

# Nematodes associated with the lychee crop (*Litchi chinensis*) in Oaxaca, Mexico

## Nematodos asociados con el cultivo de litchi (*Litchi chinensis*) en Oaxaca, México

**Misael Martínez-Bolaños\***, <sup>1</sup>Campo Experimental Rosario Izapa, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Carretera Tapachula-Cacahoatán km 18, Tuxtla Chico, Chiapas, México; **Luciano Martínez-Bolaños**, Unidad Regional Universitaria Sur Sureste, Universidad Autónoma Chapingo. Km 7 Carretera Teapa-Vicente Guerrero C.P. 86800 Teapa, Tabasco, México; **Rebeca Martínez-Reyes**, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5, Carretera México-Texcoco, Texcoco, Estado de México, México; <sup>1</sup>**Carlos Hugo Avendaño-Arrazate; Marco Antonio Cruz-Chávez**, Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca Ex-Hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, C.P. 71230; **Luis Antonio Gálvez-Marroquín**, Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Melchor Ocampo No.7, Santo Domingo Barrio Bajo, Villa de Etla, Oaxaca C.P. 68200. \*Autor para correspondencia: martinez.misael@inifap.gob.mx.

Recibido: 29 de Mayo, 2020.

Aceptado: 20 de Agosto, 2020.

Martínez-Bolaños M, Martínez-Bolaños L, Martínez-Reyes R, Avendaño-Arrazate CH, Cruz-Chávez MA and Gálvez-Marroquín LA. 2020. Nematodes associated with the lychee crop (*Litchi chinensis*) in Oaxaca, Mexico. Mexican Journal of Phytopathology 38(3): 463-474.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.2005-8

Primera publicación DOI: 27 de Agosto, 2020.

First DOI publication: August 27, 2020.

**Resumen.** El objetivo de esta investigación fue determinar los principales géneros de nematodos asociados a plantas adultas de litchi y su asociación con el síntoma de clorosis en Oaxaca. Para ello, de marzo a agosto de 2013, en cuatro parcelas comerciales de litchi se colectaron muestras de suelo en

**Abstract.** The objective of this research was to determine the main genera of nematodes associated with lychee adult plants and their association with the symptom of chlorosis. To do this, from March to August 2013, soil samples were collected from four commercial lychee plots in the tree drip zone. Five asymptomatic and five plants with chlorosis of the Brewster and Mauritius varieties were selected in three phenological stages: flowering, harvesting and vegetative development. *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Longidorus*, *Mesocriconema*, *Pratylenchus*, *Psilenchus*, *Rotylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Tylenchus* and *Xiphinema* were the main genera identified. The highest number of total nematodes in Mauritius variety was obtained in the harvest stage (300.6, p=0.05), while in Brewster was in

la zona de goteo de los árboles; se seleccionaron cinco plantas asintomáticas y cinco con clorosis de las variedades Brewster y Mauritius, en tres etapas fenológicas: floración, cosecha y desarrollo vegetativo. *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Longidorus*, *Mesocriconema*, *Pratylenchus*, *Psilenchus*, *Rotylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Tylenchus* y *Xiphinema* fueron los principales géneros identificados. El mayor número de nematodos totales se obtuvo en etapa de cosecha en la variedad Mauritius (300.6,  $p=0.05$ ), mientras que en Brewster fue en floración (576,  $p=0.05$ ). No se observó una relación directa de la población total de nematodos y el síntoma de clorosis para las diferentes etapas fenológicas evaluadas.

**Palabras clave:** clorosis, Brewster, Mauritius, fenología.

El litchi es nativo del sur de China y sudeste de Asia (Coates *et al.*, 1994), que se comercializa como fruto fresco, deshidratado o enlatado. China, India, Sudeste de Asia y Sudáfrica son las principales regiones productoras a nivel mundial (Menzel y Simpson, 1994). Aproximadamente 700,000 toneladas de litchi fresco se consumen anualmente en Asia e India, y una proporción también es procesada en forma de fruto enlatado o en jugo. La creciente demanda internacional del fruto ha incentivado a varios países para su cultivo, entre ellos México, el cual destina al menos de 4 250 ha, con una cosecha anual de 28 000 t y un crecimiento promedio de 7.7% durante 2012-2018 (SIAP, 2018). El estado de Veracruz ocupa el primer lugar con 9 223.47 t de producción equivalente al 50% del total nacional, seguido de Puebla, San Luis Potosí y Oaxaca con 3 524.25 t, 1 957.65 t y 1 983.48 t, respectivamente (Torres-Becerril *et al.*, 2019).

flowering (576,  $p=0.05$ ). A direct relationship between the total population of nematodes and the symptom of chlorosis was not observed for the different phenological stages evaluated.

**Key words:** chlorosis, Brewster, Mauritius, phenology.

The lychee is native to Southern China and Southeast Asia (Coates *et al.*, 1994), and is commercialized as a fresh, dried or canned fruit. China, India, Southeast Asia and South Africa are the main regions of production on a global scale (Menzel and Simpson, 1994). Approximately 700,000 tons of fresh lychee are consumed annually in Asia and India, along with an important amount also being processed in the form of canned fruit or juice. The growing demand for the fruit has incentivized several countries to grow it, including Mexico, which grows this crop in at least 4,250 ha, with an annual harvest of 28,000 t and an average growth of 7.7% between 2012 and 2018 (SIAP, 2018). Veracruz is the state with the highest production, with 9,223.47 t, accounting for 50% of the country's total, followed by Puebla, San Luis Potosí and Oaxaca, with 3,524.25 t, 1,957.65 t and 1,983.48 t, respectively (Torres-Becerril *et al.*, 2019).

