes of the genus *Rotylenchulus* were found in all samples, with population densities ranging from 82 to 386 nematodes per 100 g of soil and 28 to 65 nematodes per 1 g of cucumber root. In eggplant, population densities ranged from 51 to

195 nematodes per 100 g of soil and 15 to 32 nematodes per 1 g of root.

Qualitative and quantitative morphological characteristics of the specimens from each population were examined and photographed using an Axio Imager M2 compound microscope (Zeiss, Germany) equipped with differential interference contrast. Microscopic examination of the mature females ($n = 20$) showed a ventrally arcuate body, an obese, kidney-shaped anterior region with an irregular contour, and tails with a slender terminal portion. Males ($n = 20$) were vermiform, exhibiting tails broadly rounded with a rounded tip and gubernaculum and spicules well developed and ventrally arcuate. Immature females ($n = 20$) were vermiform, ventrally curved, lateral fields with four smooth equidistant lines, with conoid tails and stylets moderately developed with rounded basal knobs. The body length of immature females ranged from 370 to 405 μm , stylet length from 16.5 to 18.2 μm , and vulva position from 67 to 72%. The morphological features of the juveniles, males, and females were consistent with those reported for *R. reniformis* (Palomares-Rius et al. 2018).

For molecular identification, total DNA was extracted from mature females obtained from cucumber and eggplant. A fragment of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*coxI*) gene was amplified by PCR and sequenced using the primers JB3 (5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3')/JB5 (5'-AGCACCTAAACTTAAAACATAATGAAAATG-3') reported by Bowles et al. (1992). The sequences were deposited in GenBank under the accession numbers OR497192 and OR499873. BLASTn showed 100% identity with available sequences of *R. reniformis* from China (OM985019), Vietnam (MT232760), and Colombia (MK908054 and MK908055). A phylogenetic tree, including published *coxI* sequences for *Rotylenchulus* spp., was inferred based on maximum likelihood and maximum parsimony methods using MEGA 11 software. Bootstrap analysis with 1,000 replicates was used to estimate the reliability of the branches of the generated trees. The phylogenetic analysis placed the Mexican populations from

[†]Corresponding author: J. M. Tovar-Pedraza; juan.tovar@ciad.mx

Funding: Support was provided by CONFIE (Coordinación General para el Fomento a la Investigación Científica e Innovación del Estado de Sinaloa).

The author(s) declare no conflict of interest.

cucumber (PEPR01) and eggplant (BERR01) in the same clade as *R. reniformis* (Fig. 1).

Pathogenicity tests were performed under greenhouse conditions by inoculating five cucumber cultivar Estrada and eggplant cultivar Estelal seedlings with different inoculum concentrations (500, 1,000, and 2,000 juveniles per plant). The inoculated plants (25 days old) were grown in 1-kg pots containing a sterile substrate (50% soil, 25% sand, and 25% coconut fiber). Five uninoculated eggplant and cucumber plants were used as controls. The reproduction factor (final population/initial population) was estimated at 50 days after inoculation. Necrotic and reduced root systems were observed on inoculated plants, whereas control plants remained symptomless (Fig. 2). Females and egg masses were observed on cucumber and eggplant inoculated roots (Fig. 3). The blender root procedure (Schumacher and Grabau 2022) was used to recover all *R. reniformis* life stages. The reproduction factor was 4.2, 3.7, and 3.2 for cucumber and 3.2, 3.2, and 2.4 for eggplant

with the three inoculum concentrations (500, 1,000, and 2,000), respectively. The nematode on the inoculated roots was morphologically identical to that observed on the original diseased roots, fulfilling Koch's postulates. The entire experiment was conducted twice under greenhouse conditions at a temperature range of 25 to 35°C.

R. reniformis was previously identified to cause damage to cucumber in Puerto Rico (Echávez-Badel 1989) and Brazil (Torres et al. 2006). Similarly, its presence has been documented in relation to eggplant in Egypt (Ismail and Youssef 1997) and India (Mojumder et al. 2002). To the best of our knowledge, this is the first report of *R. reniformis* parasitizing cucumber and eggplant in Mexico. Due the significant damage induced by *R. reniformis* on the roots of eggplant and cucumber, it is imperative to investigate its interaction with soilborne plant pathogens and develop effective management strategies.

FIGURE 1

Maximum likelihood tree generated from sequence analysis of the *CoxI* gene dataset of *Rotylenchulus* spp. Bootstrap support (>70%) values for maximum likelihood and maximum parsimony are shown in the nodes. The tree was rooted to *Hoplolaimus seinhorsti* MK521873. The sequences generated in this study are shown in bold.

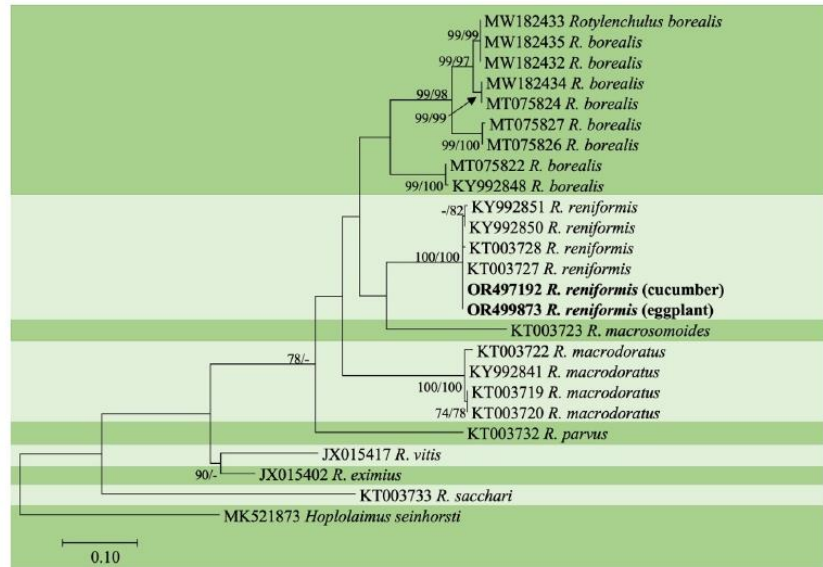


FIGURE 2

Rotylenchulus reniformis damage to cucumber (cultivar Estrada) and eggplant (cultivar Estelal) roots at 50 days postinoculation. **A**, Healthy and diseased cucumber roots. **B**, Healthy and diseased eggplant roots.

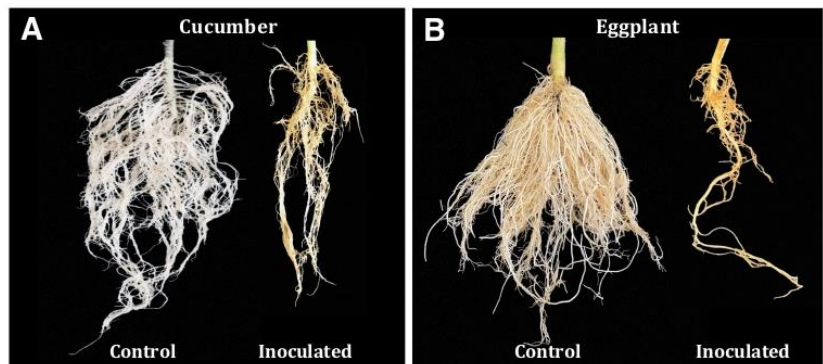
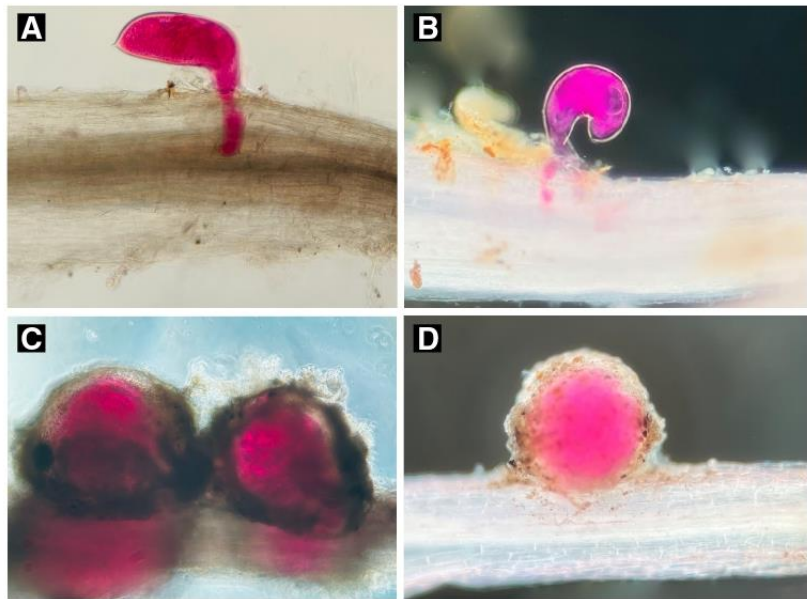


FIGURE 3

Micrographs of *Rotylenchulus reniformis* parasitizing cucumber and eggplant roots (stained with acid fuchsin).

A, Cucumber root parasitized by a female, 20 days postinoculation.

B, Eggplant root parasitized by a female, 20 days postinoculation. **C**, Two egg masses on cucumber root, 25 days postinoculation. **D**, Egg mass on eggplant root, 25 days postinoculation.



Literature Cited

- Bowles, J., Blair, D., and McManus, D. P. 1992. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol. Biochem. Parasitol.* 54:165-173.
- Bybd, D. W., Jr., Kirkpatrick, T., and Barker, K. R. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *J. Nematol.* 15:142-143.
- Christie, J. R., and Perry, V. G. 1951. Removing nematodes from soil. *Proc. Helminth. Soc. Wash.* 18:106-108.
- Echávez-Badel, R. 1989. Performance of cucumber varieties in soil infested with root-knot and reniform nematodes. *J. Agric. Univ. P. R.* 73:321-325.
- Ismail, A. E., and Youssef, M. M. A. 1997. Influence of some organic manures as soil amendments on development and reproduction of *Rotylenchulus reniformis* infecting eggplant and *Hirschmanniella oryzae* infecting rice. *Anz. Schad. Pflanz. Umwelt.* 70:58-61.
- Mojumder, V., Dhawan, S. C., and Pankaj, S. J. 2002. Compatibility of neem products and bioagents for the management of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* infecting eggplant. *Ind. J. Nematol.* 32:197-198.
- Palomares-Rius, J. E., Cantalapiedra-Navarrete, C., Archidona-Yuste, A., Tzortzakakis, E. A., Bimpilis, I. G., Vovlas, N., Subbotin, S. A., and Castillo, P. 2018. Prevalence and molecular diversity of reniform nematodes of the genus *Rotylenchulus* (Nematoda: Rotylenchulinae) in the Mediterranean Basin. *Eur. J. Plant Pathol.* 150:439-455.
- Salazar-Mesta, R. J., Carrillo-Fasio, J. A., Retes-Manjarrez, J. E., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Mora-Romero, G. A., Osuna-Enciso, T., and Tovar-Pedraza, J. M. 2023. Characterization, pathogenicity, and reproduction of *Meloidogyne enterolobii* populations parasitizing vegetables in Sinaloa, Mexico. *Trop. Plant Pathol.* 48:394-407.
- Schumacher, L. A., and Grabau, Z. J. 2022. Evaluation of three common root extraction methods for *Rotylenchulus reniformis* recovery from cotton roots. *Plant Health Prog.* 23:288-291.
- SIAP. 2022. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Panorama Agroalimentario. <http://nube.siap.gob.mx/cierreagricola>
- Torres, G. R. C., Pedrosa, E. M. R., and Moura, R. M. 2006. Sobrevivência de *Rotylenchulus reniformis* em solo naturalmente infestado submetido a diferentes períodos de armazenamento. *Fitopatol. Bras.* 31:203-206.

4. INTERACCIÓN COMPETITIVA ENTRE *R. reniformis* y *M. enterolobii* EN PLANTAS DE TOMATE Y PEPINO

María Trinidad Valdez-Morales¹, José Armando Carrillo-Fasio¹, Raymundo Saúl García-Estrada¹, Josefina León-Félix¹, José Ángel Martínez Gallardo² and Juan Manuel Tovar Pedraza¹.

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Subsede Culiacán, 80110, Culiacán, Sinaloa, México.

² Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agronomía, Culiacán, Sinaloa, México.

*Corresponding Author: Juan Manuel Tovar-Pedraza. juan.tovar@ciad.mx

ENVIADO

REVISTA MEXICANA DE FITOPATOLOGÍA

ABSTRACT

Background/Objective. The production of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) is affected by the nematodes *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne enterolobii*; however, the interaction between these two nematodes on these plant species is unknown. This study aimed to determine the interaction of *R. reniformis* and *M. enterolobii* in tomato and cucumber plants through artificial inoculations under greenhouse conditions.

Materials and Methods. Twenty-one-day-old seedlings were inoculated with 2000 juveniles (J2) of each nematode per plant. The experiment followed a completely randomized three-factor design with six treatments: T1= *R. reniformis*; T2= *M. enterolobii*; T3= *R. reniformis* was inoculated and 15 days later *M. enterolobii* was added; T4 = *M. enterolobii* was inoculated and 15 days later *R. reniformis* was added; T5 = both species were inoculated on the same day; T6 = uninoculated control. The reproduction factor (RF) of both nematodes, galling index for *M. enterolobii*, and root necrosis percentage for *R. reniformis* were recorded at 30 and 50 days after inoculation.

Results. In cucumber plants, *M. enterolobii* reduced its reproduction by up to 73% in the presence of *R. reniformis*, while in tomato plants, its reproduction decreased by 52%, with a reduction in the galling index of 72% and 60% in cucumber and tomato plants, respectively, compared to T1 and T2. On the other hand, *R. reniformis* reduced its reproduction by 72% in cucumber plants and 67% in tomato plants in the presence of *M. enterolobii*, and a reduction in symptom severity was observed by 78% and 77% in cucumber and tomato plants, respectively, compared to T1 and T2.

Conclusion. In treatments where one species was inoculated before the other, the species inoculated first showed a higher RF and caused greater disease severity. In simultaneous co-inoculations, both nematodes reduced their RF and caused lower symptom severity in tomato and cucumber plants.

Keywords: *Solanum lycopersicum*, *Cucumis sativus*, reproduction factor, severity, galling index.

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. La producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) se ve afectada por los nematodos *Rotylenchulus reniformis* y *Meloidogyne enterolobii*; sin embargo, se desconoce la interacción entre estos dos nematodos en estas especies vegetales. El

objetivo de este estudio fue determinar la interacción de *R. reniformis* y *M. enterolobii* en plantas de tomate y pepino a través de inoculaciones artificiales bajo condiciones de invernadero.

