

**Informe final\* del Proyecto JC007**  
**Computarización de la Colección de Referencia de Nematodos Fitopatógenos del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria de la Dirección General de Sanidad Vegetal**

**Responsable:** Ing. Leonel Rosas Hernández

**Institución:** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación  
Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria  
Dirección General de Sanidad Vegetal

**Dirección:** Guillermo Pérez Valenzuela No. 127, Col. Del Carmen, Coyoacán, México, D. F. C.P. 04100

**Correo electrónico:** [dgsv.iica066@senasica.gob.mx](mailto:dgsv.iica066@senasica.gob.mx)

**Teléfono/Fax:** (55) 50 90 30 00 Ext. 51420

**Fecha de inicio:** Julio 15, 2014.

**Fecha de término:** Julio 31, 2017.

**Principales resultados:** Bases de datos, fotografías, informe final.

**Forma de citar\*\* el informe final y otros resultados:** Rosas-Hernández, L., Mundo-Ocampo, M., Nava-Díaz, C., Carranza de la Rosa, F., Sánchez-Gamboa, A. y D. A. Martínez-Cano. 2017. Computarización de la Colección de Referencia de Nematodos Fitopatógenos del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria de la Dirección General de Sanidad Vegetal. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Dirección General de Sanidad Vegetal. **Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. JC007.** Ciudad de México.

**Resumen:**

El Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica), tiene la misión y la responsabilidad de preservar la sanidad vegetal de nuestro país. El área de diagnóstico fitosanitario del CNRF cuenta con laboratorios especializados, entre los cuales se encuentra el laboratorio de nematología agrícola “Dr. Carlos Sosa Moss”.

El intercambio comercial entre diversos países, consecuencia de la globalización de los mercados, ha traído el movimiento de grandes distancias de materiales vegetales, lo cual ha favorecido a la diseminación de nematodos fitopatógenos de importancia cuarentenaria para México.

Desde el hallazgo e identificación en México, en 1972, del nematodo dorado de la papa *Globodera rostochiensis* y la descripción del nematodo enquistado del maíz *Punctodera chalcoensis* realizados por el Dr. Carlos Sosa Moss, el laboratorio de nematología del CNRF se ha preocupado por elaborar, conservar y mantener material de referencia que facilite la detección e identificación de nematodos fitopatógenos.

La Colección Nematológica de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) contiene las principales especies que por sus hábitos alimenticios y los daños ocasionados sobre los vegetales son considerados de importancia económica y cuarentenaria para México. Esta colección se considera de gran importancia para poder conocer con certeza, cuales nematodos se encuentran asociados a los cultivos de importancia económica de nuestro país debido que muchos han sido introducidos a través de los diversos productos agrícolas.

La “CNRF-N” cuenta con aproximadamente 920 ejemplares, dividida en 3 secciones: sección de nematodos agalladores, sección de nematodos enquistados y sección de nematodos filiformes, los cuales han identificados tanto por especialistas nacionales como internacionales. Las primeras 2 son las más grandes, en cuanto a número de ejemplares, los cuales están montados en laminillas con Formaldehido-Alcohol-Ac. Acético, Bálsamo de Canadá, glicerina deshidratada, entre otros. Los nematodos filiformes para poder preservarlos, están montados en laminillas con glicerina deshidratada, Formaldehido-Alcohol-Ácido acético (FAA), Formaldehido-Ac. acético (FA).

Con la finalidad de contribuir al conocimiento, cada vez más preciso de los nematodos que afectan a las plantas, el CNRF de la DGSV del Senasica, ha sentado las bases para establecer un sistema de Diagnóstico Fitosanitario para la correcta identificación de nematodos fitopatógenos, por ello la

importancia de poseer una colección organizada y una base de datos de la misma, validada y con información específica acerca de los distintos ejemplares que la integran para de esta manera permitir un eficiente sistema de consulta.

Los servicios que pretende dar esta colección son: consulta, préstamo e intercambio de información general con otras instituciones y laboratorios fitosanitarios aprobados. La colección está en constante crecimiento puesto que continuamente se incorporan nuevos ejemplares.

---

- \* El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)
- \*\* El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

## INFORME FINAL PROYECTO JC007

### “COMPUTARIZACIÓN DE LA COLECCIÓN DE REFERENCIA DE NEMATODOS FITOPATÓGENOS DEL CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA FITOSANITARIA DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL”

**RESPONSABLE:** Ing. Leonel Rosas Hernández.

**TAXÓNOMOS ESPECIALISTAS:** **Dr. Manuel Mundo Ocampo.**  
University of California Riverside, EUA (UCR).  
**Dr. Cristian Nava Díaz.**  
Colegio de Postgraduados (COLPOS).