The lychee crop faces numerous problems in Mexico during production, mostly regarding postharvest handling and commercialization (Torres-Becerril *et al.*, 2019). However, on the field, there are a series of phytosanitary problems caused by anthracnose (Campbell and Campbell 2001; Martínez-Bolaños *et al.*, 2015) and some insect-related pests (Xu *et al.*, 2005). On the other hand, another important pest are nematodes, and their importance in tropical fruits is related to the induction of symptoms such as chlorosis, foliar

El cultivo del litchi en México enfrenta muchos problemas durante la producción, principalmente problemas de manejo poscosecha y comercialización (Torres-Becerril *et al.*, 2019); sin embargo, en campo se presentan una serie de problemas fitosanitarios causados por antracnosis (Campbell y Campbell 2001; Martínez-Bolaños *et al.*, 2015) y algunas plagas insectiles (Xu *et al.*, 2005). Por otra parte, otra plaga importante son los nemátodos, cuya importancia en frutales tropicales está asociada a la inducción de síntomas tales como clorosis, deformación foliar, acortamiento de entrenudos, reducción de crecimiento y disminución en la producción (Ravichandra, 2019). Varios autores reportan en litchi a los nemátodos: *Helicotylenchus dihystera*, *Helicotylenchus indicus*, *Hemicriconemoides litchi*, *Hoplolaimus indicus*, *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis*, *Tylenchorhynchus leviterinalis*, *Xiphinema brevicolle*, *Xiphinema sp.*, (Nath *et al.*, 2008), *Hemicriconemoides mangiferae*, *Trichodorus pakistanensis*, *Xiphinema inequale* (Nisha *et al.*, 2000) y *Helicotylenchus dihystera* (Nisha *et al.*, 2000; Nath *et al.*, 2008). De estas especies, solo *H. mangiferae* y *X. brevicolle* se consideran patógenos al causar síntomas de defoliación, clorosis, necrosis apical de hojas, reducción de floración y caída de frutos (Nisha *et al.*, 2000; Nath *et al.*, 2008).

En Oaxaca México, el cultivo de litchi ocupa una superficie de 1 500 ha, con rendimiento promedio de 4.6 t ha<sup>-1</sup>; las variedades Brewster y Mauritius se cultivan de manera comercial (Maldonado-Peralta *et al.*, 2012). Durante los ciclos de producción 2010-2012 en árboles de ambas variedades se observaron síntomas de clorosis y bajo rendimiento posiblemente asociadas al daño ocasionado por nemátodos, por lo que es importante desarrollar estudios que permitan identificar tanto el nematodo, como los síntomas que provocan en el cultivo de litchi. El objetivo de la presente investigación fue

deformations, shortening of internodes, reduction of growth and of the production (Ravichandra, 2019). Several authors report such nematodes in lychee as *Helicotylenchus dihystera*, *Helicotylenchus indicus*, *Hemicriconemoides litchi*, *Hoplolaimus indicus*, *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis*, *Tylenchorhynchus leviterinalis*, *Xiphinema brevicolle*, *Xiphinema sp.*, (Nath *et al.*, 2008), *Hemicriconemoides mangiferae*, *Trichodorus pakistanensis*, *Xiphinema inequale* (Nisha *et al.*, 2000) and *Helicotylenchus dihystera* (Nisha *et al.*, 2000; Nath *et al.*, 2008). Out of these species, only *H. mangiferae* and *X. brevicolle* are considered pathogens, since they cause symptoms of defoliation, chlorosis, apical necrosis of leaves, reduction of flowering and the falling of fruits (Nisha *et al.*, 2000; Nath *et al.*, 2008).

In Oaxaca, Mexico, lychee orchards cover a surface of 1,500 ha, with an average yield of 4.6 t ha<sup>-1</sup>; the Brewster and Mauritius varieties are grown commercially (Maldonado-Peralta *et al.*, 2012). During the 2010-2012 production cycles in trees of both varieties, symptoms of chlorosis and low yields were observed, possibly due to the damage caused by nematodes. Due to this, it is important to carry out studies that help identify the nematode, as well as the symptoms it causes in the lychee crop. The aim of the present investigation was to identify the main genera of nematodes related to the lychee crop and determine its relation with the foliar chlorosis symptoms.

Four commercial lychee plots were sampled (two with the Brewster variety and two with Mauritius), after having selected one plot per location or municipal area: San José Chiltepec (Brewster), Santa María Jacatepec (Brewster), San Juan Cotzocón (Mauritius) and Santiago Yaveo (Mauritius), in the state of Oaxaca, Mexico. In each plot, a surface of one hectare was considered, and from it, five trees (8 to 10 years in age) with

identificar los principales géneros de nematodos asociados al cultivo de litchi y determinar su relación con los síntomas de clorosis foliar.

Se muestrearon cuatro parcelas comerciales de litchi (dos con la variedad Brewster y dos de Mauritius), para ello se seleccionó una parcela por localidad o municipio: San José Chiltepec (Brewster), Santa María Jacatepec (Brewster), San Juan Cotzocón (Mauritius) y Santiago Yaveo (Mauritius), en el Estado de Oaxaca México. En cada parcela se consideró una superficie de una hectárea y de ella se seleccionaron (de manera dirigida) y etiquetaron cinco árboles (8-10 años) con síntomas de clorosis y cinco plantas asintomáticas.

En la zona de goteo de cada árbol etiquetado (15-30 cm de profundidad; se eliminaron los primeros 15 cm) se tomaron cinco submuestras de suelo, de 200 g (suelo y raíces) cada una, posteriormente estas submuestras se colocaron sobre un plástico y se mezclaron. Las raíces y suelo se separaron con cernidores, y de la muestra cernida se tomaron 200 g de suelo (muestra compuesta representativa para cada árbol). En cada muestreo se tuvieron diez muestras compuestas por parcela muestreada, cinco de árboles sintomáticos y cinco de asintomáticos (Barker, 1978). Cada muestra se etiquetó y guardó en una hielera para su posterior análisis en laboratorio. Los muestreos se realizaron en los meses de marzo, mayo y agosto de 2013, que correspondieron a las etapas fenológicas de floración, cosecha y desarrollo vegetativo de litchi.