Materiales y Métodos. Se inocularon plántulas de 21 días de edad con 2000 juveniles (J2) de cada nematodo por planta. El experimento siguió un diseño completamente al azar con tres factores y seis tratamientos: T = *R. reniformis*; T2= *M. enterolobii*; T3= se inoculó *R. reniformis* y 15 días después se añadió *M. enterolobii*; T4= se inoculó *M. enterolobii* y 15 días después se añadió *R. reniformis*; T5= ambas especies fueron inoculadas el mismo día; T6= control sin inocular. Se registró el factor de reproducción (FR) de ambos nematodos, el índice de agallamiento para *M. enterolobii* y el porcentaje de necrosis radicular para *R. reniformis* a los 30 y 50 días después de la inoculación.

Resultados. En plantas de pepino, *M. enterolobii* redujo su reproducción hasta en un 73% en presencia de *R. reniformis*, mientras que en plantas de tomate su reproducción disminuyó en un 52%, con una reducción en el índice de agallamiento de un 72% y 60% en plantas de pepino y tomate, respectivamente, en comparación con T1 y T2. Por otro lado, *R. reniformis* redujo su reproducción en un 72% en plantas de pepino y un 67% en plantas de tomate en presencia de *M. enterolobii*, observándose una reducción en la severidad de los síntomas del 78% y 77% en plantas de pepino y tomate, respectivamente, en comparación con T1 y T2.

Conclusión. En los tratamientos donde una especie fue inoculada antes que la otra, la especie inoculada primero mostró un mayor FR y causó una mayor severidad de la enfermedad. En las coinoculaciones simultáneas, ambos nematodos redujeron su FR y causaron una menor severidad de los síntomas en plantas de tomate y pepino.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, *Cucumis sativus*, factor de reproducción, severidad, índice de agallamiento.

Mexico is one of the world's leading vegetable producers, ranking ninth in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) production with 4,271,914 tons in 2022, and fifth in cucumber (*Cucumis sativus* L.) production with 1,038,999 tons. The state of Sinaloa is the main producer of both tomato and cucumber, with 677,612 and 314,150 tons, respectively (SIAP, 2023).

Rotylenchulus reniformis and *Meloidogyne enterolobii* are highly significant species and are among the top 10 most economically impactful and scientifically important plant-parasitic nematodes worldwide (Jones *et al.*, 2013). These nematodes have been reported to severely affect

vegetable crops in the state of Sinaloa (Martínez-Gallardo *et al.*, 2019; Salazar-Mesta *et al.*, 2023a, 2023b; Valdez-Morales *et al.*, 2024).

Both *Rotylenchulus* spp. and *Meloidogyne* spp. form feeding sites in the roots of plants. *Meloidogyne enterolobii* is a sedentary endoparasitic nematode, and its parasitism involves the induction of giant cells in the parenchyma (Starr *et al.*, 2002; Perry and Moens, 2013). Meanwhile, *R. reniformis* is a semi-endoparasitic nematode that induces syncytia formation, primarily in pericycle cells (Starr *et al.*, 2002). Although the infection sites of ectoparasitic and endoparasitic nematodes differ, interactions between species can occur, and these interactions may be antagonistic or suppressive to one of the species involved (Khan *et al.*, 1985; Robinson *et al.*, 2007; Gomes *et al.*, 2014).

Studies on interactions between plant-parasitic nematodes have shown that such relationships can be antagonistic for either nematode when feeding on the same plant (Diez *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2015). Moreover, the effects of nematode species interactions are related to the nature of parasitism and competition, as the competitive relationship increases with the complexity of the host-parasite interaction (Kesba *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2007).

In the case of lesion nematodes from the genera *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, and *Rotylenchulus*, it has been demonstrated that interactions occur due to competition for space and nutrients (Ferreira *et al.*, 2015; Gomes *et al.*, 2014). Additionally, several studies have determined the interaction between *R. reniformis* and *Meloidogyne* spp., including *M. javanica* and *M. incognita*, in various host plants such as pineapple (*Ananas comosus* L.), cotton (*Gossypium hirsutum* L.), tomato, and castor bean (*Ricinus communis* L.). These studies recorded that *R. reniformis* has a competitive advantage over *Meloidogyne* species in joint inoculations, as a reduction in root galling was observed (Diez *et al.*, 2003; Faske and Hurd, 2015; Ferreira *et al.*, 2015a, 2015b). The interaction of *M. enterolobii* with lesion nematodes, such as *Helicotylenchus dihysteroides*, has also been evaluated in guava (*Psidium guajava* L.) seedlings; however, symptoms caused by *M. enterolobii* were observed in both separate and combined inoculation treatments (Gomes *et al.*, 2014).

The interactions between *M. enterolobii* and *R. reniformis* in tomato and cucumber plants have not been studied, but it is suggested that *R. reniformis* may have a competitive advantage over the root-knot nematode due to its high degree of parasitism (Diez *et al.*, 2003; Robinson, 2007; Aryal *et al.*, 2011). Therefore, the objective of this study was to determine the competitive interaction between

R. reniformis and *M. enterolobii* in tomato and cucumber plants under greenhouse conditions.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted under greenhouse conditions from December 2022 to May 2023. Tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Imperial) and cucumber (*Cucumis sativus* cv. Zeus) seeds were germinated in 60-cell trays filled with sterile substrate. Twenty-one days after germination, seedlings were inoculated with 2000 juveniles (J2) of each nematode (*R. reniformis* and *M. enterolobii*) under the following treatments: T1 = *R. reniformis*; T2 = *M. enterolobii*; T3 = *R. reniformis* was inoculated, followed by *M. enterolobii* 15 days later; T4 = *M. enterolobii* was inoculated, followed by *R. reniformis* 15 days later; T5 = both species were inoculated on the same day; T6 = uninoculated control.

Evaluations were conducted at 30 and 50 days after inoculation (DAI). The variables measured were the reproduction factor (RF) of each nematode, the galling index for *M. enterolobii*, and root necrosis percentage for *R. reniformis*. To evaluate the galling index, roots were extracted, washed with tap water, and the number of galls per root was counted for each treatment.

For the reproduction factor assessment, roots were stained with 1% acid fuchsin (Byrd *et al.*, 1983), and female nematodes and egg masses of each species were observed and counted using a biological microscope. Juveniles and male nematodes were extracted from the substrate of each root using the sieve-funnel technique to determine the final population.

Statistical analysis. The experiment followed a completely randomized three-factor design with six treatments and three replicates. The response variables were the reproduction factor of both nematodes, the galling index of *M. enterolobii*, and the percentage of root necrosis caused by *R. reniformis*. The reproduction factor (RF) of each nematode was determined using the formula $RF = Pf/Pi$, where Pi represents the initial nematode population at the time of inoculation, and Pf is the final nematode count at root extraction. The galling index (GI) was evaluated using the Taylor and Sasser (1978) scale, where: 0 = 0 galls, 1 = 1–2 galls, 2 = 3–10 galls, 3 = 11–30 galls, 4 = 31–100 galls, and 5 = >100 galls. The data obtained were transformed to $\log(x + 1)$ to standardize variance. The transformed means were compared using Fisher's LSD test ($P < 0.05$) with SAS software version 9.3 (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA).

RESULTS

Reproduction and pathogenicity of *R. reniformis* and *M. enterolobii*. The initial inoculum levels of both nematodes increased during the trial, and the species displayed variable reproduction factors depending on the host. However, *M. enterolobii* exhibited a higher reproduction factor (RF) (41.9 and 20.9 in cucumber and tomato, respectively) compared to *R. reniformis* (7 and 1.8 in cucumber and tomato, respectively) on both hosts (Figures 1 A, C and 2 A, C).

In cucumber plants, mature females and egg masses of both nematodes were observed in all inoculated treatments at 30 days after inoculation (DAI) (Figure 3A, C, E). In contrast, in tomato plants, mature females and egg masses of *M. enterolobii* were seen at 30 DAI., but *R. reniformis* only showed mature females without egg masses. The highest reproduction of both nematodes occurred at 50 DAI. (mature females and egg masses) in both plant species (Figures 3B, D, F).

Both *R. reniformis* and *M. enterolobii* showed significant differences between treatments across both plant species. Notably, both nematodes had higher RF when inoculated separately (T1 and T2) with values of 49.1 and 20.9, respectively, in cucumber plants, and 7 and 1.8, respectively, in tomato plants, compared to the combined inoculation treatments (T3, T4, and T5). In treatments where one species was inoculated first and the other 15 DAI (T3 and T4), the species inoculated first exhibited a higher number of eggs, females, juveniles, and consequently a higher RF (Table 1), and caused greater symptom severity compared to the species inoculated later (Figures 1 and 2).

Rotylenchulus reniformis displayed higher RF in individual inoculations for both cucumber and tomato plants; however, its RF decreased when co-inoculated with *M. enterolobii* in the same root. Specifically, *R. reniformis* showed an RF reduction of up to 83% in cucumber and 88% in tomato compared to the treatment where only *R. reniformis* was inoculated. Moreover, when *R. reniformis* was inoculated first and *M. enterolobii* 15 DAI., the reproduction of *R. reniformis* decreased by 58% and 44% in cucumber and tomato plants, respectively, in the presence of *M. enterolobii* (Figures 2A, C).

Meloidogyne enterolobii also exhibited a higher RF in individual inoculations, but its RF decreased by 76% and 66% in cucumber and tomato plants, respectively, when co-inoculated with *R. reniformis* (Figures 1A, C).

Symptom severity caused by *R. reniformis* and *M. enterolobii*. All plants inoculated with *R.*

reniformis showed root necrosis symptoms, and all treatments inoculated with *M. enterolobii* exhibited gall symptoms. Both nematodes caused symptoms in roots at 30 DAI, with greater severity observed at 50 DAI (Figures 4 and 5). In both crops, all *R. reniformis* and *M. enterolobii* treatments showed significant differences ($P < 0.05$) compared to the uninoculated control.

At 50 DAI, *R. reniformis* caused 93.3% and 58.3% necrosis in tomato and cucumber roots, respectively. However, when co-inoculated with *M. enterolobii*, the necrosis percentage decreased by 82% in cucumber roots and 85% in tomato roots. In other words, the presence of *M. enterolobii* in the same root reduced the severity of symptoms caused by *R. reniformis* in both cucumber and tomato plants (Figures 1D and 2D).

Meloidogyne enterolobii exhibited a similar pattern to *R. reniformis* in those individual inoculations resulted in more severe symptoms. However, when co-inoculated with *R. reniformis*, the galling index (GI) decreased, with T3 (where *R. reniformis* was inoculated first and *M. enterolobii* 15 DAI) showing the lowest symptom severity, with GI reductions of 76% and 60% in cucumber and tomato plants, respectively (Figures 1B and 2B). Overall, the presence of *R. reniformis* in the same root reduced the severity of symptoms caused by *M. enterolobii* in both cucumber and tomato plants (Figures 4 and 5).

It is worth mentioning that the highest severity in both cucumber and tomato roots was observed in those where both nematodes were co-inoculated, as these roots showed a combination of symptoms such as necrosis, galls, stunting, etc., caused by both nematode species (Figures 4D and 5D).

DISCUSSION

In this study, both *M. enterolobii* and *R. reniformis* reproduced and caused symptoms in cucumber and tomato plants. However, both nematodes exhibited higher reproduction factors (RF) and caused more severe symptoms in cucumber, making it the more susceptible host. This observation aligns with findings by Salazar-Mesta *et al.* (2023b), who determined that cucumber is more susceptible to *M. enterolobii* compared to tomato and pepper (*Capsicum annuum* L.). This increased susceptibility may be due to the larger size and branching of cucumber roots compared to tomato roots, leading to greater root exudation, which nematodes detect through their sensory systems. Additionally, cucumber root exudates are primarily composed of sugars and compounds

preferred by nematodes, such as stigmasterol, while tomato roots mainly release phenolics, sterols, terpenoids, glycosides, and other substances that are less favorable to nematodes (Mateos and Leal, 2003; Lagunes and Zavaleta, 2016).

Both *R. reniformis* and *M. enterolobii* exhibited their highest RFs at 50 days after inoculation (DAI), which was expected since both nematodes typically complete their reproductive cycle (egg mass formation) between 18 and 30 days after inoculation in host plants such as tomato, eggplant (*Solanum melongena* L.), and cucumber (Salazar-Mesta *et al.*, 2023a, 2023b; Valdez-Morales *et al.*, 2024). The results indicated that reducing the RF of both nematodes also decreased symptom severity. It has been observed that RF is closely related to the severity of root symptoms. Previous studies have reported that an increase in *M. enterolobii* RF elevates galling in tomato and pepper plants (Salazar-Antón *et al.*, 2014; Salazar-Mesta *et al.*, 2023b; Salazar-Mesta *et al.*, 2024). Similarly, an increase in *R. reniformis* RF has been associated with higher necrosis percentages in cowpea (*Vigna unguiculata* L.), cotton, and tomato plants (Aryal, 2011; Karthika *et al.*, 2020).

In tomato plants, *M. enterolobii* reproduction was reduced in the presence of *R. reniformis*, regardless of the order of inoculation. Treatments T3, T4, and T5 were statistically similar (Figure 5). This may be due to the high reproductive rate of *M. enterolobii* compared to *R. reniformis*. Under favorable conditions, the life cycle of most *Meloidogyne* species, including *M. enterolobii*, is completed in 25–30 days, with each female producing 500–1000 eggs per mass (Da Silva *et al.*, 2019; Philbrick *et al.*, 2020). In contrast, *R. reniformis* completes its life cycle in 18–25 days, with each female producing 30–200 eggs under favorable conditions (Robinson, 2002).

The life cycle duration of plant-parasitic nematodes largely depends on soil temperature (Bridge and Starr, 2007). The optimal temperature for *M. enterolobii* development ranges between 20 and 30°C (Greco and Di Vito, 2009; Tomaz *et al.*, 2021), while for *R. reniformis*, it fluctuates between 23°C and 30°C (Starr *et al.*, 2002). Our experiments were conducted under temperatures close to the optimal ranges for both nematodes, with the first experiment held at 18 to 30°C and the second at 20°C to 35°C.

In cucumber plants, *R. reniformis* exhibited a similar behavior to *M. enterolobii* in terms of RF and symptom severity in treatments where both nematodes were inoculated simultaneously. This indicates that nematode reproduction depends significantly on host susceptibility. According to other authors, *R. reniformis* has a broad host range, with cucumber and eggplant being among its

preferred hosts (Starr *et al.*, 1991; Robinson *et al.*, 1997; Vhadera *et al.*, 2001; Valdez-Morales *et al.*, 2024). It has been reported that *R. reniformis* population densities are dependent on host susceptibility (Davis *et al.*, 2003; Stetina *et al.*, 2007; Moore and Lawrence, 2013).