**TÉCNICOS:** **Biol. Fany Carranza de la Rosa.**  
**Biol. Antonio Sánchez Gamboa.**  
**Biol. Diego Alberto Martínez Cano.**

#### RESUMEN

La sanidad vegetal de México está constantemente amenazada por organismos plaga que pueden ocasionar pérdidas en la producción agrícola incluyendo la limitación o suspensión de la exportación de productos comerciales. Estos organismos generalmente son introducidos al país por diversas actividades antropogénicas siendo las principales, la movilización internacional comercial de productos o subproductos agrícolas, actividades relacionadas con el turismo o en ocasiones por errores involucrados con la investigación agrícola. Sin embargo, tales organismos también son dispersados por causas naturales como: tormentas, inundaciones y huracanes.

Las colecciones científicas de plagas agrícolas son de gran utilidad para conocer los caracteres utilizados para su diagnóstico, en particular para el grupo de nematodos fitopatógenos. Por otra parte, la identificación correcta de estos microorganismos permite conocer aspectos de su biología, incluyendo hábitos alimenticios, rango de plantas hospedantes, distribución, entre otros. Esta información es valiosa para la elaboración de estrategias para evitar su dispersión a través de la aplicación de medidas cuarentenarias y para su correcto manejo en el campo.

La finalidad del presente proyecto fue generar una base de datos con información de las especies de nematodos parásitos de cultivos vegetales preservados de 1970 a 2015 dentro de la Colección Nematológica del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF-N), realizando labores de restauración, digitalización de imágenes y respaldo electrónico de la información de los registros.

Mediante este proyecto se ingresaron al sistema Biotica 5.0: 798 registros conteniendo 25 géneros, 90 especies, 3 infraespecies (subespecies): *G. tabacum tabacum*, *G. t. solanacerarum* y *G. t. virginiae*) haciendo un total de 2,111 individuos y 201 imágenes digitales correspondientes a material propio o generado y materiales recibidos por donación de investigadores del extranjero.

## 1. INTRODUCCIÓN

Como consecuencia de la globalización, el intercambio comercial de productos agrícolas entre países ha originado el trasiego de materiales vegetales facilitando así la diseminación de organismos que pueden afectar en gran medida la producción agrícola en México.

El Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CRNF) del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), tiene como una de sus metas mantener al país libre de plagas cuarentenarias de alto impacto económico y para lograrlo cuenta con laboratorios especializados en entomología, malezas, micología, bacteriología, virología y nematología.

Especies fitoparásitas como el nematodo dorado de la papa *Globodera rostochiensis*, el del quiste blanco *Globodera pallida* y el de la pudrición seca *Ditylenchus destructor*, por mencionar algunos, ocasionan pérdidas cuantificadas entre el 30 y el 80% de la producción.

Para conocer acerca de la biología, distribución, hospedantes y hábitats de los nematodos es necesario contar con ejemplares debidamente identificados, validados y que sean de utilidad como material de referencia. Por ello, la importancia y trascendencia del establecimiento de una colección biológica organizada con información específica acerca de los distintos ejemplares que la integren.

Las colecciones biológicas implican la recolección de especímenes, su identificación y así mismo someter a los ejemplares a un cuidadoso proceso curatorial para conservarlos a largo plazo. De esta forma, constituyen uno de los acervos más completos de la biodiversidad y representan recursos de importancia primaria para la investigación biológica. Además, son fuente de referencia para la identificación de intercepciones de materiales contaminados de importación.

En este sentido, la CNRF-N conserva las principales especies que por sus hábitos alimenticios y los daños ocasionados sobre vegetales, son consideradas de gran importancia en cultivos como: papa, maíz, piña, café, caña de azúcar, papaya, trigo, entre otros. Este material se encuentra preservado en preparaciones permanentes (laminillas), presentando diferentes grados de deterioro debido a que no ha recibido mantenimiento y por lo que es necesario realizar la restauración para preservar esta valiosa información.

Una de las metas que tiene la CNRF-N es brindar servicios de consulta e intercambio de información con otras instituciones y laboratorios fitosanitarios aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), con el objetivo de contribuir al conocimiento cada vez más minucioso y actualizado de especies de nematodos fitopatógenos, coadyuvando en la conservación del nivel fitosanitario del país.

## 2. ANTECEDENTES

La agricultura ha sido una de las actividades productivas de mayor importancia desde la época prehispánica. El territorio del país es considerado como uno de los probables centros de origen de plantas como maíz, tomate, calabaza, entre otras-.

Después de la conquista muchos vegetales fueron introducidos a México, fomentando así la diversidad y productividad agrícolas. Sin embargo, también como consecuencia se produjo la movilización, establecimiento y diseminación de plagas y enfermedades de Europa hacia América.

La primera plaga en cultivos de la que se hace mención en numerosos relatos de los siglos XVI y XVII, es de la plaga de langostas en la península de Yucatán. Hacia 1900 inició el estudio, monitoreo, control oficial y formal de plagas en México mediante la integración de la *Comisión de Parasitología*, dependiente de la Secretaría de Fomento. En 1972, el Dr. Carlos Sosa Moss identificó en México al nematodo dorado de la papa *Globodera rostochiensis* considerado como especie cuarentenaria. A partir de este año y hasta 1976 se realizaron muestreos a nivel nacional en predios productores de papa, cubriendo un total de 55,760 hectáreas, con la finalidad de ubicar las zonas con presencia de nematodo dorado y a través del cual se elaboraron una gran cantidad de laminillas de géneros como: *Globodera*, *Heterodera*, *Punctodera*, principalmente . Con la generación de estos materiales puede considerarse el origen de la CNRF-N, sin embargo, el reconocimiento oficial y formal se obtuvo hasta el 23 de mayo de 2012, ante la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).