Cada muestra de suelo se procesó mediante la técnica de tamizado-centrifugado (Ayoub, 1977; Hooper, 1986), para ello en una probeta de 1 L se adicionaron 200 cm<sup>3</sup> de suelo y se aforó con agua destilada a un volumen final de 1000 mL. La solución de suelo se vertió en un contenedor plástico, se mezcló, se dejó reposar durante 15 segundos y posteriormente se pasó por tamices de 60, 100, 200, 325 y 400 mallas. El material colectado en los tamices de 100, 200, 325 y 400 mallas de cada

síntomas de clorosis y five asintomáticos plantas fueron elegidos (de manera dirigida) y etiquetados.

In the dripping zone of each labelled tree (15-30 cm depth; the first 15 cm were eliminated) five 200g soil subsamples were taken (soil and roots). These subsamples were then placed on plastic and mixed. The roots and soil were separated with a sieve and 200 g of soil were taken from the sieved sample (representative composite sample for each tree). In each sample collection, ten composite samples were taken for each plot, five from symptomatic trees and five from asymptomatic trees (Barker, 1978). Each sample was labelled and kept in an ice cooler for its analysis in the laboratory. Samples were taken in the months of March, May and August of 2013, corresponding to the phenological stages of flowering, harvesting and vegetative development of lychee.

Every soil sample was processed with the sieving-centrifuging technique (Ayoub, 1977; Hooper, 1986). For this, 200 cm<sup>3</sup> were placed in a 1 L graduated cylinder, and diluted with distilled water for a final volume of 1000 mL. The soil solution was poured in a plastic container, mixed, left to rest for 15 seconds and then sieved using 60, 100, 200, 325 and 400-mesh sieves. The material collected in the 100, 200, 325 and 400-mesh sieves for each sample was placed in 50 mL centrifuge tubes. Each sample was added 1 g of kaolin and then centrifuged at 2,500 rpm for 5 min. The sedimentary fraction was suspended in a 46% saccharose solution (460 g sugar x L of water<sup>-1</sup>) and then centrifuged at 2,500 rpm for one minute. The collected supernatant was sieved using a 400-mesh sieve and water was added to avoid the plasmolysis of the nematodes. From each soil sample, 20 mL of suspension were collected and kept in glass jars to later analyze.

Glass jars with 10 mL of the extracted nematode suspension were placed in a double bath

muestra se colocó en tubos de centrífuga de 50 mL; a cada muestra se le adicionó 1 g de caolín y posteriormente se centrifugaron a 2,500 rpm durante 5 min. La fracción sedimentaria se suspendió en una solución de sacarosa al 46% (460 g de azúcar x L de agua<sup>-1</sup>) y posteriormente se centrifugó a 2,500 rpm durante un minuto. El sobrenadante colectado se pasó por un tamiz de 400 mallas y se agregó agua para evitar plasmólisis de los nematodos. De cada muestra de suelo se colectaron 20 mL de suspensión y se conservaron en frascos de vidrio para su posterior análisis.

Frascos de vidrio con 10 mL de la suspensión de los nematodos extraídos se colocaron en baño María a 80 °C; posteriormente a cada frasco se le adicionó solución TAF (Formaldehido 40%, Trietanolamina y agua destilada) (Shurtleff y Averre III, 2000) y se dejó reposar por 24 h para posterior conteo poblacional de nematodos en microscopio estereoscópico.

La deshidratación de los nematodos se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Seinhorst (1959). En cada frasco se sustituyó el 50% de volumen de TAF por un volumen proporcional de la solución A (Etanol 96%: 20 partes/ glicerina: 1 parte/ agua destilada: 79 partes). Posteriormente la suspensión de nematodos se transfirió a una placa de Petri y se incubó por 24 h dentro de una cámara con etanol 96% a 40 °C. Al líquido sobrante de la suspensión con nematodos se le adicionó solución B (Etanol 96%: 93 partes/ glicerina: 7 partes) hasta llenar la placa de Petri y se incubó por 24 h a 26 °C. Posterior a la evaporación de dos terceras partes del volumen del alcohol, el volumen restante se reemplazó con la solución C (Etanol 96%: 80 partes/ glicerina: 20 partes) y se incubó a temperatura ambiente (26 °C) durante 24 h. Una vez evaporado el alcohol, la placa de Petri se colocó en una estufa a 40 °C durante 48 horas y después se transfirió a una cámara de deshidratación con cloruro de calcio para eliminar los remanentes de agua.

at 80 °C; each jar was then added a FTW solution (Formaldehyde 40%, Triethanolamine and distilled water) (Shurtleff and Averre III, 2000) and left to rest for 24 h to then count the nematode population using a stereoscopic microscope.

The nematodes were dehydrated according to the procedure described by Seinhorst (1959). In each jar, 50% of the volume of FTW was replaced with the same volume of solution A (20 parts of 96% ethanol/1 part glycerin/79 parts distilled water). Afterwards, the nematode suspension was transferred to a Petri dish and incubated for 24 h in a chamber with 96% ethanol at 40 °C. Solution B (93 parts of 96% ethanol/ 7 parts glycerin) was added to the liquid remaining from the nematode suspension until the Petri dish was filled, and incubated for 24 h at 26 °C. After two thirds of the volume of alcohol evaporated, the remaining volume was replaced with the C solution (80 parts of 96% Ethanol / 20 parts glycerin) and incubated at room temperature (26 °C) for 24 h. After the alcohol evaporated, the Petri dish was placed in an oven at 40 °C for 48 hours and then transferred to a dehydration chamber with calcium chloride to eliminate the remaining water.