In the combined inoculations, the nematode species inoculated first—whether *M. enterolobii* or *R. reniformis*—showed a higher RF in tomato and cucumber plants. This result could be due to the clustering of infective units of the first species in the root, leading to competition for space with the second species. This reduced penetration influenced the competition between both nematodes. A high initial population may deteriorate infection sites and lead to an accumulation of metabolic waste, affecting nematode development. Therefore, RF decreases when nematode populations are excessive due to limited food and space (Salazar-Antón *et al.*, 2013). These findings align with other studies that have evaluated the interaction of *R. reniformis* with various *Meloidogyne* species in cotton, pineapple, and castor plants (Diez *et al.*, 2003; Aryal *et al.*, 2011). However, these studies propose space and nutrient competition as the mechanism for the antagonistic interaction between the nematodes. Recent studies, however, have concluded that prior infection of the host with *Rotylenchulus* or *Meloidogyne* can induce greater defense against the other species through the induction of systemic resistance (Aryal *et al.*, 2011; Aryal *et al.*, 2012; Osman *et al.*, 2012). This resistance, mediated by the salicylic acid pathway (Van Loon *et al.*, 2006), enhances the plant's natural defense systems against subsequent infections and provides broad-spectrum resistance to various pathogens, including plant-parasitic nematodes (Osman *et al.*, 2012).

This study demonstrated that in co-inoculations, *R. reniformis* was more affected in terms of RF and symptom severity compared to *M. enterolobii* in tomato and cucumber plants. This contrasts with results from other authors, who determined that *R. reniformis* has a competitive advantage over *Meloidogyne* species (Diez *et al.*, 2003; Faske and Hurd, 2015; Ferreira *et al.*, 2015). The effects of nematode species interactions are related to the nature of parasitism and competition, as the competitive relationship intensifies with increased host-parasite complexity (Kesba *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2007).

Meloidogyne enterolobii is a sedentary endoparasite, and its parasitism involves the induction of giant cells in the parenchyma (Starr *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2009; Perry and Moens, 2013). Through its stylet, this nematode introduces effector molecules (pectolytic and cellulolytic enzymes) into the host, reprogramming gene expression to modify host cell metabolism,

physiology, and structure, forming specialized feeding sites. The plant responds by activating defense mechanisms, such as increased activity of key enzymes in the phenylpropanoid pathway, which synthesizes secondary metabolites with antimicrobial properties and lignin monomers that play a structural and defensive role in plants (Lagunes-Fortiz and Zavaleta-Mejía, 2016).

On the other hand, *R. reniformis* is a semi-endoparasite, and its parasitism induces syncytium formation, primarily in pericycle cells (Starr *et al.*, 2002). Females insert their stylets into the host's endodermal cells and release a mix of effectors, including CLE and CEP peptide mimics (Wubben *et al.*, 2015; Eves-Van den Akker *et al.*, 2016), causing cell wall lysis in the initial cell and adjacent pericycle cells, allowing multiple cytoplasms to merge into a single syncytium (Wubben *et al.*, 2015). Effector cells are regulated by parasitism genes, such as glutathione peroxidase, pectin lyase, polygalacturonase, β -1,4-endoglucanase, β -1,4-endoxy lanase, and chorismate mutase (Wubben *et al.*, 2010).

In addition to the parasitism nature of each nematode, biochemical and molecular aspects may influence their competitive interaction. Both species modify host plant metabolism and gene expression. Some studies have shown that root-knot nematodes alter host gene expression related to cell cycle control, cell wall modification, and hormone regulation to induce giant cell formation in the roots (Cabrera *et al.*, 2015; Wieczorek, 2015). Both nematodes (reniform and root-knot) suppress defense-related signaling pathways throughout the lifespan of their feeding structures (Jaouannet *et al.*, 2013; Quentin *et al.*, 2013). Previously, several genes involved in nematode parasitism and gall formation have been reported (Mathesius, 2003). For example, nodulin N-26, which encodes an aquaglyceroporin, is induced during both root-knot nematode gall formation and reniform nematode parasitism (Favery *et al.*, 2002). Similarly, the leucine-rich repeat (LRR) receptor kinase SYMRK/NORK, part of a receptor complex involved in root-knot nematode perception, has been reported to influence reniform nematode parasitism (Endre *et al.*, 2002; Stracke *et al.*, 2002; Weerasinghe *et al.*, 2005; Redding *et al.*, 2018).

Further physiological, biochemical, and molecular studies are recommended to understand in detail the key aspects of the competitive interaction between *M. enterolobii* and *R. reniformis* in tomato and cucumber plants.

CONCLUSIONS

In individual inoculations, *Meloidogyne enterolobii* and *Rotylenchulus reniformis* exhibited the highest reproduction factor (RF) and disease severity in tomato and cucumber plants. In treatments where one species was inoculated before the other, the species inoculated first showed a higher RF and caused greater disease severity. In simultaneous co-inoculations, both nematodes reduced their RF and caused lower symptom severity in tomato and cucumber plants. However, in tomato plants, the reproduction of *R. reniformis* was more affected compared to that of *M. enterolobii*.

LITERATURE CITED

Aryal, S. K. Davis, R. F. Stevenson, K. L. Timper, P. & Ji, P. Induction of systemic acquired resistance by *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* in cotton following separate and concomitant inoculations. *Journal of Nematology*, 2011, vol. 43, p. 160.

Aryal, S. K. Davis, R. F. Stevenson, K. L. Timper, P. & Ji, P. Influence of infection of cotton by *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on the production of enzymes involved in systemic acquired resistance. *Journal of Nematology*, 2012, vol 43, p. 152.

Bridge, J. & Starr, J. L. *Plant nematodes of agricultural importance: Chapter 1 Plant nematode Biology and Parasitism*. 2007, p 5-8.

Byrd, D. W. Kirkpatrick, T. & Barker, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology*, 1983, vol. 15, p. 142–143.

Cabrera, J. Díaz-Manzano, F. E. Fenoll, C. & Escobar, C. Chapter seven—Developmental pathways mediated by hormones in nematode feeding sites. In *Advances in Botanical Research*. 2015, vol. 73, p. 167-188. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2014.12.005>

Da Silva, M. C. L. & Santos, C. D. G. Distribution of *Meloidogyne enterolobii* in guava orchards in the state of Ceará, Brazil. *Revista Caatinga*. 2016, vol. 30, p. 335–342. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n208rc>

Davis, R. F. Koenning, S. R. Kemerait, R. C. Cummings, T. D. & Shurley, W. D. *Rotylenchulus reniformis* management in cotton with crop rotation. *Journal of Nematology*. 2003, vol. 35, p. 58–64.

Diez, A. Lawrence, G. W. & Lawrence, K. S. Competition of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* on cotton following separate and concomitant inoculations. *Journal of Nematology*. 2003, vol. 35, p. 422–429.

Endre, G. Kereszt, A. Kevei, Z. Mihacea, S. Kalo, P. & Kiss, G. A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development. *Nature*. 2002, vol. 417, p. 962–966.

Eves-Van, den Akker, S. Lilley, C. J. Yusup, H. B. Jones, J. T. & Urwin, P. E. Functional C-terminally encoded peptide (CEP) plant hormone domains evolved de novo in the plant parasite *Rotylenchulus reniformis*. *Molecular Plant Pathology*. 2016, vol. 17, p. 1265–1275. <http://doi.org/10.1111/mpp.12402>

Faske, T. R. & Hurd, K. Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to fluopyram. *Journal of Nematology*. 2015, vol. 47, p. 316.

Favery, B. Complainville, A. Vinardell, J. Lecomte, P. Vaubert, D. Mergaert, P. Kondorosi, A. Kondorosi, E. Crespi, M. & Abad, P. The endosymbiosis-induced genes ENOD40 and CCS52a are involved in endoparasitic nematode interactions in *Medicago truncatula*. *Molecular Plant -Microbe Interaction*. 2002, vol. 15, p. 1008-1013. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.10.1008>

Ferreira, T. F. Souza, R. M. Idalino, W. S. S. Ferreira, K. D. S. & Brioso, P. S. T. Interaction of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica* with mealybug wilt of pineapple, in microplots. *European Journal of Plant Pathology*. 2015, vol. 141, p. 761-768. <http://doi.org/10.1007/s10658-014-0576-5>

Gomes, V. M. Souza, R. M. Almeida, A. M. & Dolinski, C. Relationships between *M. enterolobii* and *F. solani*: spatial and temporal dynamics in the occurrence of guava decline. *Nematoda*. 2014, vol. 1, p. 1014. <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.01014>

Greco, N. & Di Vito, M. Dinámica poblacional y niveles de daño. En: Perry RN, Moens M, Starr JL (eds) *Nematodos agalladores*. CAB International, Wallingford. 2009, pp. 246-274.

Guo, X. Chronis, D. De La Torre, C. M. Smeda, J. Wang, X. & Mitchum, M. G. Enhanced resistance to soybean cyst nematode *Heterodera glycines* in transgenic soybean by silencing putative CLE receptors. *Plant Biotechnology Journal*. 2015, vol. 13, p. 801-810. <https://doi.org/10.1111/pbi.12313>

Jaouannet, M. Magliano, M. Arguel, M. J. Gourgues, M. Evangelisti, E. Abad, P. & Rosso, M. N.

The root-knot nematode calreticulin mi-CRT is a key effector in plant defense suppression. *Molecular Plant -Microbe Interaction*. 2013, vol. 26, p. 97-105. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-12-0130-R>

Jones, J. T. Haegeman, A. Danchin, E. G. Gaur, H. S. Helder, J. Jones, M. G. K. Kikuchi, T. Manzanilla-López, R. Palomares-Rius, J. E. Wesemael, W. M. L. & Perry, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 2013, vol. 14, p. 946–961. <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>

Karthika, K. S. Nisha, M. S. & Anitha, N. Indigenous bacterial antagonists against reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* linford and oliveira in vegetable cowpea. *Indian Journal of Nematology*. 2020, vol. 50, p. 101-106.

Kesba, H. H. & Al-Sayed, A. S. A. Interactions of three species of plant-parasitic nematodes with arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus macrocarpus*, and their effect on grape biochemistry. *Nematology*. 2005, vol. 7, p. 945-952.

Khan, R. M. Khan, M. W. & Khan, A. M. Cohabitation of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* in tomato roots and effect on multiplication and plant growth. *Nematología Mediterránea*. 1985, vol. 13, p. 153-159.

Lagunes-Fortiz, E. & Zavaleta-Mejía, E. Función de la lignina en la interacción planta-nematodos endoparásitos sedentarios. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2016, vol. 34, p. 43-63. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1506-7>

Martínez-Gallardo, J. A. Díaz-Valdes, T. Allende-Molar, R. Retes-Manjarrez, J. E. & Carrillo-Fasio, J. A. Identificación y distribución de *Meloidogyne* spp. en tomate de Sinaloa México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2019, vol. 10, p. 453-459. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.392>

Mateos, R. G. & Leal, R. P. Fitoalexinas: mecanismo de defensa de las plantas. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*. 2003, vol. 9, p. 5-10.

Mathesius, U. Conservation and divergence of signaling pathways between roots and soil microbes—The rhizobium-legume symbiosis compared to the development of lateral roots, mycorrhizal interactions and nematode-induced galls. *Plant Soil*. 2003, vol. 255, p. 105-119.

Moore, S. R. & Lawrence, K. S. The effect of soil texture and irrigation on *Rotylenchulus*

reniformis and cotton. *Journal of Nematology*. 2013, vol. 45, p. 99–105.

Osman, H. A. Youssef, M. M. A. El-Gindi, A. E. M.Y. Ameen, H. H. Abd-Elbary, N. A. H. & Lashein, A. M. S. Effect of reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* as biotic inducer of resistance against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in potato. *Journal of Plant Protection Research*. 2012, vol. 52, p. 333-336. <https://doi.org/10.2478/v10045-012-0054-z>

Perry RN & Moens M. *Plant Nematology*. 2nd edition. 2013, P 40-214.

Philbrick, A. N. Adhikari, T. B. Louws, F. J. & Gorny, A. M. *Meloidogyne enterolobii*, a major threat to tomato production: current status and future prospects for its management. *Frontiers in Plant Science*. 2020, vol. 11, p. 60-63. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.606395>

Quentin, M. Abad, P. & Favery, B. Plant parasitic nematode effectors target host defense and nuclear functions to establish feeding cells. *Frontiers in Plant Science*. 2013, vol. 4, p. 1-7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00053>

Redding, N. W. Agudelo, P. & Wells, C. E. Multiple nodulation genes are up-regulated during establishment of reniform nematode feeding sites in soybean. *Phytopathology*. 2018, vol. 108, p. 275-291. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-17-0154-R>

Robinson, A. F. Inserra, R. N. Caswell-Chen, E. P. Vovlas, N. & Troccoli, A. *Rotylenchulus* species: Identification, distribution, host ranges, and crop plant resistance. *Nematropica* 1997, vol. 27, p. 127–180.

Robinson, A. F. Reniform nematodes: *Rotylenchulus* species Plant resistance to parasitic nematodes. CAB International. 2002, p.153–74.

Robinson, A. F. Reniform in US cotton: When, where, why, and some remedies. *Annual Review of Phytopathology*. 2007, vol. 45, p.263–288.

Salazar-Antón, W. & Guzmán-Hernández, T. D. J. Efecto de poblaciones de *Meloidogyne* sp. en el desarrollo y rendimiento del tomate. *Agronomía mesoamericana*. 2013, vol. 24, p. 419-426.

Salazar-Antón, W. & Guzmán-Hernández, T. D. J. Efecto nematicida de extractos de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. asociado al tomate en Nicaragua. *Agronomía Mesoamericana*. 2014, vol. 25, p. 111-119.