Los materiales que conforman la CNRF-N fueron elaborados por los técnicos que han trabajado en el laboratorio de nematología, analizando muestras enviadas por los diferentes Comités Estatales de Sanidad Vegetal a través del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria; muestras obtenidas en puntos de ingreso al país (Oficinas de Inspección de Sanidad Agropecuaria: OISA's); así como de materiales enviados por los laboratorios fitosanitarios aprobados por la SAGARPA. La identificación de especies se ha realizado, en algunos casos, con el apoyo de especialistas de instituciones nacionales como el Colegio de Postgraduados (COLPOS), la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) y el Instituto Politécnico Nacional (IPN); así mismo, con el apoyo de especialistas en institutos del extranjero como de la University of California Riverside, EUA (UCR). La CNRF-N también cuenta con ejemplares donados por investigadores e instituciones de Estados Unidos de Norteamérica e Inglaterra, entre otros países.

En años anteriores se estimó que la colección contaba con cerca de 2,000 laminillas en total, divididas en 3 secciones: nematodos agalladores, nematodos enquistados y nematodos filiformes. En relación con el número de ejemplares, las primeras dos secciones eran las más extensas y presentaban como medios de montaje Bálsamo de Canadá y glicerina deshidratada. Los nematodos filiformes se encontraban montados en glicerina deshidratada y gelatina-glicerina. Los materiales más antiguos datan de los 70 con diferentes grados de deterioro, por lo que fue necesario realizar actividades curatoriales para la preservación adecuada, obtención de imágenes útiles para diagnóstico, así como la computarización de los datos de los registros.

### 3. OBJETIVO GENERAL

- Generar un banco de información digital de utilidad para la identificación de especies de nematodos fitopatógenos de importancia para México.

#### 3. 1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Generar una base de datos de 700 registros con información como: especie, clasificación taxonómica, lugar de colecta (georeferenciación), planta hospedante, entre otros.
- b) Generar 160 imágenes digitalizadas en las cuales se observarán las principales características de 40 especies de nematodos fitopatógenos de importancia económica y cuarentenaria para México.
- c) Facilitar a investigadores, instituciones o personas interesadas la información contenida en la CNRF-N.

### 4. METODOLOGÍA

El proyecto se dividió en 4 etapas, cada una de las cuales abarcó un periodo de 4 meses e inició con la gestión para la adquisición de los equipos, gavetas, reactivos y materiales necesarios, así como la contratación del personal técnico que participó en el proyecto. Se adquirió un equipo de cómputo, una cámara digital Spot Idea 5.0MP y dos adaptadores para microscopio compuesto; 3 gavetas para la organización y clasificación de los *registros*; portaobjetos, cubreobjetos, glicerina, alcohol etílico, trietanolamina, navajas y mangos de bisturí, esmalte, parafina para histopatología y algodón, los cuales fueron de utilidad para efectuar las labores de restauración.

Para este proyecto se consideró como un *registro* a una laminilla la cual presentó como mínimo un espécimen o una estructura utilizada para la identificación (cuello con estilete, patrón perineal, patrón fenestral) en particular de una especie de nematodo colectada en una fecha y lugar determinados y sobre una planta hospedante en particular. Si otra laminilla contenía la misma especie pero con algún dato diferente de los mencionados con anterioridad, esta se consideró como un registro independiente.

Se instaló el programa Biotica 5.0 sobre la computadora personal adquirida y fue en este equipo en donde se ingresó y resguardó toda la información de los registros de la CNRF-N.

Las actividades iniciaron formalmente el 29 de octubre del 2014 con la reunión del grupo de trabajo formado por los técnicos: Biol. Fany Carranza de la Rosa, Biol. Antonio Sánchez Gamboa, Biol. Diego Alberto Martínez Cano, los taxónomos expertos: Dr. Manuel Mundo Ocampo (UCR) y Dr. Cristian Nava Díaz (COLPOS) y el coordinador: Ing. Leonel Rosas Hernández. Se revisaron diversos puntos del convenio del proyecto como: objetivos, obligaciones, responsabilidades, actividades a realizar, entre otros puntos). Bajo la asesoría de los taxónomos expertos se organizó todo el material y para facilitar el uso y manejo de los registros se estableció una codificación nombrada como "*número de catálogo*", la cual está formada por el prefijo del nombre de la colección: "CNRF-N", la letra "A" que se refiere al tipo de preparación (es decir que corresponde a una *laminilla*), el número consecutivo para el registro y el número de la ubicación dentro de la colección (*número de charola del gabinete y posición dentro de la charola*).