Permanent (paraffin) and temporary (water-agar 3%) preparations were made from the nematode samples (fixed and dehydrated) collected. In order to characterize and identify the nematodes, observations were carried out on an Olympus CX3 compound microscopes with magnifications of 10X, 40X and 100X; taxonomically important characteristics were photographed using an Olympus E330 camera. The images of the specimens were measured and analyzed using the program Axion Vision LE® for their identification with the use of taxonomic keys to determine the genus (Mai *et al.*, 1996; Shurtleff y Averre III, 2000) and species (Siddiqi, 1963; Boag and Jairajpuri, 1985; Siddiqui, 2000; Euon *et al.*, 2002; Castillo and Volvias, 2007).

Preparaciones permanentes (parafina) y temporales (agua–agar 3%) se realizaron a partir de las muestras de nematodos (fijados y deshidratados) colectados. Para la caracterización e identificación de los nematodos se hicieron observaciones en un microscopio compuesto Olympus CX3 con los objetivos de 10X, 40X y 100X; se fotografiaron caracteres de importancia taxonómica con una cámara Olympus E330. Las imágenes de los ejemplares se midieron y analizaron con el programa Axion Vision LE®, para su posterior identificación mediante el uso de claves taxonómicas para determinar el género (Mai *et al.*, 1996; Shurtleff y Averre III, 2000) y especie (Siddiqi, 1963; Boag y Jairajpuri, 1985; Siddiqui, 2000; Euon *et al.*, 2002; Castillo y Volvias, 2007).

De cada muestra se tomaron submuestras (3 mL) de los nematodos extraídos, se colocaron en cajas contadoras y se observaron en microscopio compuesto considerando cinco repeticiones por muestra. El conteo poblacional de ejemplares por género se realizó de acuerdo con la morfología de especímenes, mes de muestreo (etapa fenológica), variedad y sintomatología. Se evaluaron tres factores y su relación sobre poblaciones de nematodos. Los factores fueron, tres etapas fenológicas (desarrollo vegetativo, floración y cosecha), dos variedades (Brewster y Mauritius) y dos síntomas (plantas asintomáticas y cloróticas). Los datos fueron procesados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y una prueba de comparación de medias de Duncan con 0.05% de confianza.

De acuerdo a los resultados obtenidos, 13 géneros de nematodos se identificaron de muestras de suelo de litchi provenientes de parcelas comerciales de las variedades Brewster y Mauritius en Oaxaca, México. Las características morfológicas y morfométricas correspondieron a los géneros: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Longidorus*, *Mesocriconema*,

Subsamples (3 mL) of the extracted nematodes were taken from each sample. They were placed in counting boxes and observed under a compound microscope, considering five repetitions per sample. The population count of the specimens per genus was carried out according to the specimen morphology, month in which samples were taken (phenological stage), variety and symptomatology. Three factors were evaluated, along with their relationship with nematode populations. The factors were three phenological stages (vegetative development, flowering and harvesting), two varieties (Brewster and Mauritius) and two symptoms (asymptomatic and chlorotic plants). The data were processed using an analysis of variance (ANOVA) and a Duncan average comparison test with a reliability of 0.05%.

According to the results obtained, 13 nematode genera were identified from lychee soil samples from commercial plots with Brewster and Mauritius varieties in Oaxaca, Mexico. The morphological and morphometric characteristics corresponded to the *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Longidorus*, *Mesocriconema*, *Pratylenchus*, *Psilenchus*, *Rotylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Tylenchus* and *Xiphinema* genera (Figures 1 and 2). Some species within these genera have been reported to be related to the lychee crop (Nisha *et al.*, 2000). It is worth mentioning that some of these genera are, not only considered phytoparasitic, but they are nematodes with mycophagous feeding habits (*Aphelenchus*, *Tylenchus*, *Ditylenchus* and *Psilenchus*), and therefore their presence indicate that they are related, although this does not imply that they affect the crop.

The total nematode population during the flowering stage was higher in the Brewster variety. However, no significant differences ( $p=0.05$ ) were observed between the evaluated varieties (Table

*Pratylenchus*, *Psilenchus*, *Rotylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Tylenchus* y *Xiphinema* (Figura 1 y 2). Algunas especies dentro de estos géneros se han reportado como asociadas al cultivo de litchi (Nisha *et al.*, 2000). Es importante mencionar que algunos de estos géneros además de ser considerados fitoparásitos, son nematodos que tienen hábitos alimenticios micófagos (*Aphelenchus*, *Tylenchus*, *Ditylenchus* y *Psilenchus*) por lo que su presencia en las muestras indica que están asociados sin que ello implique que afecten al cultivo.