Salazar-Mesta, R. J. Carrillo-Fasio, J. A. Tovar-Pedraza, J. M. García-Estrada, R. S. Mora-Romero,

G. A. Vega-Hernández, R. & Torres-López, J. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* parasitizing eggplant in Mexico. *Plant Disease*. 2023a. vol. 107, p. 16–38. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1846-PDN>

Salazar-Mesta, R. J. Carrillo-Fasio, J. A. Retes-Manjarrez, J. E. García-Estrada, R. S. León-Félix, J. Mora-Romero, G. A. Osuna-Enciso, T. & Tovar-Pedraza, J. M. Characterization, pathogenicity, and reproduction of *Meloidogyne enterolobii* populations parasitizing vegetables in Sinaloa, Mexico. *Tropical Plant Pathology*. 2023b. vol. 48, p. 394–407. <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00576-7>

Salazar-Mesta, R. J. Carrillo-Fasio, J. A. Retes-Manjarrez, J. E. García-Estrada, R. S. León-Félix, J. & Tovar-Pedraza, J. M. Characterization of resistance responses to *Meloidogyne enterolobii* in *Capsicum annuum* landraces from Mexico. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2024, vol. 84, p. 301-310. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392024000300301>

SIAP. 2023. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Secretaria de agricultura y desarrollo rural (online). www.gob.mx/siap. Accessed 23 Febrero 2024.

Starr, J. L. *Rotylenchulus reniformis* on greenhouse-grown foliage plants: host range and sources of inoculum. *Journal of Nematology*. 1991, vol. 23, p. 6-34.

Starr, J. L. Cook, R. & Bridge, J. *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. CABI publishing. 2002, P. 153.

Stetina, S. R. Young, L. D. Pettigrew, W. T. & Bruns, H. A. Effect of corn-cotton rotations on reniform nematode populations and crop yield. *Nematropica*. 2007, vol. 37, p. 237–248.

Stracke, S. Kistner, C. Yoshida, S. Mulder, L. Sato, S. Kaneko, T. Tabata, S. Sandal, N. Stougaard, J. Szczyglowski, K. & Parniske, M. A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis. *Nature*. 2002, vol. 417, p. 959-962.

Taylor, A. L. & Sasser, J. N. *Identification and Control of Root knot Nematodes (Meloidogyne spp.)*. Departamento Plant Pathology N.C. State University, and USAID. 1978. Pp 111.

Tomaz, J. P. Gouveia, A. C. de Souza, Y. G. da Silva, S. A. & Machado, Z. A. C. *Arabidopsis thaliana* as a susceptible host for studies of *Meloidogyne paranaensis* and plant interaction. *Tropical Plant Pathology*. 2021, vol. 46, p. 465-475. <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00424-6>

Valdez-Morales, M. T. Carrillo-Fasio, J. A. García-Estrada, R. S. Correia K. C. Cruz-Lachica, I. Marquez-Zequera, I. & Tovar-Pedraza, J. M. Occurrence of the reniform nematode *Rotylenchulus reniformis* parasitizing cucumber and eggplant in Mexico. Plant Health Progress. 2024, vol. 25, p. 10. <https://doi.org/10.1094/PHP-10-23-0087-BR>

Van Loon, L. C. Rep, M. & Pieterse, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. Annual Review of Phytopathology. 2006, vol. 44, p. 135–162. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425>

Vadhera, I. Shukla, B. N. & Javant, B. Studies on *Rotylenchulus reniformis* – a review. Agricultural Review 2001, vol. 22, p. 222–227.

Weerasinghe, R. Bird, D. & Allen, N. Root-knot nematodes and bacterial nod factors elicit common signal transduction events in *Lotus japonicus*. Proceeding of the National Academy of Sciences 2005, vol. 102, p. 3147-3152. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407926102>

Wieczorek, K. Chapter three–Cell wall alterations in nematode-infected roots. In Advances in Botanical Research. 2015, vol. 73, p. 61-90.

Wubben, M. J. Callahan, F. E. & Scheffler, B. S. Transcript analysis of parasitic females of the sedentary semi-endoparasitic nematode *Rotylenchulus reniformis*. Molecular and Biochemical Parasitology. 2010, vol. 172, p. 31-40. <http://doi:10.1016/j.molbiopara.2010.03.011>

Wubben, M. J. Gavilano, L. Baum, T. J. & Davis, E. L. Sequence and spatiotemporal expression analysis of CLE-motif containing genes from the reniform nematode (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira). Journal of Nematology. 2015, vol. 47, p. 159-165.

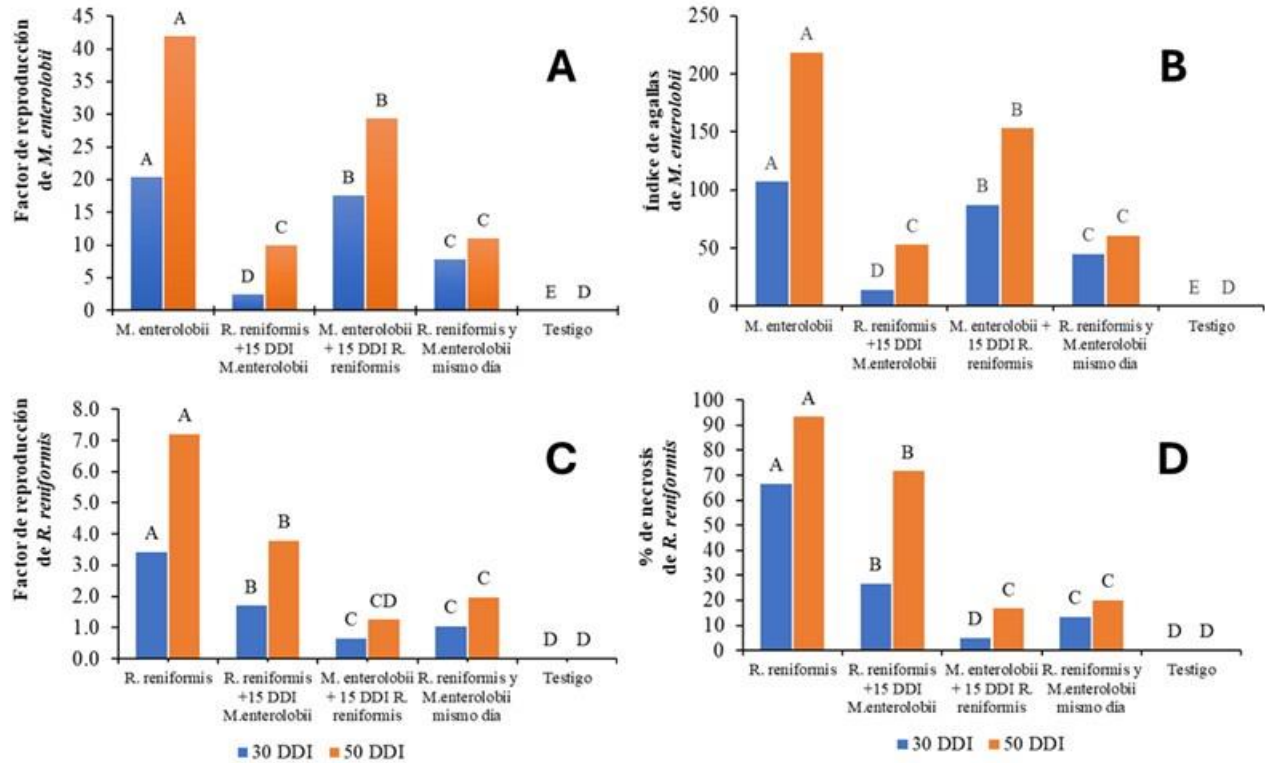


Figure 1. Reproduction and severity of *R. reniformis* and *M. enterolobii* in cucumber plants at 30 and 50 days after inoculation (DAI). A) Reproduction factor of *M. enterolobii*. B) Gall index of *M. enterolobii*. C) Reproduction factor of *R. reniformis*. D) Percentage of necrosis caused by *R. reniformis*. The comparison of means was conducted between bars of the same color; means that do not share a letter are significantly different.

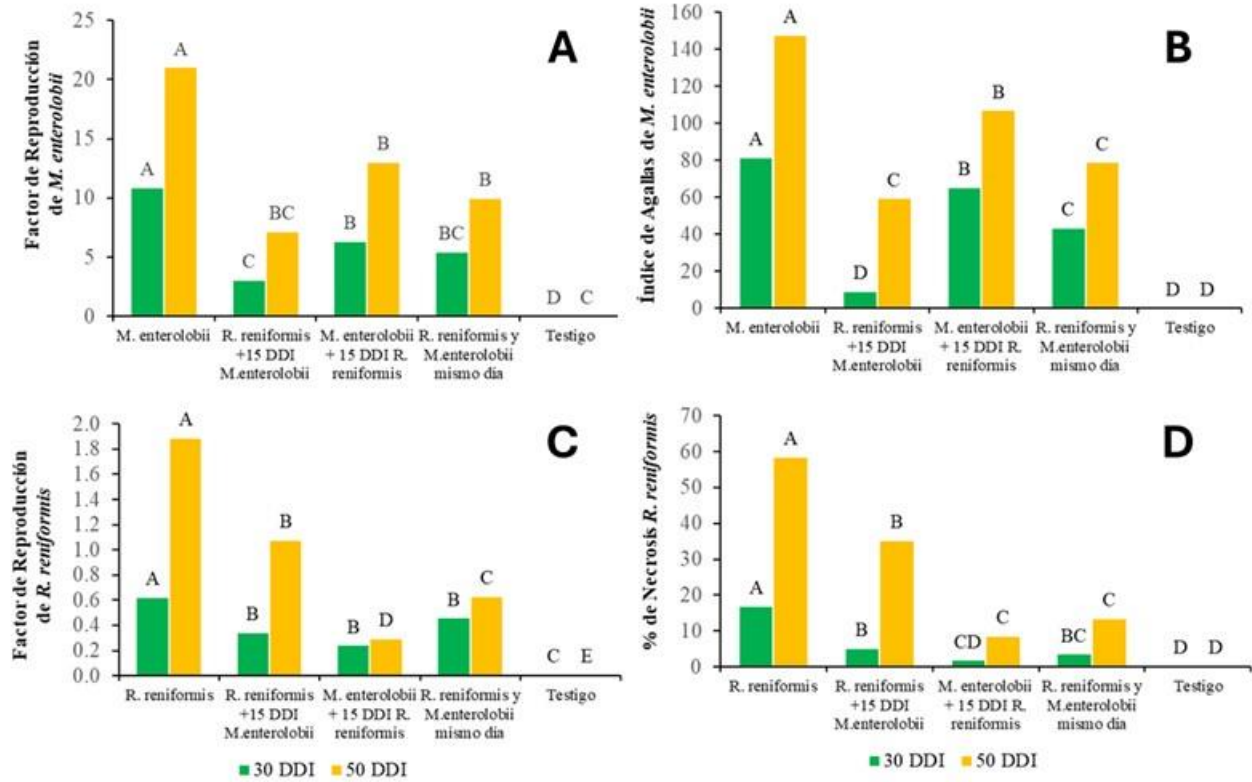


Figure 2. Reproduction and severity of *R. reniformis* and *M. enterolobii* in tomato plants at 30 and 50 days after inoculation (DAI). A) Reproduction factor of *M. enterolobii*. B) Gall index of *M. enterolobii*. C) Reproduction factor of *R. reniformis*. D) Percentage of necrosis caused by *R. reniformis*. The comparison of means was conducted between bars of the same color; means that do not share a letter are significantly different.

Table 1. Number of females, eggs, and juveniles of *R. reniformis* and *M. enterolobii* by treatment in cucumber and tomato plants at 50 days after inoculation.

Species	Treatments	Cucumber			Tomato		
		Females	Eggs	Juveniles	Females	Eggs	Juveniles
<i>Rotylenchulus reniformis</i>	T1	170	13,340	1,056	45	3,613	154
	T2	0	0	0	0	0	0
	T3	81	6,520	1,039	24	1,933	213
	T4	30	2,466	40	6	453	121
	T5	43	3,493	430	12	960	290
	T6	0	0	0	0	0	0
<i>Meloidogyne enterolobii</i>	T1	0	0	0	0	0	0
	T2	419	83,866	66	209	41,966	0
	T3	99	19,833	13	71	14,233	0
	T4	291	58,333	266	129	25,900	0
	T5	110	22,033	0	99	19,800	0
	T6	0	0	0	0	0	0



Figure 3. Micrographs of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne enterolobii* parasitizing cucumber and tomato roots at 50 days after inoculation (DAI). A) Female of *M. enterolobii* in cucumber root. B) Female of *M. enterolobii* causing galls in tomato root. C) Female of *R. reniformis* affecting cucumber roots. D) Female of *R. reniformis* in tomato root. E) Cucumber root with a gall caused by *M. enterolobii* and three mature females of *R. reniformis* around it. F) Tomato root with a gall from *M. enterolobii* and necrosis caused by *R. reniformis*.



Figure 4. Tomato roots at 50 days after inoculation (DAI). A) Control without inoculation. B) Root with galls caused by *M. enterolobii*. C) Root with stunting and necrosis caused by *R. reniformis*. D) Root with symptoms of galls, necrosis, and stunting, inoculated with *R. reniformis* and *M. enterolobii* simultaneously.



Figure 5. Cucumber roots at 50 days after inoculation (DAI). A) Control without inoculation. B) Root with galls caused by *M. enterolobii*. C) Root with symptoms of stunting and necrosis caused by *R. reniformis*. D) Root with symptoms of galls, necrosis, and stunting, inoculated with *R. reniformis* and *M. enterolobii* simultaneously.

**5. RESPONSE OF COMMERCIAL CULTIVARS AND EFFICACY OF NEMATICIDES
FOR THE MANAGEMENT OF *Rotylenchulus reniformis* IN TOMATO UNDER
GREENHOUSE CONDITIONS**

María Trinidad Valdez-Morales¹, José Armando Carrillo-Fasio¹, Raymundo Saúl García-Estrada¹,
Josefina León-Félix¹, José Manuel Osuna-Rodríguez², José Ángel Martínez-Gallardo² and Juan
Manuel Tovar-Pedraza¹.

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Subsede Culiacán, 80110, Culiacán,
Sinaloa, México.

² Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agronomía, Culiacán, Sinaloa, México.