Por ejemplo:

<b>CNRF-N A00001010101</b>
ORIGEN: Amecameca, Edo. de México.
COORDENADAS LONG.: -98 46' 00.09" LAT.: 19° 07' 26.41"
FECHA MUESTREO: Abril/1998
COLECTOR: ND

La clave significa que este material corresponde a:	
La Ccolección Nematológica del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria	CNRF-NA00001010101
Es una laminilla o preparación para microscopio	CNRF-NA00001010101
Corresponde al registro # 1 de un máximo de 99,999 que podrá albergar en esta colección	CNRF-NA00001010101
Se encuentra ubicado en el gabinete # 1	CNRF-NA00001010101
Está ubicado en la charola # 1 de 20, y	CNRF-NA00001010101
Se encuentra colocado en el espacio # 1 de 20 dentro de la charola	CNRF-NA00001010101

Cada laminilla fue revisada bajo microscopio estereoscópico y compuesto para verificar su integridad y estado físico, separando (o descartando) aquellas que presentaron características como: corte doblado, roto, con exceso de tejido, en posición inversa; especímenes filiformes traslapados entre sí; medio de montaje con burbujas de aire, con partículas de aceite o grasa u otros cuerpos extraños (residuos contaminantes como fibras o polvo); desecación de medio de montaje; porta o cubreobjetos rotos, estrellado o que existiera mezcla de especies dentro de una misma preparación y especímenes en mal estado debido a una fijación y deshidratación inadecuados.

La restauración consistió en rescatar el patrón, modelo (perineal o fenestral) o filiforme del medio de montaje. Para lograrlo fue necesario, primeramente, retirar el esmalte que sellaba la preparación, cuando estaba presente, con ayuda de bisturí, agujas y pinzas de disección. Una vez retirado el cubreobjetos y cuando el medio de montaje correspondía a glicerina, los cortes fenestrales y perineales fueron retirados con el auxilio de pescadores, realizándoles lavados en ácido láctico, seccionando el tejido excedente y posteriormente fueron lavados con glicerina deshidratada. Para el caso de filiformes, se “pescaron” del medio y se realizaron 3 lavados en glicerina deshidratada para eliminar partículas extrañas.

Cuando el medio de montaje del corte perineal o fenestral correspondía a Bálsamo de Canadá y considerando que esta sustancia es una resina de origen vegetal, se adicionaron gotas de Xileno con la finalidad de reblandecer el medio, retirar el cubreobjetos y rescatar de esta manera al tejido de interés. Una vez que el corte fue extraído se procedió a limpiarlo, lavando con xileno y ácido láctico hasta eliminar completamente residuos del medio de montaje así como otras partículas contaminantes adheridas al tejido. Lavados con glicerina deshidratada fueron realizados para retirar excesos de xileno y ácido láctico.

Finalmente, los cortes y filiformes se colocaron en un portaobjetos nuevo utilizando glicerina deshidratada limpia como medio de montaje, con ayuda de un “pescador” se depositaron en posición correcta en el fondo de la gota del medio. Posteriormente, se colocaron de 3-4 secciones muy pequeñas de hojuelas de parafina (3x2x1mm, aproximadamente) en los márgenes de la glicerina deshidratada, colocando sobre ellos un cubreobjetos redondo de 18mm de diámetro y finalmente se llevó sobre una termoplancha a 85-90°C hasta derretir por completo la parafina. Se retiró la preparación de la termoplancha y una vez solidificada, el exceso de parafina fue eliminado del borde del cubreobjetos con ayuda de bisturí. Lo anterior se realizó de 2 a 3 veces hasta no observar exceso de parafina.

La preparación fue revisada en microscopio compuesto para verificar que los cortes o especímenes se encontrasen en la posición correcta, que no se estuvieran traslapados, doblados, y que no existieran burbujas de aire o partículas extrañas (fibras, polvo o grasa). Cuando lo anterior ocurrió fue necesario realizar nuevamente el procedimiento de montaje. Para concluir, la preparación fue sellada con esmalte y etiquetada de manera temporal.

La verificación y validación de los ejemplares por los taxónomos especialistas fue realizada una vez que las laminillas fueron organizadas y restauradas. Todos los ejemplares fueron validados empleando el sistema de clasificación de *Hodda, 2011* (facilitado por la CONABIO) aunque esta referencia no fue considerada inicialmente, sin embargo, considerando que contiene la clasificación de phylum a familia mayormente aceptada por la comunidad científica de nematología, fue adoptada para este proyecto; *Siddiqi, 2000, Decraemer, 1995, Hunt, 1993, Ye & Robbins, 2003, Ye & Robbins, 2004, Ibrahim & Hopper, 1994 y Hopper & Ibrahim, 1994* fueron utilizadas para la ubicación taxonómica de familia, género y especie. En un inicio, se consideró hacer uso de la clasificación propuesta por *De Ley & Blaxter, 2004*, sin embargo, y al no contar con la información de los análisis moleculares de cada uno de los registros de la colección sumado a la opinión y recomendación de los taxónomos especialistas, se optó por descartar este sistema de clasificación.