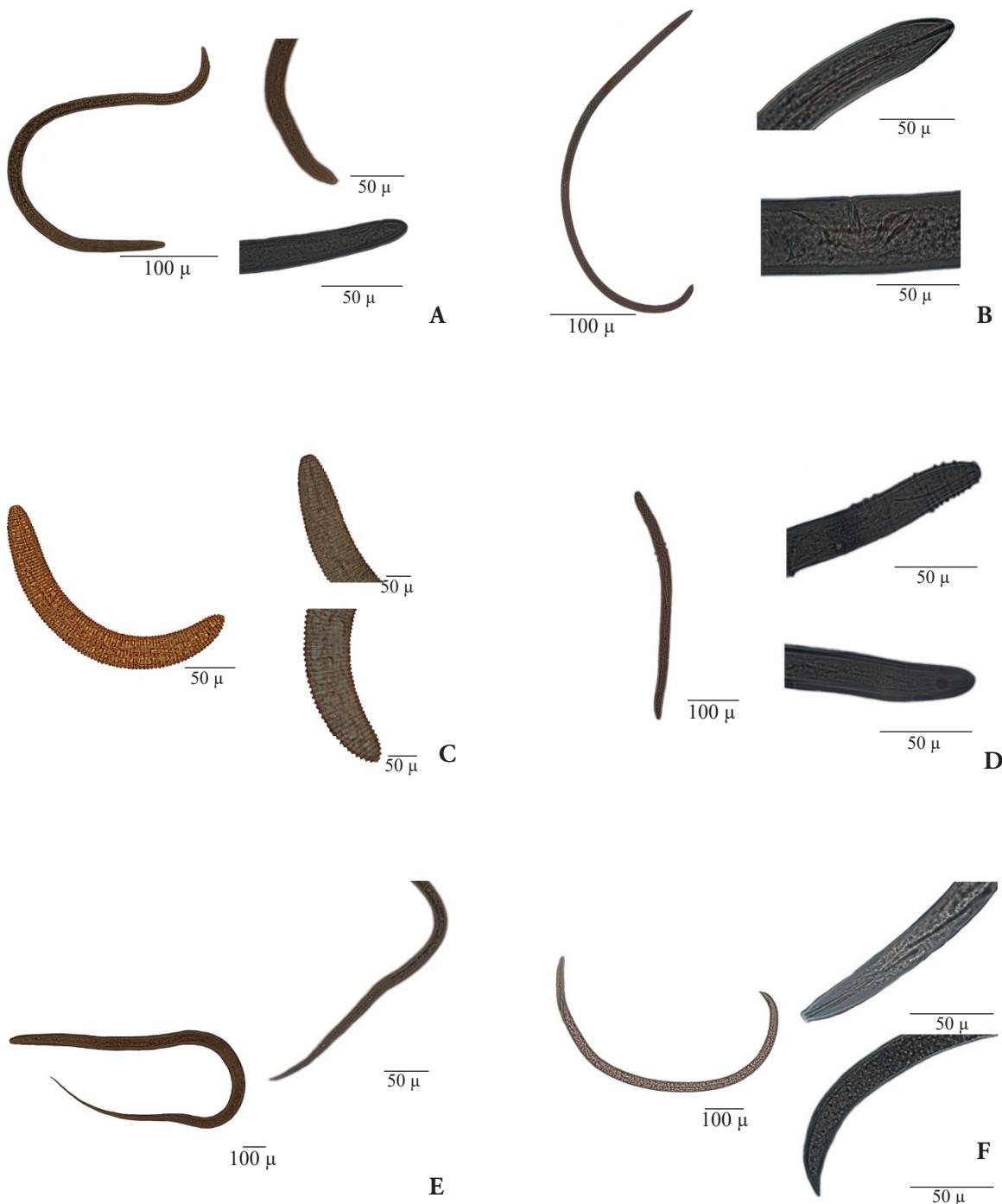
La población total de nematodos durante la atapa de floración fue mayor en la variedad Brewster; sin embargo durante el desarrollo vegetativo y cosecha no se observaron diferencias significativas ( $p=0.05$ ) entre las variedades evaluadas (Cuadro 1). En las mismas poblaciones evaluadas, no se observó una relación directa de la población total de nematodos y el síntoma de clorosis para las diferentes etapas fenológicas evaluadas (Cuadro 1).

El género *Mesocriconema* fue el que presentó el mayor número de individuos en las diferentes etapas fenológicas evaluadas; aunque este género se ha reportado como posible fitoparásito de guayaba (*Psidium guajava*), papaya (*Carica papaya*) (Castellano *et al.*, 2012) y maracuyá (*Passiflora* sp.) (Souza y Pala, 2016) no existen reportes de su posible papel como fitopatógeno en litchi. Las poblaciones de *Hemicriconemoides* y *Tylenchus* fueron significativamente mayores a los demás géneros solo en cosecha. Para la variedad Brewster las principales poblaciones de nematodos correspondieron a los géneros *Mesocriconema*, *Ditylenchus*, *Hemicriconemoides* y *Pratylenchus*, mientras que para la variedad Mauritius lo fueron los géneros *Aphelenchus* y *Xiphinema* (Cuadro 2). A pesar de que los géneros *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides* (McSorley *et al.*, 1980) y *Xiphinema* fueron notificados como asociados a síntomas de clorosis en plantas en mango (*Mangifera indica*) y

1). In the same populations evaluated, no direct relation was observed between the total population of nematodes and the symptom of chlorosis for the different phenological stages evaluated (Table 1).