*Corresponding Author: Juan Manuel Tovar-Pedraza. juan.tovar@ciad.mx

EN PREPARACIÓN PARA ENVIAR A REVISTA

Plant Health Progress

RESUMEN

En Sinaloa, la producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es afectada por el nematodo *Rotylenchulus reniformis*, sin embargo, la información sobre estrategias de manejo de este fitopatógeno es escasa. El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta de cultivares comerciales de tomate y la eficacia de productos químicos, biológicos y botánicos para el manejo de *R. reniformis*. La respuesta de los cultivares de tomate se realizó bajo un diseño de dos factores con tres tratamientos y tres replicas, donde las variables respuesta fueron la altura de la planta, peso de frutos, factor de reproducción y porcentaje de necrosis en raíz. Se inocularon plántulas de tomate de los cultivares Imperial, Sweetelle y Byelsa con 0, 2000 y 5000 juveniles de *R. reniformis* por planta. La evaluación se realizó a los 90 días después de la inoculación. Mientras que, la evaluación de los productos se llevó a cabo bajo un diseño de un factor totalmente al azar, con tres réplicas y las variables respuesta fueron las mismas que en el experimento anterior con excepción del peso de frutos e incluyendo el peso fresco de raíz. Las plantas de tomate cv. 8579 se inocularon con 2000 juveniles/planta y la aplicación de los tratamientos nematicidas se realizó siguiendo las indicaciones de la etiqueta para cada producto. La evaluación se realizó a los 60 días después de la inoculación, registrando la cantidad de huevos por g de raíz y juveniles por 100 g de suelo, así como la altura de la planta, peso de raíz y porcentaje de necrosis. Los tratamientos donde se aplicaron los productos químicos mostraron menor porcentaje de necrosis en raíces y menor cantidad de huevos y juveniles del nematodo con respecto a los tratamientos donde se aplicaron productos biológicos y botánicos, sin embargo, las plantas tratadas con productos biológicos presentaron mayor altura. Los productos con mayor control de *R. reniformis* fueron fluazaindolizine, *Purpureocillium lilacinum* y extracto de quillaja. Los resultados de los tres cvs. evaluados demostraron que el cv. Sweetelle fue el menos susceptible al nematodo, debido a que presentó menor FR, no obstante, la severidad de los síntomas ocasionados en los tres cultivares fue estadísticamente igual.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, susceptibilidad, biocontrol, extractos vegetales, control químico.

INTRODUCCIÓN

México es el principal exportador de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a nivel mundial y ocupó el séptimo lugar como productor con 3,636,927 t en 2023 (SIAP, 2024). Sin embargo, la mayoría de los cultivos vegetales incluido el tomate, son afectados por nematodos fitoparásitos, en países como EE. UU. se han reportado pérdidas de rendimiento por nematodos fitoparásitos de más de 7 % en cultivos de solanáceas (Gorny *et al.*, 2024). El cultivo de tomate es afectado de manera significativa por nematodos lesionadores, siendo el nematodo reniforme *Rotylenchulus reniformis* la especie más predominante en este hospedante (Ye, 2018). Por otra parte, este nematodo afecta a diversos cultivos agrícolas en todo el mundo (Sikora *et al.*, 2018), y se ha reportado ocasionando pérdidas sustanciales en cultivos de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y soja (*Glycine max* L.) en el sur de EE. UU. (Faske y Sisson 2024). El nematodo reniforme se considera uno de los 10 principales nematodos fitoparásitos en función de su impacto económico e importancia científica (Jones *et al.* 2013). Las pérdidas de rendimiento ocasionadas por *R. reniformis* ocurren como resultado de la alimentación directa de las raíces o indirectamente a través de una interacción con patógenos fúngicos con origen en el suelo como *Neocosmospora solani*, *Verticillium* spp. y *Rhizoctonia solani*, lo que lleva a pérdidas aún mayores (Castillo *et al.*, 2010). En comparación con la mayoría de los nematodos fitoparásitos, *R. reniformis* está ampliamente adaptado a diferentes tipos de suelos, incluidos suelos con alto contenido de limo y arcilla, y puede colonizar profundamente el suelo y mantenerse en un estado anhidrobiótico para sobrevivir el invierno (Robinson, 2007). Todas estas características dificultan la eliminación de este nematodo de los suelos infestados, además que, las estrategias de manejo para este nematodo dependen de los nematicidas químicos, ya sea que se utilicen como parte de un programa de manejo integrado o como una estrategia de control individual. Los nematicidas fumigantes son altamente efectivos, pero requieren equipos de aplicación especializados y tienen costos de producción más altos que los nematicidas no fumigantes. Los nematicidas no fumigantes son los nematicidas más comúnmente utilizados en la producción agrícola y los más efectivos, como el aldicarb y el oxamil, no obstante, son altamente tóxicos para el medio ambiente y la salud humana (Faske y Hurd, 2015; Chen *et al.*, 2020).

Recientemente se han evaluado nematicidas no fumigantes, incluyendo al fluensulfone, fluopyram y fluazaindolizine para el control de *R. reniformis* en diferentes cultivos como tomate, pepino y

algodón (Sikora *et al.*, 2021; Soto-Ramos *et al.*, 2023; Shi *et al.*, 2023). Además, para promover la producción de alimentos saludables y de alta calidad utilizando métodos efectivos, de bajo impacto al ambiente y costo se han propuesto estrategias de manejo integrado de plagas que combinan múltiples tácticas para el control de *R. reniformis*, como son, el uso de productos biológicos y productos a base de extractos botánicos, la rotación de cultivos y el desarrollo de cultivares resistentes (Shi *et al.*, 2023). La utilización de cultivares resistentes para el manejo de *R. reniformis* es una opción que se ha estudiado desde hace varios años, por lo que la identificación de marcadores de resistencia a nematodos es esencial para el desarrollo de cultivares comerciales (Soto-Ramos *et al.*, 2023). Por ejemplo, estudios demostraron que, en el cultivo de algodón, la combinación de nematicidas y cultivares resistentes puede potencialmente extender las temporadas en las que se podría producir un cultivar resistente sin necesidad de una rotación de cultivos para manejar nematodos fitoparásitos (Sikora *et al.*, 2021). Recientemente, se reportó al nematodo *R. reniformis* afectando cultivos vegetales como berenjena y pepino en Sinaloa, el cual es el principal estado productor de vegetales en México (Valdez-Morales *et al.*, 2024). Sin embargo, se carece de información básica respecto a la eficacia de estrategias de manejo de este nematodo. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la respuesta de cultivares comerciales de tomate y la eficacia de productos químicos, biológicos y botánicos para el manejo de *R. reniformis* bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Inóculo de *R. reniformis*

Respuesta de cultivares comerciales de tomate a *R. reniformis*

Para evaluar la respuesta de cultivares comerciales de tomate se utilizó un cultivar de tres diferentes tipos de tomates (Imperial, Sweetelle y Byelsa). Las semillas de tomate se germinaron en charolas con sustrato estéril. A los 25 días después de la germinación, se trasplantaron en macetas con sustrato estéril. La inoculación del nematodo *R. reniformis* se llevó a cabo usando dos concentraciones de inóculo (2000 y 5000 juveniles/planta) y un testigo sin inocular para cada cultivar de tomate. Cada tratamiento constó de tres réplicas y las evaluaciones se realizaron a los 90 días después de la inoculación (ddi). Las variables evaluadas fueron: altura de la planta, peso

del fruto, factor de reproducción (FR) y porcentaje de necrosis en raíz. El experimento completo se realizó dos veces (el primero se realizó en los meses de enero a marzo de 2024 y el segundo se realizó de marzo a mayo del mismo año).

Evaluación de nematicidas

Los experimentos se realizaron en condiciones de invernadero en los meses de enero a mayo de 2024. Para evaluar la efectividad de nematicidas se utilizaron plántulas de tomate cv. 8579 de 25 días de edad, las cuales se trasplantaron en macetas de plástico con sustrato estéril y se inocularon con 2000 juveniles de *R. reniformis*/maceta para los tratamientos de químicos y extractos botánicos, mientras que, para los tratamientos de biológicos se inocularon 2000 huevos/maceta. Los tratamientos (químicos, biológicos y botánicos) se aplicaron al drench en la base del tallo (200 mL por planta) de acuerdo con los intervalos y dosis indicados en las etiquetas de cada uno de los productos evaluados (Tabla 1). Se estableció un diseño totalmente al azar de un solo factor con 6, 5, y 6 tratamientos para cada uno de los ensayos con nematicidas químicos, biológicos y botánicos, respectivamente. Para cada tratamiento se analizaron tres réplicas, además, encada uno de los ensayos se incluyó un testigo inoculado, así como un testigo absoluto (sin inocular). El experimento completo se realizó dos veces. Las evaluaciones se realizaron a los 60 días después de la inoculación (ddi), donde las variables evaluadas fueron: altura de la planta, FR, peso fresco y porcentaje de necrosis en raíz. Para evaluar la cantidad final de juveniles, se tomó el suelo rizosférico y se realizó la técnica de tamiz-embudo de Baerman (Jenkins 1964), mientras que, la cantidad final de huevos se evaluó mediante del método descrito por Hussey y Barker (1973).

Análisis estadístico

El factor de reproducción se determinó con la fórmula $RF = Pf/Pi$, donde Pi es la población inicial de nematodos al momento de la inoculación y Pf es el número final de nematodos al momento de la extracción de cada raíz. Los datos obtenidos se transformaron a $\log(x + 1)$ para estandarizar la varianza. Las medias transformadas se compararon mediante la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$) con la versión 9.3 del software SAS (SAS Institute, Cary, North Carolina, EE.UU.).

RESULTADOS

Respuesta de cultivares comerciales de tomate a *R. reniformis*

El nematodo se reprodujo en los tres cultivares evaluados (Imperial, Sweetelle y Byelsa) y ocasionó necrosis en las raíces de las plantas inoculadas. Los tres cultivares presentaron mayor altura de las plantas y mayor peso de los frutos en los testigos sin inocular. El tratamiento donde se inoculó la mayor densidad poblacional de *R. reniformis* (5000/planta) presentó menor altura de las plantas y menor peso de los frutos. En el cultivar imperial, la altura de las plantas y el peso de los frutos se redujo en un 25.9 y 27.1%, respectivamente con respecto al testigo sin inocular (Cuadro 2). El cv. Byelsa presentó un resultado muy similar al del cv. Imperial en cuanto a la altura de las plantas, sin embargo, en peso de frutó este cultivar presentó un mayor porcentaje de reducción (22.5 y 53.2%, respectivamente con respecto al testigo sin inocular). En dichas variables, el cv. Sweetelle fue el más afectado con la presencia de *R. reniformis*, ya que la altura de las plantas y el peso de los frutos se redujo en un 30.2 y 54%, respectivamente con respecto al testigo sin inocular. No obstante, el cv. Sweetelle fue el menos preferido por el nematodo, debido a que presentó menor FR, además, fue estadísticamente diferente ($P=0.01$) a los cvs. Imperial y Byelsa en densidades de 2000 y 5000 juveniles de *R. reniformis*/maceta (Cuadro 3). En cuanto al porcentaje de necrosis, los tres cultivares fueron estadísticamente iguales. Aunque el nematodo se reprodujo en menor porcentaje en el cv. Sweetelle, la severidad de los síntomas fue estadísticamente igual en las tres cultivares.

Evaluación de nematocidas

En la evaluación de nematocidas, los dos experimentos mostraron la misma tendencia, sin embargo, en el primer experimento, se observaron plantas más altas y la reproducción de *R. reniformis* fue menor con respecto al segundo experimento, donde se observaron plantas de menor tamaño y raíces con mayor raquitismo y porcentaje de necrosis, así como mayor FR de *R. reniformis*. Sin embargo, no presentaron significancia estadística. Cabe mencionar que los experimentos se realizaron en dos temporadas diferentes (el primero se realizó en los meses de enero a marzo de 2024 y el segundo se realizó de marzo a mayo del mismo año).

Nematicidas químicos

Los tratamientos mostraron diferencia significativa con respecto al testigo inoculado y al testigo absoluto. Los cuatro productos químicos (fluazaindolizine, fluensulfone, fluopyram y avermectina) evaluados disminuyeron el FR y severidad de los síntomas de *R. reniformis* a los 60 días después de la inoculación. Sin embargo, el tratamiento con fluazaindolizine fue el que mostró menor FR y porcentaje de necrosis, es decir disminuyó en 96 y 91.8% el FR del nematodo y el porcentaje de daño, respectivamente (Figura 1). Además, este tratamiento también presentó el mayor peso fresco de raíz seguido del control absoluto. Sin embargo, el tratamiento que presentó la mayor altura de la planta fue el tratamiento con fluensulfone seguido del control absoluto (Figuras 1 y 4).

Nematicidas biológicos

En este caso los tratamientos mostraron diferencia significativa con respecto al testigo inoculado y al control absoluto, es decir, los cuatro productos de biocontrol (nema-fin®, arrecife®, biofacel® y lalnix ónix®) evaluados redujeron el FR de *R. reniformis* y el porcentaje de necrosis en las raíces de tomate, no obstante, el producto con mayor eficacia fue *Pu. lilacinum*, ya que disminuyó en 70% y 79.8% la cantidad de huevos y juveniles del nematodo, respectivamente (Figura 2). Además, disminuyó el porcentaje de necrosis en 65%, no obstante, el porcentaje de necrosis fue estadísticamente igual al tratamiento con *Po. chlamydosporia* y *Pu. lilacinum* / *B. firmus*, los cuales redujeron la necrosis en 55 y 50.9%, respectivamente (Figura 2). Los tratamientos que mostraron mayor peso fresco de raíz después del control absoluto fueron *Po. chlamydosporia*, y *Pu. lilacinum* / *Bacillus firmus*, en cuanto a altura de la planta, los tratamientos fueron estadísticamente iguales al control inoculado (Figuras 2 y 4).

Nematicidas botánicos

Al igual que los productos químicos y biológicos, los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al testigo inoculado. El tratamiento que corresponde a la mezcla de extractos botánicos y agentes de control biológico mostró el menor FR seguido por el tratamiento de extracto de quillaja, este tratamiento redujo el FR de *R. reniformis* en 66%, además redujo un 65% la necrosis en las raíces (Figura 3). Por otra parte, los tratamientos de extracto de canela, neem, epazote y yuca y el tratamiento de extracto de pino, orégano e higuera fueron estadísticamente iguales y redujeron el FR en un 49.3 y 51.7% respectivamente. Además, el tratamiento de extracto de quillaja mostró

mayor peso fresco de raíz después del control absoluto (Figuras 3 y 4). En cuanto, a la altura de la planta, todos los tratamientos fueron estadísticamente igual al control absoluto y diferentes al control inoculado (Figuras 3 y 4).

DISCUSIÓN

Aunque en los dos experimentos realizados se observó la misma tendencia de los tratamientos. En el primer experimento las plantas mostraron mayor altura y menor reproducción de *R. reniformis*, aunque no fue significativo estadísticamente. Esto puede deberse a que ambos experimentos se realizaron bajo diferente rango temperaturas. El primer experimento se realizó de enero a marzo de 2024 con rango de temperatura entre 13 y 28°C, y el segundo experimento se llevó a cabo de marzo a mayo de 2024 con temperaturas de 20 a 35°C. En este sentido, se ha reportado que la duración del ciclo de vida de los nematodos fitoparásitos depende en gran medida de la temperatura del suelo (Bridge y Starr, 2007). La temperatura óptima para el desarrollo de *R. reniformis* fluctúa de 23 a 30 °C (Greco y Di Vito 2009; Tomaz, *et al.* 2021).