La georeferenciación de los ejemplares que contaban únicamente con los datos de localidad, municipio y/o estado fue obtenida mediante el uso de la herramienta informática *SIG Google Earth 5.2.1.1.588*. Así mismo, se realizaron microfotografías utilizando la cámara Spot Idea, modelo 28.2-5MP montada sobre un microscopio marca Carl Zeiss, modelo Axiostar Plus de cada una de las especies verificadas y validadas. Las múltiples imágenes de una especie fueron editadas y digitalizadas utilizando los programas: *Corel PHOTO-PAINT 12.0.0.458, Helicon Focus 6.3.3 y Gimp 2.8.14* para obtener una imagen única *con foco extendido* en la cual se pueden observar las características principales de diagnóstico de la especie.

La información de cada registro como: especie, hospedero, parte afectada del vegetal, lugar de colecta, coordenadas geográficas fue capturada en la base de datos del sistema *Biótica 5.0*, así mismo se realizó la asociación de la imagen con la especie correspondiente.

El acabado final de laminillas consistió en la colocación de la etiqueta impresa, el sellado con barniz o esmalte, y el uso de cinta adhesiva transparente sobre las etiquetas con el objetivo de proteger la integridad de la información impresa durante el uso de las preparaciones al observarlas a magnificación de 100X y el correspondiente uso del aceite de inmersión.

**Las actividades del proyecto culminaron formalmente el 31 de marzo de 2016.**

## 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### **DEL MATERIAL GENERADO EN EL LABORATORIO**

La siguiente tabla resume las metas comprometidas y el grado de cumplimiento de las mismas referidas únicamente al material generado por el laboratorio.

COMPROMISOS	%	%	LOGROS
Validación de 700 registros.	100	100.9	Se validaron 706 registros.
Georeferenciación de registros.	54.89	54.89	438 registros. Georeferenciados.
Obtención de imágenes de 40 especies= 160 imágenes en total.	100	115.6	Se obtuvieron 185 imágenes digitales (11 imágenes a nivel de género).
Captura de 700 registros al sistema <i>Biótica</i> .	100	100.9	Se capturaron 706 registros.

Laminillas correspondientes al periodo comprendido de 1970 a 2010 generadas dentro del laboratorio no presentaron coordenadas geográficas del lugar en el que fueron colectadas, esto se debe a que en ese entonces aún no se contaban con los dispositivos que hicieran posible la obtención de estos datos.



Se organizaron un total de 1400 laminillas que corresponden de 1970 a 2015, obteniéndose 706 registros con 694 duplicados. A 200 laminillas no fue posible recuperar los especímenes y/o cortes y fueron descartadas, 800 laminillas fueron restauradas y del material restante únicamente se realizó limpieza externa, sellado y etiquetado final. El número de duplicados (694) corresponde al número de laminillas consideradas como repeticiones de los 706 registros, es decir, existen registros con más de una preparación con los mismos datos de especie, fecha de colecta, sitio de colecta y hospedero. Bajo esta situación, previa consulta con la Subdirección de Inventarios Bióticos de la CONABIO, se creó en la base de datos, el catálogo “*Características de la muestra/Número total de laminillas de la muestra*”, en donde fue capturado dicho número, el cual será de utilidad en casos de intercambio o donación de materiales con otras instituciones. Es importante mencionar que el dato “Número de individuos”, corresponde a una preparación seleccionada como referencia contabilizando el tipo y cantidad de individuos dentro de la laminilla de referencia. En el caso de registros del género *Meloidogyne*, la preparación puede presentar **X** cuellos y **X** cortes perineales pero ejemplo, si en una preparación se observan 2 cortes perineales y un cuello, el número de individuos es 2, por que un individuo debe presentar un cuello y un corte perineal o por lo menos un corte perineal. Por ello, 1,316 individuos corresponden a los 706 registros sin considerar el número de individuos que se encuentran dentro del material duplicado.

De los registros obtenidos se georeferenció en el 54.89%. De los registros restantes no se capturaron las coordenadas geográficas debido a que estos no contaban con el sitio o localidad específicos en donde se colectó la muestra o correspondían a material facilitado por los laboratorios fitosanitarios aprobados y cuyo origen fue EUA, sin conocimiento del estado, condado, ni campo de producción, y que inicialmente se contempló que estos últimos registros se georeferenciarían considerando la OISA-Aduana por la que el material ingresó al país, situación que se descartó durante el desarrollo del proyecto, en común acuerdo con la CONABIO. Por ello, la información de estos registros fue capturada como no disponible (ND) en el módulo geográfico sitio-localidad.