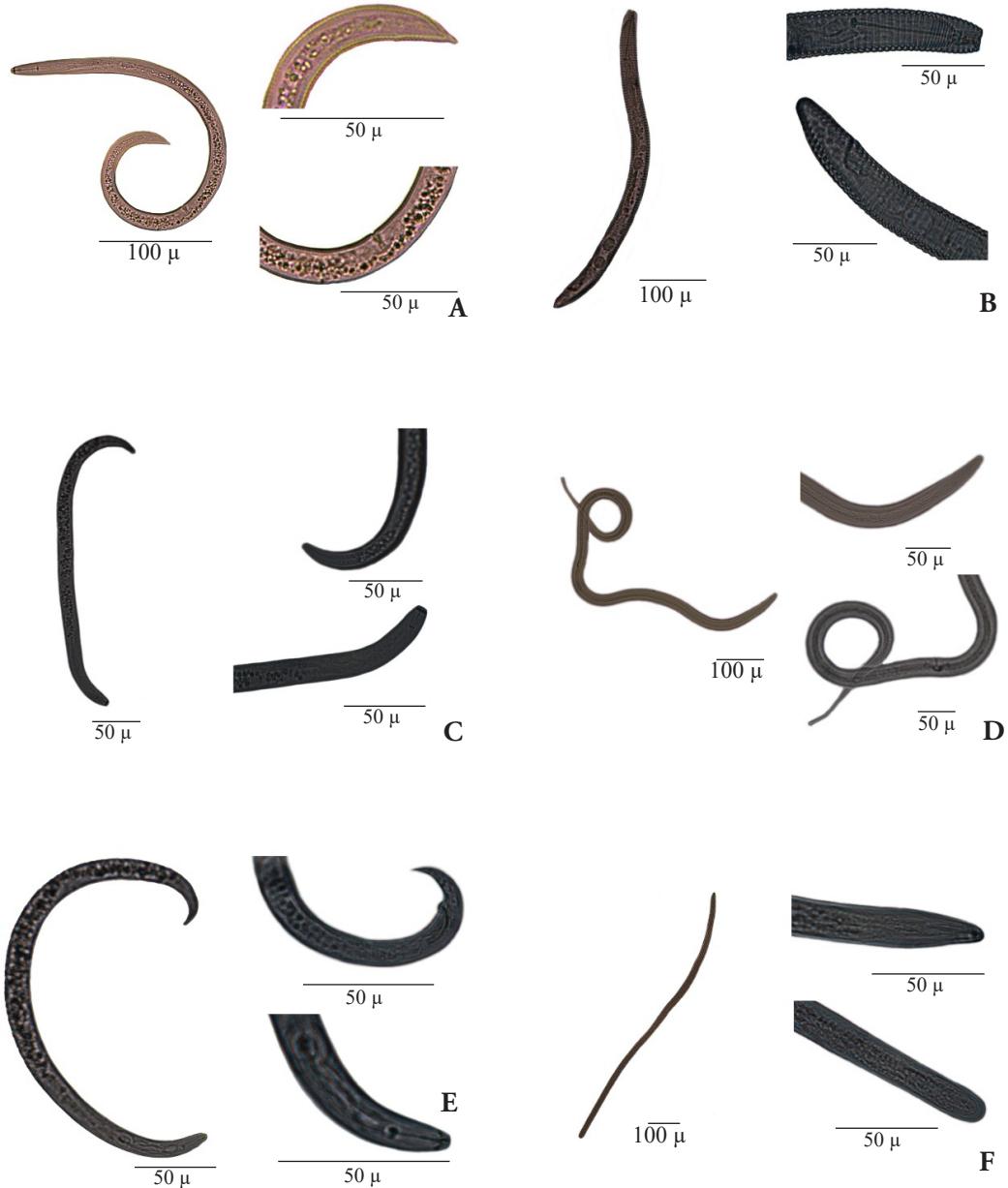
The genus *Mesocriconema* displayed the highest number of individuals in the different phenological stages evaluated. Although this genus has been reported as a possible phytoparasite in guava (*Psidium guajava*), papaya (*Carica papaya*) (Castellano *et al.*, 2012) and passionfruit (*Passiflora* sp.) (Souza and Pala, 2016), there are no reports on its possible role as a phytopathogen in lychee. The *Hemicriconemoides* and *Tylenchus* populations were significantly higher to those of the remaining genera, only in harvesting. For the Brewster variety, the main nematode populations corresponded to the genera *Mesocriconema*, *Ditylenchus*, *Hemicriconemoides* and *Pratylenchus*, whereas for the Mauritius variety, it was the genera *Aphelenchus* and *Xiphinema* (Table 2). Despite the genera *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides* (McSorley *et al.*, 1980) and *Xiphinema* having been reported to be related to symptoms of chlorosis in mango (*Mangifera indica*) and lychee plants, for the present study, the populations of both genera showed no significant differences between chlorotic and asymptomatic plants (Table 2). Only the genus *Trichodorus* displayed a significant difference between plant symptomatology, making the asymptomatic plant population the largest one (Table 2); this genus has been reported as a pathogen in sugarcane (Shahina and Firoza, 2007).

In conclusion, thirteen nematode genera were identified as being related to two lychee varieties (Brewster and Mauritius) in the stages of flowering, harvesting and vegetative development in the state of Oaxaca, Mexico: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Longidorus*, *Mesocriconema*, *Pratylenchus*, *Psilenchus*, *Rotylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*,



**Figura 1.** Características morfológicas distintivas de géneros de nematodos ectoparásitos asociados al cultivo de litchi (*Litchi chinensis*) en plantaciones comerciales en el estado de Oaxaca, México, A) *Aphelenchus*, B) *Longidorus*, C) *Mesocriconema*, D) *Trichodorus*, E) *Tylenchus* y F) *Xiphinema*.

**Figure 1.** Distinctive morphological characteristics of genera of ectoparasitic nematodes related to the lychee crop (*Litchi chinensis*) in commercial plantations in the state of Oaxaca, Mexico. A) *Aphelenchus*, B) *Longidorus*, C) *Mesocriconema*, D) *Trichodorus*, E) *Tylenchus* and F) *Xiphinema*.



**Figura 2.** Características morfológicas distintivas de géneros de nematodos asociados al cultivo de litchi (*Litchi chinensis*) en plantaciones comerciales en el estado de Oaxaca, México. A) *Helicotylenchus*, B) *Hemicricconemoides*, C) *Pratylenchus*, D) *Psilenchus*, E) *Rotylenchus* y F) *Tylenchorhynchus*.

**Figure 2.** Figure 2. Distinctive morphological characteristics of genera of nematodes related to the lychee crop (*Litchi chinensis*) in commercial plantations in the state of Oaxaca, Mexico. A) *Helicotylenchus*, B) *Hemicricconemoides*, C) *Pratylenchus*, D) *Psilenchus*, E) *Rotylenchus* and F) *Tylenchorhynchus*.