En la evaluación de los nematicidas químicos se observó que todos los productos evaluados presentaron buena eficacia (>79%) en el control de *R. reniformis*, sin embargo, fluazaindolizine fue el nematicida que redujo mayormente el FR del nematodo y la severidad de los síntomas en plantas de tomate (98%), seguido por el fluopyram (96%). El fluazaindolizine es un nematicida perteneciente al grupo de las sulfonamidas con modo de acción desconocido (Lahm *et al.*, 2017). Recientemente se han realizado estudios donde el fluazaindolizine mostró una alta efectividad en el control de juveniles de *Tylenchulus semipenetrans* (nematodo de los cítricos) debido a su largo tiempo de residualidad, aunado a que los nematodos semiendoparásitos migran durante unas semanas en el exterior de las raíces y permanecen con el extremo posterior de las hembras expuesto a la rizosfera (Wu *et al.*, 2021). Además, se ha comprobado la buena eficacia de fluazaindolizine contra *Meloidogyne incognita* en diversos cultivos, incluyendo tomate (Silva *et al.*, 2019; Wram y Zasada 2019; Catherine y Zasada, 2020) y pepino (Hajihassani *et al.*, 2019) al reducir la reproducción del nematodo y agallamiento ocasionado. El resto de los nematicidas químicos (fluopyram, avermectina y fluensulfone) no mostraron diferencia significativa en cuanto al

porcentaje de necrosis en raíces y aunque visualmente el tratamiento de fluensulfone mostró mayor altura de las plantas fue estadísticamente igual al resto de los tratamientos químicos. Estos resultados coincidieron con lo reportado por Bhuyan *et al.* (2024).

Cabe señalar que nuestro estudio demostró la eficacia de 90% del nematicida fluensulfone contra *R. reniformis* en cultivo de tomate; así como otros estudios han reportado su alta eficacia (91%) contra *M. incognita* (Hajihassani *et al.*, 2019). Además, se ha observado su efecto en otros nematodos fitoparásitos como *Xiphinema*, *Aphelenchoides* y *Pratylenchus penetrans* (Oka, 2014). Algunos estudios sugieren que el fluensulfone afecta la quimiotaxis y la tasa de infección del nematodo debido a que afecta la eclosión de los huevos y produce la muerte de individuos juveniles (Oka y Saroya, 2019).

Por otro lado, el producto fluopyram del grupo de las carboxamidas fue el segundo nematicida químico en eficacia respecto a la reducción del FR de *R. reniformis* y el porcentaje de necrosis de las raíces. Fluopyram se ha reportado como un producto efectivo en el control de *M. paranaensis* en cultivo de café con una eficacia control de 100% (Arita *et al.*, 2020). También se ha demostrado la eficacia de este nematicida en el control de *Meloidogyne* spp. en tomate (Silva *et al.*, 2019; Watson, 2022; Loffredo *et al.*, 2024). Incluso se ha reportado la eficacia del fluopyram >80% en el control del nematodo reniforme en cultivos como algodón (Grabau *et al.*, 2021).

En este estudio se evaluaron cuatro nematicidas biológicos, los cuales fueron efectivos en el control de *R. reniformis*. Cabe resaltar que, el tratamiento a base de *Pu. lilacinum* presentó el menor FR del nematodo y menor porcentaje de necrosis en las raíces de tomate. Este hongo se ha reportado como un buen agente de biocontrol de *Meloidogyne* spp. en cultivos como berenjena, algodón y tomate (Eapen *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2010; Vyas *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2011). *Purpureocillium lilacinum* es un hongo cosmopolita que es conocido principalmente por su capacidad nematófaga a través de diferentes mecanismos de acción (Moreno-Gavira *et al.*, 2020), incluyendo el parasitismo, donde se ha observado la producción de enzimas líticas causantes del efecto nematicida, además se ha descrito la síntesis de amilasas, lipasas, proteasas y quitinasas asociadas a esta especie (Singh *et al.*, 2013; Giné y Sorribas, 2017). La producción de metabolitos secundarios (antibiosis) es otro de los mecanismos de acción de *Pu. lilacinum*, incluyendo la síntesis de alcaloides, compuestos fenólicos, compuestos orgánicos volátiles, esteroides, flavonoides, péptidos, policétidos, quinonas y terpenoides (Lima-Rivera *et al.*, 2016; Lugtenberg *et al.*, 2016; Saha *et al.*, 2016). Por su parte, Li *et al.* (2020) describieron 148 metabolitos activos

producidos por diferentes especies de *Purpureocillium* que pueden ser utilizados para el desarrollo de fármacos o agroquímicos. A diferencia de otros agentes biológicos, *Pu. lilacinum* puede actuar en diferentes etapas del desarrollo de los nematodos infectando huevos, juveniles o adultos. La cáscara del huevo de nematodo es la principal barrera contra los agentes parásitos y proporciona resistencia tanto a los nematicidas químicos como a los compuestos biológicos, sin embargo, *Pu. lilacinum* es capaz de secretar enzimas (quitinasas) para degradar esta barrera y desplegar mecanismos involucrados en el parasitismo (Sacristán y Howlett, 2006). Asimismo, diversos estudios demostraron que la eficacia de este hongo en el manejo de nematodos puede ser >70%, particularmente contra especies sedentarias (Dallemole-Giaretta *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2015). Otro hongo que resultó ser igual de efectivo que *Pu. lilacinum* fue *Po. chlamydosporia*, estos resultados coinciden con lo reportado por Wang *et al.* (2005), donde se demostraron que *Po. chlamydosporia* puede parasitar los huevos del nematodo reniforme bajo condiciones *in vitro* y puede suprimir las cantidades de *R. reniformis* en condiciones de invernadero. *Pochonia chlamydosporia* también es un ejemplo de hongos que pueden actuar tanto directa como indirectamente, es decir, la actividad nematicida podría atribuirse al parasitismo directo del hongo o debido a la producción de metabolitos secundarios nematicidas. Se ha demostrado que los hongos liberan metabolitos tóxicos en el medio en el que crecen y se han aislado varios compuestos nematicidas, como la gliotoxina (Khan *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2020). Además, este hongo puede inducir resistencia de las plantas colonizando las raíces y provocando una regulación positiva de los genes relacionados con la defensa contra los nematodos fitoparásitos (Escudero y López-Llorca, 2012; Naz *et al.*, 2021).

Los tres extractos botánicos evaluados en este trabajo redujeron el FR de *R. reniformis* y el porcentaje de necrosis en las raíces de tomate. Sin embargo, el tratamiento a base de una mezcla de extractos botánicos con microorganismos biocontroladores (nematrix®) fue el que redujo mayormente el FR del nematodo y porcentaje de necrosis en raíces. Este producto contiene hongos biocontroladores como *Pu. lilacinum*, el cual se ha reportado con alta efectividad para el control de nematodos fitoparásitos (Moreno-Gavira *et al.*, 2020), también contiene extractos de plantas como yuca (*Manihot esculenta*), lechuguilla (*Agave lechuguilla*), nopal (*Opuntia ficus-indica*), higuerilla (*Ricinus communis*) y cáscara de nuez (*Juglans regia*). En este sentido, algunos estudios reportaron al extracto de yuca con alto efecto nematicida para el control del nematodo *M. incognita* en plantas de zanahoria (*Daucus carota*) y tomate (Baldin *et al.*, 2012; Manneh *et al.*, 2016). Por

otra parte, el extracto de higuera es considerado un nematocida eficiente en el control de *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Rotylenchulus* (Ray *et al.*, 2016; Kouakou *et al.*, 2017; Estelle, *et al.*, 2023) debido a la ricina y la ricinusaglutinina contenidas en la semilla y estos compuestos son capaces de adherirse fuertemente a los órganos vitales de los nematodos fitoparásitos y modificar su comportamiento quimiotáctico o incluso causar su muerte (Estelle, *et al.*, 2023). Asimismo, los residuos de cáscara de nuez se han reportado como una alternativa para el manejo de nematodos fitoparásitos, y se ha indicado que las naftoquinonas provenientes de los desechos del procesamiento agroindustrial del fruto de nuez, tienen actividad nematocida (Marques, 2024).

Otro de los productos botánicos que redujo considerablemente el FR del nematodo reniforme, fue el tratamiento a base de extracto de quillaja (*Quillaja brasiliensis*), asimismo, este producto es utilizado como insecticida y molusquicida debido a que es rico en saponinas (González y San Martín 2013; Adomaitis y Skujienė 2020). Recientemente se han evaluado las saponinas para el control de nematodos fitoparásitos, demostrando su eficacia para el control de algunas especies de los géneros *Meloidogyne*, *Globodera*, *Xiphinema* y *Pratylenchus*, afectando la motilidad de los J2 y la viabilidad de los huevos (D'Addabbo *et al.*, 2020). El producto a base de extracto de canela, neem (*Azadirachta indica*), epazote y yuca mostró una eficacia igual al producto a base de extracto de pino, orégano e higuera ya que ambos redujeron el FR en un 50%. En este sentido, otros estudios indicaron que el aceite de canela es un nematocida efectivo para el control de *Bursaphelenchus xylophilus* y *Aphelenchoides fragariae* (Ruisheng *et al.*, 2017) y se ha demostrado que este aceite esencial tiene un efecto inhibitorio sobre la acetilcolinesterasa de *B. xylophilus* (Kang *et al.*, 2013). Similarmente, se ha demostrado que el extracto de neem es efectivo para el control de nematodos de importancia económica como especies de *Meloidogyne* (Danahap *et al.*, 2024). Recientemente se encontró que el extracto acuoso y metanólico de neem contiene componentes biológicamente activos como alcaloides, carbohidratos, flavonoides, glucósidos cardíacos, antraquinonas, saponinas, esteroides y serpenos, estudios reportan estos compuestos bioactivos con alto efecto nematocida (Okechalu *et al.*, 2020; Danahap *et al.*, 2024; Djiwanti *et al.*, 2024). El aceite o extracto de higuera también se ha mostrado con efecto nematocida sobre *Aphelenchus fragariae*, y el componente principal de esta planta es la ricina, la cual es tóxica para los nematodos fitoparásitos afectando principalmente los estados juveniles (j2) (Djiwanti *et al.*, 2024). El extracto de orégano también ha sido muy estudiado en el control de nematodos fitoparásitos (principalmente especies de *Meloidogyne*), y se ha indicado que el aceite de orégano contiene altos niveles de timol

y carvacrol (Sosa *et al.*, 2020), siendo este último un compuesto con efectos nematocida (Ntalli *et al.*, 2010).

La evaluación de los tres cultivares comerciales de tomate mostró que el cv. Sweetelle fue el menos preferido por el nematodo *R. reniformis* debido a que presentó menor FR, sin embargo, el porcentaje de necrosis fue estadísticamente igual a los cv. Byelsa e Imperial. La posible causa de este resultado puede deberse a que si bien la información sobre cultivares de tomate resistentes a *R. reniformis* es escasa, existe información sobre otros cultivos como algodón con estudios sobre genes de resistencia (Turner *et al.*, 2023). Se ha identificado resistencia a *R. reniformis* en al menos 10 de las 50 especies de algodón, la especie *G. longicalyx* mostró inmunidad a *R. reniformis* (Li *et al.*, 2018). En diversas especies de algodón, se han identificado seis genes de resistencia a *R. reniformis*, que van desde la acción dominante parcial, la dominante y la recesiva (Khanal *et al.*, 2018). En el cultivo de tomate, McEwan *et al.* (2014) reportaron siete genotipos resistentes a *R. reniformis*. En este cultivo de tomate se han aislado y caracterizado con éxito genes de resistencia a *M. incognita* y al nematodo del quiste (*Globodera rostochiensis*) (Weaver *et al.*, 2007). Resultados similares se han demostrado en otros estudios donde señalaron que existen genes con resistencia a *R. reniformis*, tal es el caso de cultivares de algodón, garbanzo y soya (Anver, 2023; Bhuyan *et al.*, 2024; Loreto *et al.*, 2024). Estos genes de resistencia están relacionados con la patogenicidad y activan sustancias inhibidoras de proteasas que impiden el desdoblamiento de las proteínas (Quintero y Castaño, 2012; Bhuyan *et al.*, 2024; Loreto *et al.*, 2024).

En general, este estudio reveló que diversos nematocidas biológicos, químicos y botánicos fueron efectivos para reducir el FR y la severidad de los síntomas ocasionados por *R. reniformis* en plantas de tomate. En el caso de los productos químicos, la menor reproducción del nematodo y severidad de los síntomas se registró en el tratamiento de fluazaindolizine, mientras que en el caso de los productos biológicos el mejor tratamiento fue *Purpuriofillium lilacinum*. En los extractos botánicos los mejores tratamientos fueron extracto de quillaja y la mezcla de extractos botánicos con microorganismos de biocontrol. Además, este estudio mostró que existen diferencias en la susceptibilidad de los diferentes cultivares de tomate en relación con el factor de reproducción de *R. reniformis*. Se recomiendan estudios posteriores con mayor detalle sobre los productos que resultaron con mayor efectividad para el control de *R. reniformis* en otros cultivos que se siembran en la zona norte de México para poder establecer un manejo integrado del nematodo reniforme.