Se obtuvieron 185 imágenes digitales: 174 a nivel de especie, 6 imágenes de Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) de *Ditylenchus dipsaci* y de nematodos enquistados como *G. rostochiensis*, *P. chalcoensis* y *H. schachtii* utilizando un *Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo marca Carl Zeiss, mod. Sigma VP* a través del apoyo de la M.C. Ariana Guadalupe Robles Zarate, las restantes por el Biol. Antonio Sanchez Gamboa; 11 a nivel de género, 4 de estas últimas utilizando el microscopio estereoscópico *trioocular mod. Z16APOA motorizado con cámara digital mod. DFC450 con software LAS Core con módulo de montaje multifoco, ambos de marca Leica*. Estas 4 imágenes fueron obtenidas por la Biol. Ana Gabriela Hernández Ramírez. Las especies verificadas y validadas por los taxónomos expertos son las siguientes:

- |   |                                      |
|---|--------------------------------------|
| 1. <i>Anguina tritici</i> *               | 18. <i>Meloidogyne arenaria</i>      |
| 2. <i>Aphelenchoides fragariae</i> *      | 19. <i>Meloidogyne chitwoodi</i> *   |
| 3. <i>Bursaphelenchus cocophilus</i>      | 20. <i>Meloidogyne enterolobii</i> * |
| 4. <i>Cactodera cacti</i>                 | 21. <i>Meloidogyne hapla</i>         |
| 5. <i>Criconemoides inusitatus</i>        | 22. <i>Meloidogyne incognita</i>     |
| 6. <i>Ditylenchus destructor</i> *        | 23. <i>Meloidogyne javanica</i>      |
| 7. <i>Ditylenchus dipsaci</i> *           | 24. <i>Meloidogyne paranaensis</i> * |
| 8. <i>Globodera rostochiensis</i> *       | 25. <i>Mesocriconema onoense</i>     |
| 9. <i>Globodera tabacum tabacum</i>       | 26. <i>Nacobbus aberrans</i>         |
| 10. <i>Globodera tabacum solanacearum</i> | 27. <i>Pratylenchus brachyurus</i> * |
| 11. <i>Globodera tabacum virginiae</i>    | 28. <i>Pratylenchus coffeae</i> *    |
| 12. <i>Helicotylenchus crenacauda</i>     | 29. <i>Pratylenchus fallax</i> *     |
| 13. <i>Helicotylenchus dihystrera</i>     | 30. <i>Pratylenchus flakkensis</i>   |
| 14. <i>Helicotylenchus erythrinae</i>     | 31. <i>Pratylenchus penetrans</i>    |
| 15. <i>Helicotylenchus neopaxilli</i>     | 32. <i>Pratylenchus thornei</i>      |
| 16. <i>Helicotylenchus paraconcovus</i>   | 33. <i>Pratylenchus zeae</i> *       |
| 17. <i>Heterodera schachtii</i> *         | 34. <i>Punctodera chalcoensis</i>    |

35. *Radopholus similis*
36. *Rhadinaphelenchus cocophilus*
37. *Rotylenchulus reniformis*
38. *Tylenchorhynchus goldenii*
39. *Tylenchorhynchus gossypii*

40. *Tylenchorhynchus mashhoodi*
41. *Tylenchorhynchus spinaceai*
42. *Tylenchulus semipenetrans*
43. *Xiphinema peruvianum*

**\*Especies cuarentenarias para México.**

De los 706 registros, durante la revisión por los taxónomos expertos y en base a las características morfológicas y morfométricas observadas, 12 registros fueron reidentificados:

# Catalogo	Identificación original	Reidentificación
A00212011112	<i>Globodera rostochiensis</i>	<i>Globodera tabacum virginiae</i>
A00213011113	<i>Punctodera</i> sp.	<i>Punctodera chalcoensis</i>
A00218011118	<i>G. rostochiensis</i> / <i>G. solanacearum</i>	<i>Globodera tabacum virginiae</i>
A00226011106	<i>Globodera virginiae</i>	<i>Globodera rostochiensis</i>
A00234011214	<i>Globodera virginiae</i>	<i>Globodera rostochiensis</i>
A00241011301	<i>Globodera</i> sp.	<i>Globodera rostochiensis</i>
A00250011310	<i>Globodera tabacum virginiae</i>	<i>Globodera rostochiensis</i>
A00254011314	<i>Helicotylenchus dihystra</i>	<i>Helicotylenchus erythrinae</i>
A00331011711	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>
A00273011413	<i>Nacobbus</i> spp.	<i>Nacobbus aberrans</i>
A00275011415	<i>Bursaphelenchus</i> spp.	<i>Bursaphelenchus cocophilus</i>
A00239011219	<i>Globodera</i> sp.	<i>Globodera tabacum virginiae</i>

En el caso de 27 registros (3.8%) y debido al número muy bajo de ejemplares o especímenes que en su momento se analizaron y que aun después de realizar estudios moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), secuenciación y análisis filogenético, no fue posible determinar la especie en cuestión, únicamente fueron identificados y validados a nivel de género. Estos géneros corresponden a: *Globodera*, *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Paratrichodorus* y *Trichodorus*.