**Cuadro 1. Promedio poblacional de nematodos en 100 g de suelo muestreados durante las etapas fenológicas: floración, cosecha y desarrollo vegetativo del cultivo de litchi (*Litchi chinensis*), evaluadas en las variedades Mauritius y Brewster, en árboles con síntomas y asintomáticos en Oaxaca, México.**

**Table 1. Average population of nematodes in 100 g of soil sampled during the phenological stages (flowering, harvesting and vegetative development) of the lychee crop (*Litchi chinensis*), evaluated in the Mauritius and Brewster varieties, in symptomatic and asymptomatic trees in Oaxaca, Mexico.**

Etapa fenológica	Variedad <sup>x</sup>		Síntoma	
	Mauritius	Brewster	Asintomático	Clorosis
Floración	75.3 b	576 a	308.6 a	341.3 a
Cosecha	300.6 a	304 a	318 a	286.6 a
Desarrollo vegetativo	240 a	213.3 a	234.6 a	218.6 a

<sup>x</sup>Promedios con la misma letra dentro de la misma fila no fueron significativamente diferentes. Prueba de Rango Múltiple Duncan, P=0,05. / <sup>x</sup>Averages with the same letter in the same row were not significantly different. Duncan Multiple Range Test, P=0,05.

**Cuadro 2. Promedio poblacional de trece géneros de nematodos en 100 g de suelo muestreados durante tres etapas fenológicas: floración, cosecha y desarrollo vegetativo, del cultivo de litchi (*Litchi chinensis*); evaluados en las variedades Mauritius y Brewster, en árboles con síntomas y asintomáticos en Oaxaca, México.**

**Table 2. Average population of thirteen genera of nematodes in 100 g of soil sampled during three phenological stages (flowering, harvesting and vegetative development) of the lychee crop (*Litchi chinensis*), evaluated in the Mauritius and Brewster varieties, in symptomatic and asymptomatic trees in Oaxaca, Mexico.**

Nematodo/género	Etapa fenológica <sup>x</sup>			Variedad		Síntoma	
	1	2	3	1	2	1	2
<i>Aphelenchus</i>	7.2 b	53.8 c	31.3 e	46	15.3	30 a	31.3 a
<i>Ditylenchus</i>	16 b	44.6 c	0.6 e	5.3	35.3	12 a	28.6 a
<i>Helicotylenchus</i>	185.3 b	618 b	174 dce	288.6	368	310 a	346 a
<i>Hemicriconemoides</i>	273 b	1063a	4 e	4	1090	404 a	690 a
<i>Longidorus</i>	36 b	50 c	0.5 e	32.6	24.6	39.3 a	18 a
<i>Mesocriconema</i>	2784 a	954 a	1023 a	433.3	2741	1500 a	1674 a
<i>Pratylenchus</i>	250 b	164 c	149 dce	104	271	246.6 a	128 a
<i>Psilenchus</i>	26 b	6.6 c	15.3 e	7.3	24.6	16 a	15.3 a
<i>Rotylenchulus</i>	116 b	27.3 c	339.3 c	211.3	111	128.6 a	193 a
<i>Trichodorus</i>	0 b	120 c	266 dc	258	0	220 a	38 b
<i>Tylenchorhynchus</i>	38.2 b	78.6 c	83.3 de	48	85.3	78 a	55.3 a
<i>Tylenchus</i>	735.3 b	994 a	772.6 b	996	672	948 a	720 a
<i>Xiphinema</i>	0 b	46.6 c	8 e	30.6	6	8 a	28.6 a

<sup>x</sup>Promedios con la misma letra dentro de la misma columna (para etapa fenológica) y/o línea (para síntoma) no fueron significativamente diferentes. Prueba de Rango Múltiple Duncan, P=0,05. Etapa fenológica: 1=Floración, 2=Cosecha y 3=Desarrollo vegetativo; Variedad: 1=Mauritius y 2=Brewster, y Síntoma: 1=Asintomático y 2=Clorosis. / <sup>x</sup>Averages with the same letter in the same column (for phenological stage) and/or row (for symptom) were not significantly different. Duncan Multiple Range Test, P=0,05. Phenological stage: 1=Flowering, 2=Harvesting and 3=Vegetative development; Variety: 1=Mauritius and 2=Brewster, and Symptom: 1=Asymptomatic and 2=Chlorosis.

litchi, para el presente estudio, las poblaciones de ambos géneros no mostraron diferencias significativas entre plantas cloróticas y asintomáticas (Cuadro 2). Solo en el género *Trichodorus* se observó diferencia significativa respecto a la sintomatología de las plantas, siendo mayor la población en plantas asintomáticas (Cuadro 2); este género ha sido notificado como patógeno de caña de azúcar (Shahina y Firoza, 2007).

Se concluye que trece géneros de nematodos se identificaron asociados a dos variedades de litchi Brewster y Mauritius en las etapas de floración, cosecha y desarrollo vegetativo, en el estado de Oaxaca, México: *Aphelenchus*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Longidorus*, *Mesocriconema*, *Pratylenchus*, *Psilenchus*, *Rotylenchus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Tylenchus* y *Xiphinema*. Predominaron los géneros con hábito ectoparásito. El síntoma de clorosis en plantas de litchi no se asoció con la densidad poblacional de nematodos totales o con algún género en específico.