LITERATURA CITADA

- Adomaitis, M., & Skujienė, G. (2020). Lethal doses of saponins from *Quillaja saponaria* for invasive slug *arion vulgaris* and non-target organism *Enchytraeus albidus* (Olygochaeta: Enchytraeidae). *Insects*, 11(11), 738. <https://doi.org/10.3390/insects11110738>
- Anver, S. (2023). Control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* and reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* on chickpea. *Agricultural Science Digest-A Research Journal*, 43(2), 232-237.
- Arita, L. Y., da Silva, S. A., & Machado, A. C. Z. (2020). Efficacy of chemical and biological nematicides in the management of *Meloidogyne paranaensis* in *Coffea arabica*. *Crop Protection*, 131, 105099. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105099>
- Augustin, J. M., Kuzina, V., Andersen, S. B., & Bak, S. (2011). Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, 72(6), 435-457. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.015>
- Baldin, E. L. L., Wilcken, S. R. S., Pannuti, L. E. D. R., Schlick-Souza, E. C., & Vanzei, F. P. (2012). Use of botanical extracts, cassava wastewater and nematicide for the control of root-knot nematode on carrot. *Summa Phytopathologica*, 38, 36-41. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052012000100006>
- Bhuyan, P., Devi, G., Bhagawati, S., & Pathak, D. (2024). Evaluation of some new nematicides for the management of reniform nematode (*Rotylenchulus reniformis*) on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Experimental Agriculture International*, 46(6), 492-499. <https://doi.org/10.9734/jeai/2024/v46i62501>
- D'Addabbo, T., Argentieri, M. P., Żuchowski, J., Biazzi, E., Tava, A., Oleszek, W., & Avato, P. (2020). Activity of saponins from Medicago species against phytoparasitic nematodes. *Plants*, 9(4), 443. <https://doi.org/10.3390/plants9040443>
- Djiwanti, S. R., Harni, R., & Aunillah, A. (2024, February). Nematicidal effectivity of neem oil, castor oil, and pyrethroids toward foliar nematode (*Aphelenchoides fragariae*) mortality. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1297, No. 1, p. 012058). IOP Publishing.
- Dallemole-Giaretta, R., Freitas, L.G., Lopes, E.A., Pereira, O.I., Zooca, R.J.F. & Ferraz, S. (2012). Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. *Crop Protection*, (42), 102-107. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.06.002>
- Danahap, L. S., Ocheme, E. L., & Okechalu, O. B. (2024). Nematicidal effects of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) seeds on *Meloidogyne* species (root-knot nematodes). *Bio-Research*, 22(1), 2234-2241.
- Eapen, S. J., Beena, B., & Ramana, K. V. (2005). Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 88(3), 218-225. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.01.011>

- Escudero, N., Lopez-Llorca, L.V., 2012. Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Symbiosis* 57, 33–42. <https://doi.org/10.1007/s13199-012-0173-3>.
- Estelle, C. K., Patrice, A. K., Ben, K., & Diallo, H. A. (2023). In vitro assessment of aqueous extracts of castor plant (*Ricinus communis*) against root-knot nematodes (genus *Meloidogyne*) infecting tomato. *International Journal of Phytopathology*, 12(2), 187-194. <https://doi.org/10.33687/phytopath.012.02.4646>
- Faske, T., and Sisson, A. (2024). Cotton disease loss estimates from the United States - 2023. *Crop Protection Network*. CPN-7001-23. <https://doi.org/10.31274/cpn-20240219-0>
- Faske, T. R., & Hurd, K. (2015). Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to fluopyram. *Journal of nematology*, 47(4), 316.
- Giné, A., & Sorribas, F. J. (2017). Effect of plant resistance and BioAct WG (*Purpureocillium lilacinum* strain 251) on *Meloidogyne incognita* in a tomato–cucumber rotation in a greenhouse. *Pest management science*, 73(5), 880-887. <https://doi.org/10.1002/ps.4357>
- Gonzalez-Cruz, D., & San Martin, R. (2013). Molluscicidal effects of saponin-rich plant extracts on the grey field slug. *Cien Inv Agr* 40: 3041-349. <https://doi.org/10.4067/S0718-16202013000200009>
- Gorny, A., Reeves, E., Scruggs, A., & Meadows, I. (2024). Prevalence, spatial distribution, and population density of plant-parasitic nematodes in vegetable fields of North Carolina, South Carolina, and Tennessee counties. *Plant Health Progress*, 25(1), 78-83. <https://doi.org/10.1094/PHP-05-23-0044-S>
- Grabau, Z. J., Liu, C., Schumacher, L. A., Small, I. M., & Wright, D. L. (2021). In-furrow fluopyram nematicide efficacy for *Rotylenchulus reniformis* management in cotton production. *Crop Protection*, 140, 105423. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105423>
- Hajihassani, A., Davis, R. F., and Timper, P. (2019). Evaluation of selected non fumigant nematicides on increasing inoculation densities of *Meloidogyne incognita* on cucumber. *Plant Dis.* 103:3161-3165. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0836-RE>
- Hussey, R. S., and Barker, K. R. (1973). A comparison of methods for collecting inocula for *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Dis. Rep.* 57: 1025-1028.
- Jenkins, W. R. (1964). A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis. Rep.* 48:692.
- Kang, J. S., Kim, E., Lee, S. H., & Park, I. K. (2013). Inhibition of acetylcholinesterases of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, by phytochemicals from plant essential oils. *Pesticide biochemistry and physiology*, 105(1), 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.11.007>
- Khan, R.A.A., Najeeb, S., Mao, Z., Ling, J., Yang, Y., Li, Y., Xie, B. (2020). Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic bacteria and Root-Knot nematode. *Microorganisms* 8, 401. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030401>.
- Kouakou, Y. Y. F. R., Kra, K. D., Assiri, K. P., & Atta, H. (2017). Nematicidal effectiveness of products stemming from dried leaves of castor-oil plant (*Ricinus communis*) on *Meloidogyne* and *Pratylenchus*, yam pathogenic nematodes in Côte d'Ivoire. *International Journal of*

Agronomy and Agricultural Research, 11(5), 57-68.

- Lahm, G. P., Desaegeer, J., Smith, B. K., Pahutski, T. F., Rivera, M. A., Meloro, T., & Wiles, J. A. (2017). The discovery of fluazaindolizine: A new product for the control of plant parasitic nematodes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27(7), 1572-1575. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.02.029>
- Lima-Rivera, D. L., Lopez-Lima, D., Desgarenes, D., Velazquez-Rodriguez, A. S., & Carrion, G. (2016). Phosphate solubilization by fungi with nematicidal potential. *Journal of soil science and plant nutrition*, 16(2), 507-524. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000042>
- Li, X. Q., Xu, K., Liu, X. M., & Zhang, P. (2020). A systematic review on secondary metabolites of *Paecilomyces* species: chemical diversity and biological activity. *Planta Medica*, 86(12), 805-821. <https://doi:10.1055/a-1196-1906>
- Liu, R., Khan, R.A.A., Yue, Q., Jiao, Y., Yang, Y., Li, Y., Xie, B., (2020). Discovery of a new antifungal lipopeptaibol from *Purpureocillium lilacinum* using MALDI-TOF-IMS. *Biochem. Bioph. Res. Comm.* 527, 689–695. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.05.021>
- Loffredo, A., Edwards, S., Ploeg, A., & Becker, J. O. (2024). Performance of biological and chemical nematicides in different soils to control *Meloidogyne incognita* in tomato plants. *Journal of Phytopathology*, 172(1), e13250. <https://doi.org/10.1111/jph.13250>
- Loreto, R. B., da Silva, S. A., & Machado, A. C. Z. (2024). Management of *Rotylenchulus reniformis* in soybean using genetic and biological approaches. *Tropical Plant Pathology*, 1-7.
- Lugtenberg, B. J., Caradus, J. R., & Johnson, L. J. (2016). Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS microbiology ecology*, 92(12), 194. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw194>
- Manneh, F., Kwoseh, C., Adjei-Gyapong, T., & Starr, J. (2016). Efficacy of sweet orange and cassava peel amendments for the management of root-knot nematodes on tomato. *American Journal of Experimental Agriculture*, 12(5), 1-15. <https://doi.org/10.9734/AJEA/2016/24638>
- McEwan, R. E., Kantety, R., Nyaku, S. T., Lawrence, K., van Santen, E., & Sharma, G. C. (2014). Relative response of four tomato species to *Rotylenchulus reniformis* infestation. *American Journal of Plant Sciences*, 2014. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.51009>
- Naz, I., Khan, R. A. A., Masood, T., Baig, A., Siddique, I., & Haq, S. (2021). Biological control of root knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in vitro, greenhouse and field in cucumber. *Biological Control*, 152, 104429. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104429>
- Ntalli NG, Ferrari F, Giannakou IO, Menkissoglu-Spiroudi U (2010) Phytochemistry and nematicidal activity of the essential oils from 8 Greek Lamiaceae aromatic plants and 13 terpene components. *J Agric Food Chem* 58:7856–7863
- Oka, Y., & Saroya, Y. (2019). Effect of fluensulfone and fluopyram on the mobility and infection of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. *Pest management science*, 75(8), 2095-2106. <https://doi.org/10.1002/ps.5399>
- Oka, Y. (2014). Nematicidal activity of fluensulfone against some migratory nematodes under laboratory conditions. *Pest management science*, 70(12), 1850-1858. <https://doi.org/10.1002/ps.3730>

- Okechalu, O.B., Gutol, N., Danahap, L.S. and Agaba, O.A. (2020). Nematicidal activities of methanolic leaf extracts of *Azadirachta indica* A. Juss and *Ricinus communis* L. on the root-knot nematode (*Meloidogyne*) of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Nigerian Journal of Botany, 33(1): 81 -96.
- Quintero-Vargas, C., & Castaño-Zapata, J. (2012). Evaluación de inductores de resistencia para el manejo de nematodos fitoparásitos en plántulas de plátano. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 36(141), 575-586.
- Ray, D. P., Prasad, D., & Singh, A. U. (2016). Effect of *Thevetia nerifolia* and *Ricinus communis* oils and esterified compounds against *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. Annals of Plant Protection Sciences, 24(2), 376-379.
- Ruisheng, N.A. Karthik, A. R. & Parwinder Grewal, P. G. (2017). Evaluation of botanical and chemical products for the control of foliar nematodes *Aphelenchoides fragariae*. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.021>
- Sacristán, A.C. & Howlett, B.J. (2006). Parallels in fungal pathogenesis in plant and animal hosts. Eukaryota. 5: 1941-1949.
- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B. K., Bhattacharjee, S., & Tribedi, P. (2016). Microbial siderophores and their potential applications: a review. Environmental Science and Pollution Research, 23, 3984-3999.
- Shi, Q., Cai, X., Zhang, Z., Song, W., Liang, C., Duan, F., & Zhao, H. (2023). The identification, characterization, and management of *Rotylenchulus reniformis* on *Cucumis melo* in China. Phytopathology Research, 5(1), 58.
- Sikora, R. A., Desaegeer, J., & Molendijk, L. (Eds.). (2021). Integrated nematode management: state-of-the-art and visions for the future. CABI; pages. 87-93. <https://doi.org/10.1079/9781789247541.000>
- Silva, J. de O., Loffredo, A., da Rocha, M. R., and Becker, J. O. (2019). Efficacy of new nematicides for managing *Meloidogyne incognita* in tomato crop. J. Phytopathol. 167:295-298. <https://doi.org/10.1111/jph.12798>
- Singh, S., Pandey, R. K., & Goswami, B. K. (2013). Bio-control activity of *Purpureocillium lilacinum* strains in managing root-knot disease of tomato caused by *Meloidogyne incognita*. Biocontrol Science and Technology, 23(12), 1469-1489. <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.840770>
- Sosa, A. L., Girardi, N. S., Rosso, L. C., Salusso, F., Etcheverry, M. G., & Passone, M. A. (2020). In vitro compatibility of *Pimpinella anisum* and *Origanum vulgare* essential oils with nematophagous fungi and their effects against *Nacobbus aberrans*. Journal of Pest Science, 93, 1381-1395.
- Soto-Ramos, C., Wheeler, T. A., Shockey, J., & Monclova-Santana, C. (2023). Rotation of cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars and fallow on yield and *Rotylenchulus reniformis*. Journal of Nematology, 55(1). <https://doi.org/10.2478/jofnem-2023-0024>
- Thakur, M., Melzig, M. F., Fuchs, H., & Weng, A. (2011). Chemistry and pharmacology of saponins: special focus on cytotoxic properties. Botanic: Targets and Therapy, 19-29.
- Turner, A. K., Graham, S. H., Potnis, N., Brown, S. M., Donald, P., & Lawrence, K. S. (2023).

- Evaluation of and nematode-resistant cotton cultivars with supplemental Corteva Agriscience nematicides. *Journal of Nematology*, 55(1).
- Vyas, H., Sharma, M. K., & Bhargava, S. (2011). Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* against reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* on brinjal. *Indian Journal of Nematology*, 41(2), 212-214.
- Wang, J., Wang, J., Liu, F., & Pan, C. (2010). Enhancing the virulence of *Paecilomyces lilacinus* against *Meloidogyne incognita* eggs by overexpression of a serine protease. *Biotechnology letters*, 32, 1159-1166.
- Wang, K., Riggs, R. D., & Crippen, D. (2005). Isolation, selection, and efficacy of *Pochonia chlamydosporia* for control of *Rotylenchulus reniformis* on cotton. *Phytopathology*, 95(8), 890-893. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0890>
- Watson, T. T. (2022). Sensitivity of *Meloidogyne enterolobii* and *M. incognita* to fluorinated nematicides. *Pest management science*, 78(4), 1398-1406. <https://doi.org/10.1002/ps.6756>
- Weaver, D. B., Lawrence, K. S. and van Santen, E. (2007). Reniform nematode resistance in upland cotton germplasm. *Crop Science*. 47(1), 19-24. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2006.02.0130>
- Wram, C. L., and Zasada, I. A. (2019). Short-term effects of sublethal doses of nematicides on *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology* 109:1605-1613. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-18-0420-R>
- Wram, C. L., & Zasada, I. (2020). Differential response of *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Globodera*, and *Xiphinema* species to the nematicide fluazaindolizine. *Phytopathology*, 110(12), 2003-2009. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-20-0189-R>
- Wu, H. Y., de Oliveira Silva, J., Becker, J. S., & Becker, J. O. (2021). Fluazaindolizine mitigates plant-parasitic nematode activity at sublethal dosages. *Journal of Pest Science*, 94(2), 573-583.
- Yang, J., Zhao, X., Liang, L., Xia, Z., Lei, L., Niu, X., ... & Zhang, K. Q. (2011). Overexpression of a cuticle-degrading protease Ver112 increases the nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus*. *Applied microbiology and biotechnology*, 89, 1895-1903.
- Yang, F., Abdelnabby, H., & Xiao, Y. (2015). The role of a phospholipase (PLD) in virulence of *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinum*). *Microbial Pathogenesis*, 85, 11-20. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.05.008>
- Ye, W. (2018). Nematodes of agricultural importance in North and South Carolina. *Plant parasitic nematodes in sustainable agriculture of north America: Vol. 2-Northeastern, Midwestern and Southern USA*, 247-276.

Cuadro 1. Nematicidas, dosis y momento de aplicación de los productos químicos, biológicos y botánicos evaluados para el control de *R. reniformis* en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero.