### **DEL MATERIAL OBTENIDO POR DONACIÓN**

Es necesario aclarar que la CNRF-N ha recibido material donado por diferentes investigadores como: el Dr. Carlos Sosa Moss (†), el Dr. Manuel Mundo Ocampo (UCR), el Dr. Robert T. Robbins (University of Arkansas, EUA). Estas preparaciones fueron elaboradas entre 1960-2005 y algunas se encontraron en muy buen estado, sin embargo, en otros casos fue necesario realizar labores de restauración. Estos materiales no presentaron la totalidad de datos para que fueran considerados como *registros verdaderos*, de acuerdo con el concepto considerado en este proyecto, por lo que la mayoría de los campos en la base de datos se capturaron como "9999", sin embargo, son de gran importancia debido a que la mayoría de estas especies no se encuentran en México y en un momento determinado podrían obtener el estatus de plaga cuarentenaria. Por lo anterior, se optó por ingresar el lugar descrito en la etiqueta (nombre de la localidad y/o país) en el apartado "*Características de la plaga-Procedencia de la muestra-País de origen*", debido a que no se tiene la certeza de que esta información correspondiera al sitio de colecta o al sitio donde fue procesada la muestra y en el módulo "*Información geográfica*" los campos quedaron como "ND". En el catálogo "*Tipo nomenclatural*" se realizaron las altas de dos tipos: *Patotipo* y *Topotipodebido*

a que algunos registros presentaba alguna de estas categorías agregándose dentro del código de nomenclatura y asociándose al ejemplar correspondiente. De esta manera, se conservó la información original de las preparaciones. En “*Información asociada/Características de la plaga y Características de la muestra*” únicamente se capturaron datos en las opciones “*Datos de la muestra/Hospedero*”, “*Procedencia de la muestra/Internacional/País de origen*” y en “*Características de la muestra /Número total de laminillas de muestra*”.

Los materiales en comento, fueron elaborados décadas atrás y se identificaron en base a la clasificación taxonómica válida en ese momento. Especies como *Heterodera pallida*, *H. rostochiensis*, *H. weissi*, *Meloidogyne mayaguensis* y *Xiphinema mediterraneum* presentan esta situación, sin embargo, actualmente y con el desarrollo de las metodologías de observación modernas y los análisis moleculares, los nombres válidos de estas especies son: *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, *Cactodera weissi* y *X. pachtaicum*, respectivamente (Subbotin *et al.*, 2010; Siddiqi, 2000; Karssen *et al.*, 2012; Hunt, 1993) pero con el objeto de otorgar el reconocimiento a los taxónomos quienes identificaron estos materiales, los nombres originales fueron conservados realizándose la aclaración en la carpeta: *Nomenclatural-Nombre taxonómico* de la base de datos en donde se aclaró que los nombres son sinónimos válidos para cada una de las especies en cuestión. Estas preparaciones no fueron validadas por los Drs. Mundo-Ocampo y Nava Díaz debido a que las determinaciones de las especies fueron realizadas por taxónomos especialistas y la restauración fue realizada únicamente a los materiales que lo requirieron.

Se integraron a la base de datos 92 “registros” correspondientes a 59 especies, 795 individuos y se generaron 16 imágenes digitales correspondientes a *Aphelenchoides besseyi*, *Globodera pallida*, *Xiphinema bakeri*, *Xiphinema diversicaudatum* y *Xiphinema index*. Estas imágenes fueron obtenidas y procesadas por la Biol. Fany Carranza de la Rosa.

La relación de especies por donación es la siguiente:

- |   |   |
|---|---|
| 1. <i>Aphelenchoides besseyi</i> *      | 25. <i>Heterodera urticae</i>           |
| 2. <i>Aphelenchoides blastophthorus</i> | 26. <i>Heterodera weissi</i> syn        |
| 3. <i>Aphelenchoides fragariae</i> *    | 27. <i>Longidorus africanus</i> *       |
| 4. <i>Aphelenchoides hamatus</i>        | 28. <i>Longidorus bififormis</i> *      |
| 5. <i>Aphelenchoides nechaleos</i>      | 29. <i>Longidorus breviannulatus</i>    |
| 6. <i>Aphelenchoides paranechaleos</i>  | 30. <i>Longidorus crassus</i>           |
| 7. <i>Aphelenchoides varicaudatus</i>   | 31.                                     |
| 8. <i>Belonolaimus longicaudatus</i> *  | 32. <i>Longidorus diadecturus</i>       |
| 9. <i>Bursaphelenchus mucronatus</i>    | 33. <i>Longidorus elongatus</i> *       |
| 10. <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> * | 34. <i>Longidorus fragilis</i>          |
| 11. <i>Ditylenchus destructor</i>       | 35. <i>Longidorus grandis</i> *         |
| 12. <i>Globodera pallida</i> *          | 36. <i>Longidorus paralongicaudatum</i> |
| 13. <i>Globodera rostochiensis</i>      | 37. <i>Longidorus pisi</i>              |
| 14. <i>Globodera t. solacearum</i>      | 38. <i>Longidorus taniwha</i>           |
| 15. <i>Heterodera pallida</i> syn       | 39. <i>Meloidogyne mayaguensis</i> syn  |
| 16. <i>Heterodera avenae</i> *          | 40. <i>Pratylenchus brachyurus</i>      |
| 17. <i>Heterodera fici</i>              | 41. <i>Pratylenchus coffeae</i> *       |
| 18. <i>Heterodera geottingiana</i>      | 42. <i>Pratylenchus hexincisus</i> *    |
| 19. <i>Heterodera iri</i>               | 43. <i>Pratylenchus penetrans</i>       |
| 20. <i>Heterodera latipons</i>          | 44. <i>Pratylenchus scribneri</i> *     |
| 21. <i>Heterodera rosii</i>             | 45. <i>Pratylenchus vulnus</i>          |
| 22. <i>Heterodera rostochiensis</i> syn | 46. <i>Pratylenchus zaeae</i> *         |
| 23. <i>Heterodera trifolii</i>          | 47. <i>Punctodera punctata</i> *        |
| 24. <i>Heterodera schachtii</i> *       | 48. <i>Radopholus similis</i> *         |