## LITERATURA CITADA

- Ayoub SM. 1977. Plant Nematology. An agricultural training aid. Department of Food and Agriculture. USA. Division of Plant Industry. Laboratory Services-Nematology.
- Barker KR. 1978. Determining Nematode Population Responses to Control Agents. In Methods for evaluating Plant Fungicides, Nematicides and Bactericides Pp. 114-125. St. Paul Minnesota, USA: American Phytopathological Society.
- Boag B and Jairajpuri MS. 1985. *Helicotylenchus scoticus* n.sp. and a conspectus of the genus *Helicotylenchus* Steiner, 1945 (Tylenchida: Nematoda). Systematic Parasitology 7:47-58. <https://doi.org/10.1007/BF00010161>
- Campbell RJ and Campbell CW. 2001. Evaluation and introduction of lychee cultivars in South Florida, USA. Acta Horticulturae 558:119-123. <https://doi.org/10.17660/Acta-Hortic.2001.558.15>
- Castellano G, Casassa-Padrón AM, Ramírez-Méndez R, Pérez-Pérez E, Burgos ME y Crozzoli R. 2012. Nematodos fitoparásitos asociados a frutales estratégicos en el municipio Baralt del estado Zulia, Venezuela. Fitopatología Venezolana 25:2-6.
- Tylenchus and Xiphinema. The genera with ectoparasitic habits predominated. The symptom of chlorosis in lychee plants was not related with the population density of total nematodes or with any specific genus.
- ~~~~~ End of the English version ~~~~~
- Castillo P and Vovlas N. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. Nematology monographs and perspectives 6: 559. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004155640.i-523>
- Coates LM, Johnson GI, Sardsud U and Cooke AW. 1994. Postharvest diseases of lychee in Australia, and their control. ACIAR proceedings 58:68-69. <http://hdl.handle.net/102.100.100/237081?index=1>
- Euon CY, Loof P and Brzeski M. 2002. Compendium of genus Mesocriconema Andrassy, 1965 (Nematoda: Criconematidae). Nematology 4(3):341-360. <https://doi.org/10.1163/156854102760199187>
- Hooper DJ. 1986. Extraction of free-living stages of soil. In: Laboratory methods for work with plant and soil nematodes (pp.5-30). London: Ministry of Agriculture Fisheries and Food.
- Mai WF, Mullin PG, Lyon HH and Loeffler K. 1996. Plant Parasitic Nematodes a Pictorial Key to Genera. Fifth edition. USA: Cornell University. <https://www.jstor.org/stable/10.7591/j.ctv5rdz0t>
- Maldonado-Peralta R, Trinidad-Santos A, Téliz-Ortíz D, Velasco-Velazco VA y Volke HVH. 2012. Respuesta de litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) a la fertilización con NPK en el norte de Oaxaca, México. Revista Fitotecnia Mexicana 35(3): 251-258. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61024385008>
- Martínez-Bolaños M, Téliz-Ortíz D, Mora-Aguilera A, Valdovinos-Ponce G, Nieto-Ángel D, García-Pérez E and Sánchez-López V. 2015. Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) del fruto de litchi (*Litchi chinensis* Soon.) en Oaxaca, México. Revista Mexicana de Fitopatología 33:140-155. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092015000200140&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000200140&lng=es&nrm=iso). ISSN 2007-8080.
- McSorley R, Campbell CW and Goldweber S. 1980. Observations on a mango (*Mangifera indica*) decline in South Florida (nematode, verticillium wilt). Proceedings of the annual meeting of the Florida State Horticultural Society 93:132-133.
- Menzel CM and Simpson DR. 1994. Lychee. In: Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops (pp.123-141). Florida, USA: CRC Press.
- Nath RC, Sinha BC, Mukherjee B and Dasgupta MK. 2008. Occurrence, distribution and importance of plant parasitic nematodes associated with litchi plantations in north Tripura district. Indian Journal of Nematology 38(1):75-80.

- Nisha S, Rawat VS and Ahmad M. 2000. Seasonal population dynamics of plant-parasitic nematodes associated with *Litchi chinensis* in Doon Valley, U.P. (India). Indian Journal of Nematology 30(2):256-257.
- Ravichandra NG. 2019. New report of root-knot nematode (*Meloidogyne enterolobii*) on guava from Karnataka, India. EC Agriculture 5(9): 504-506. <https://www.ecronicon.com/ecag/pdf/ECAG-05-00187.pdf>
- Seinhorst JW. 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. Nematologica 4(1):67-69. <https://doi.org/10.1163/187529259X00381>
- Shahina F and Firoza K. 2007. Nematodes and pests problems in sugarcane. Pakistan Sugar Journal 22: 18-28.
- Shurtleff MC and Averre III ChW. 2000. Diagnosing plant diseases caused by nematodes. St. Paul Minnesota, USA: APS PRESS.
- SIAP. 2018. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Boletín de exportación de Litchi. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/451512/Abril\\_litchi\\_2019.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/451512/Abril_litchi_2019.pdf)
- Siddiqui MR. 1963. Four new species of the genus Tylenchus Bastian, 1865 (Nematoda) from North India. Z. F. Parasitenkunde 23: 170-180. <https://doi.org/10.1007/BF00260292>
- Siddiqi MR. 2000. Tylenchida parasites of plants and insects. Second Edition. Wallingford, U.K: CABI Pub.
- Souza SR and Pala MPR. 2016. Nematodes associated with five fruit trees in the state of Amapá, Brazil. Ciência Rural 46(9):1509-1513. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150589>
- Torres-Becerril M, Morales-Trejo F, Arvizu-Barrón E, Ojeda-Enciso LA, Zaldívar-Cruz JM y Armida-Alcudia L. 2019. Situación actual del cultivo de litchi en municipios productores de Veracruz y Oaxaca, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 10(3):563-574. <https://dx.doi.org/10.29312/remexca.v10i3.1457>
- Xu X, Wu Z, Chen W and Su M. 2005. Effect of low temperature on relative enzyme activity and membrane peroxidization of lychee fruits. Acta Horticulturae 665:359-364. <https://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.665.44>