Ingrediente activo	Producto comercial	Dosis	Momento de aplicación	Número de aplicaciones
Fluensulfone	Nimitz	2.0 L/ha	10 días antes del trasplante	1
Fluopyram	Verango	1.0 L/ha	14 días después del trasplante	1
Fluazaindolizine	Salibro	1.5 L/ha	1 día antes del trasplante	1
Avermectina	Oregon	1.25 L/ha	14 días después del trasplante	1
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Nema-fin	250 g/ha	Momento de inoculación 7 ddi 14 ddi	3
<i>Bacillus firmus/Purpureocillium lilacinum</i>	Arrecife	5 L/ha	Momento de inoculación 7 ddi 14 ddi	3
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Biofacel	0.5 Kg/ha	Momento de inoculación 7 ddi 14 ddi	3
<i>Bacillus methylotrophicus</i>	Lalnix ónix	1.5 L/ha	Momento de inoculación 7 ddi 14 ddi	3
Extracto de cáscara de nuez, lechuguilla, nopal, higuera, yuca. <i>Purpureocillium lilacinum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Nematrix	5 L/ha	Momento de inoculación 7 ddi 14 ddi	3
Extracto de canela, neem, epazote y yuca	Extracfin	4 L/ha	Momento de inoculación 7 ddi 14 ddi	3
Extracto de quillaja	Fly-Not	1.5 L/ha	Momento de inoculación 7 ddi 14 ddi	3
Extracto de pino, orégano e higuera	Nem-Over	2 L/ha	Momento de inoculación 7 ddi 14 ddi	3

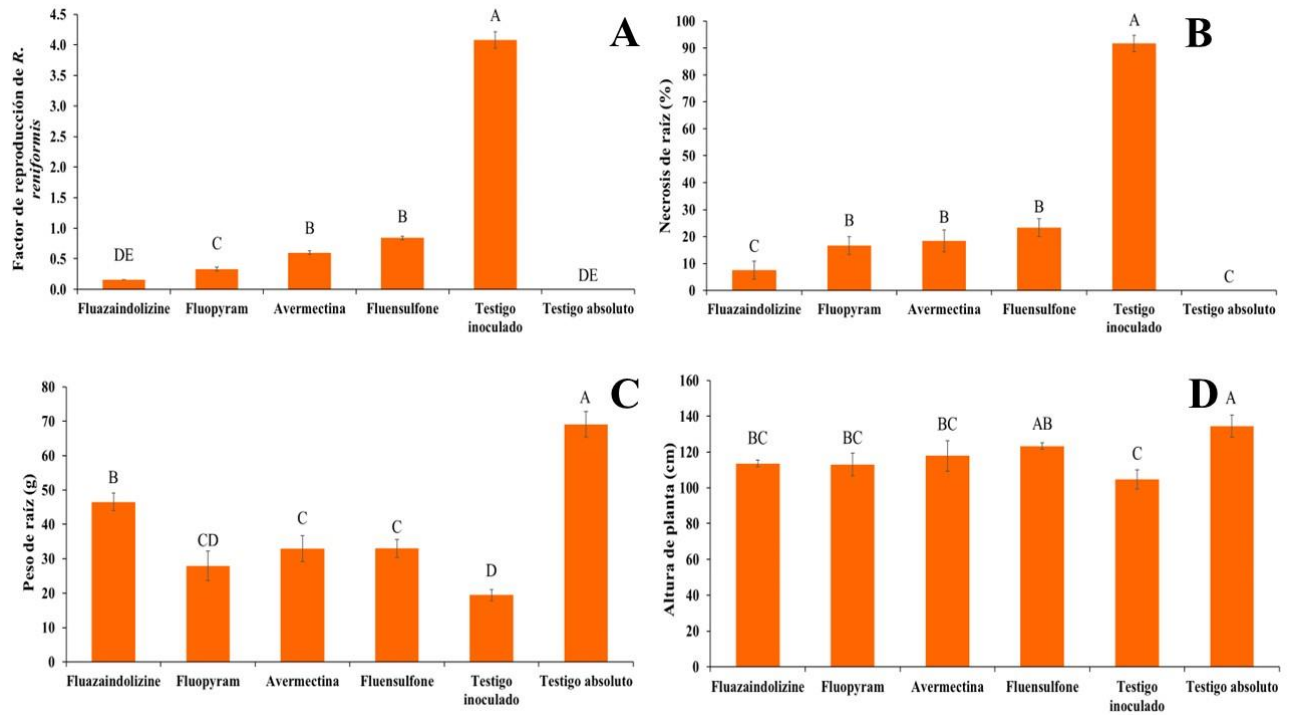


Figura 1. Evaluación de plantas de tomate inoculadas con *R. reniformis* y tratadas con productos químicos. A) Factor de reproducción de *R. reniformis*. B) Porcentaje de necrosis en raíces. C) Altura de las plantas. D) Peso de raíz.

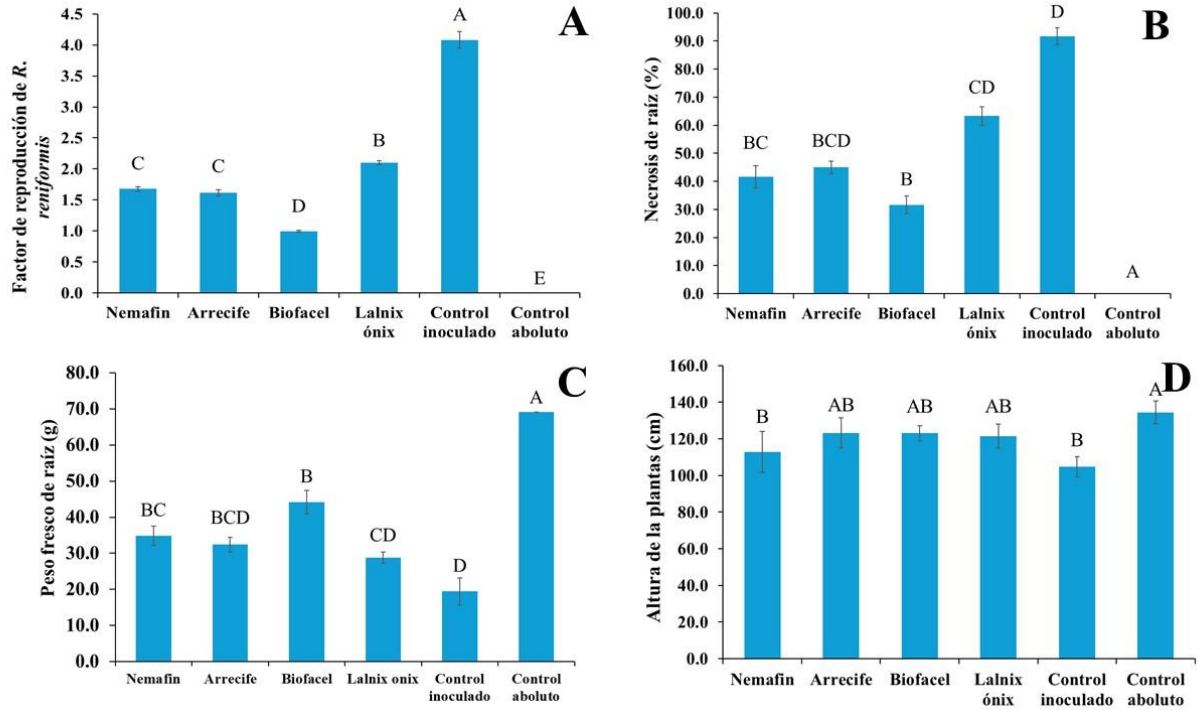


Figura 2. Evaluación de plantas de tomate inoculadas con *R. reniformis* y tratadas con nematocidas biológicos. A) Factor de reproducción de *R. reniformis*. B) Porcentaje de necrosis en raíces. C) Peso fresco de raíz. D) Altura de las plantas.

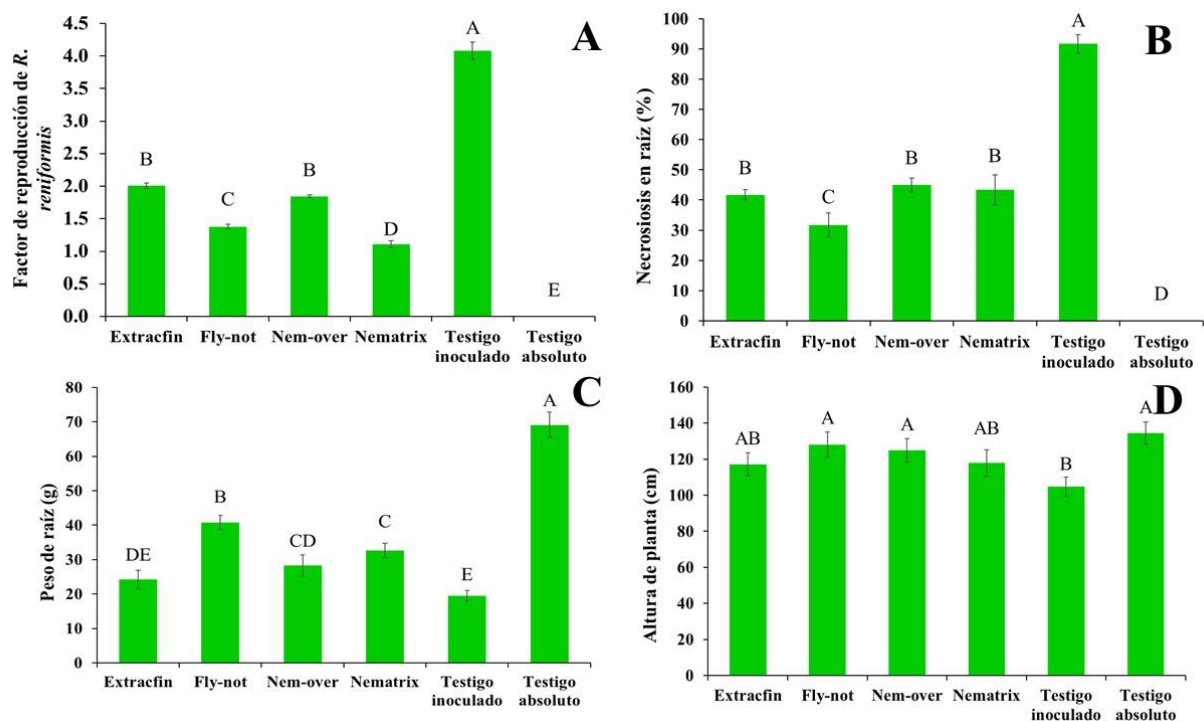


Figura 3. Evaluación de plantas de tomate inoculadas con *R. reniformis* y tratadas con productos a base de extractos botánicos. A) Factor de reproducción de *R. reniformis*. B) Porcentaje de necrosis en raíces. C) Peso fresco de raíz. D) Altura de las plantas.

Cuadro 2. Resultados de altura de planta, peso de frutos, factor de reproducción y porcentaje de necrosis en tres cultivares comerciales de tomate con distintas concentraciones de inóculo de *R. reniformis*.

Cultivar	Concentración de inóculo	Altura de la planta (cm)	Peso de frutos (kg)	FR	Necrosis (%)
Imperial	0	109.5 ± 1.9 a	2.10 ± 0.05 a	0 c	0 b
	2000	92.6 ± 3.0 b	1.79 ± 0.02 b	2.28 ± 0.09 a	73.3 ± 4.2 a
	5000	81.1 ± 2.1 c	1.53 ± 0.02 c	1.52 ± 0.02 b	81.6 ± 4.0 a
Swetelle	0	227.0 ± 4.6 a	0.47 ± 0.01 a	0 c	0 c
	2000	178.1 ± 5.1 b	0.45 ± 0.02 a	1.19 ± 0.10 a	81.6 ± 1.6 b
	5000	158.3 ± 3.5 c	0.20 ± 0.03 b	0.73 ± 0.08 b	90.0 ± 0 a
Byelsa	0	126.5 ± 2.0 a	1.67 ± 0.09 a	0 c	0 b
	2000	110.6 ± 1.7 b	0.94 ± 0.01 b	2.39 ± 0.10 a	75.0 ± 5.0 a
	5000	98.0 ± 2.0 c	0.78 ± 0.03 b	1.65 ± 0.06 b	81.6 ± 4.0 a

Cuadro 3. Comparación de medias de factor de reproducción y porcentaje de necrosis de tres cultivares comerciales de tomate a dos diferentes densidades poblacionales.

Densidad poblacional	Cultivares comerciales	FR	Necrosis (%)
2000	Imperial	2.28 ± 0.091 a	73.3 ± 4.2 a
	Sweetelle	1.19 ± 0.102 b	81.6 ± 1.6 a
	Byelsa	2.39 ± 0.105 a	75.0 ± 5 a
5000	Imperial	1.52 ± 0.027 a	81.6 ± 4.0 a
	Sweetelle	0.73 ± 0.083 b	90.0 ± 0 a
	Byelsa	1.65 ± 0.067 a	81.6 ± 4.0 a

6. CONCLUSIONES GENERALES

En este estudio se identificó a *Rotylenchulus reniformis* mediante una combinación de análisis morfológicos y filogenéticos. Las poblaciones de este nematodo están ampliamente distribuidas en los campos de tomate de Sinaloa, México y, aunque presentan una variación morfológica y molecular limitada, difieren en cuanto a su factor de reproducción. En los resultados de interacción de *R. reniformis* con *M. enterolobii* se demostró que, en inoculaciones individuales, *Meloidogyne enterolobii* y *Rotylenchulus reniformis* exhibieron el mayor factor de reproducción (FR) y severidad de la enfermedad en plantas de tomate y pepino. En tratamientos donde una especie fue inoculada antes que la otra, la especie inoculada primero mostró un mayor FR y causó mayor severidad de la enfermedad. En co-inoculaciones simultáneas, ambos nematodos redujeron su FR y causaron menor severidad de los síntomas en plantas de tomate y pepino. Sin embargo, en plantas de tomate, la reproducción de *R. reniformis* fue más afectada en comparación con la de *M. enterolobii*. Además, este estudio reveló que diversos nematicidas biológicos, químicos y botánicos fueron efectivos para reducir el FR y la severidad de los síntomas ocasionados por *R. reniformis* en plantas de tomate. En el caso de los productos químicos, la menor reproducción del nematodo y severidad de los síntomas se registró en el tratamiento de fluazaindolizine, mientras que en el caso de los productos biológicos el mejor tratamiento fue *Purpuricillium lilacinum*. Entretanto, en los extractos botánicos los mejores tratamientos fueron extracto de quillaja y la mezcla de extractos botánicos con microorganismos de biocontrol. Además, este estudio mostró que existen diferencias en la susceptibilidad de los diferentes cultivares de tomate en relación con el factor de reproducción de *R. reniformis*. Se recomiendan estudios posteriores con mayor detalle sobre los productos que resultaron con mayor efectividad para el control de *R. reniformis* en otros cultivos que se siembran en la zona norte de México para poder establecer un manejo integrado del nematodo reniforme.