49. *Xiphinema bakeri*\*  
50. *Xiphinema chambersi*  
51. *Xiphinema diversicaudatum*\*  
52. *Xiphinema elongatum*  
53. *Xiphinema index*\*  
54. *Xiphinema ingens*

55. *Xiphinema insigne*  
56. *Xiphinema italiae*\*  
57. *Xiphinema krugi*  
58. *Xiphinema mediterraneum syn*  
59. *Xiphinema pseudocoxi*  
60. *Xiphinema vuittenezi*

**\*Especies cuarentenarias para México.**

Por ello, considerando el material generado por el propio laboratorio, producto de las detecciones en muestras nacionales e internaciones y lo recibido por donación de investigadores reconocidos, la CNRF-N cuenta actualmente con un total de 798 registros, 2,111 individuos correspondientes a 25 géneros, 90 especies y 3 subespecies (*G. tabacum tabacum*, *G. t. solanacerarum* y *G. t. virginiae*) y 201 imágenes digitales.

## **6. CONCLUSIONES**

En México, a nuestro saber, no existe hoy día una colección digitalizada de nematodos de importancia agrícola como la establecida por el CNRF con ayuda de la CONABIO. Una de las grandes virtudes de esta colección es que parte de ella está digitalizada, sin embargo, también cuenta con materiales preservados con formaldehído al 4%, nematodos enquistados en frascos y material clonado (DNA).

La realización y culminación del presente trabajo establece la pauta para dar a conocer, facilitar la identificación y comparación de manera digital y difundir el conocimiento de la biodiversidad de los nematodos en nuestro país y sus interacciones con las plantas de interés agrícola.

La conformación de la CNRF-N permite la difusión del conocimiento de estos organismos con lo cual se facilitará que más investigadores trabajen este grupo de fitopatógenos generando información que contribuyan con su manejo para aumentar la productividad agrícola de nuestro país.

## **7. RECOMENDACIONES**

El logro de la digitalización de la CNRF-N es una meta cumplida del presente proyecto, sin embargo, en este tipo de colecciones y para que los materiales se conserven en condiciones adecuadas con el paso de los años, se deben realizar diversas actividades de mantenimiento constantes (curatoriales) que comprenden la revisión periódica de las preparaciones para verificar que no exista desecación del medio de montaje, surgimiento de burbujas de aire dentro de la glicerina, entre otros detalles. Así mismo, se requiere de personal que atienda las solicitudes de imágenes y materiales contenidas y es necesario realizar el enriquecimiento de la misma mediante el ingreso constante de registros para acrecentar el acervo y su valor científico.

Debido a la importancia de la realización de labores curatoriales sobre esta colección y a la necesidad de que tales actividades sean realizadas por personal capacitado y calificado, se presentarán los resultados de este proyecto al Director General de Sanidad Vegetal con la finalidad de solicitar su apoyo y anuencia para contar con personal que atienda estas labores específicas.

Es importante resaltar que la continuidad de este trabajo es responsabilidad de todos los sectores involucrados en la actividad agrícola productiva debido a la relación que existe con la conservación de la biodiversidad en México, considerado como uno de los 10 países megadiversos del mundo.

## 8. BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA

1. Decraemer, W. 1995. The family Trichodoridae: Stubby root and virus vector nematodes. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 360 p.
2. De Ley, P. & Blaxter, M. L. 2004. A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. *Nematology Monographs & Perspectives*. Vol. 2: 633-653.
3. Flores, C. S. 1985. "Concepción histórica del desarrollo de la fitosanidad en México". México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, volumen 3, número 1.
4. Hodda, M. 2011. Phylum Nematoda Cobb, 1932. In: Zhang, Z.-Q. (Ed.) *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. *Zootaxa*, 3148, 63-95.
5. Hooper, D. J. & Ibrahim, S. K. 1994. *Aphelenchoides nechaleos* n. sp. and *A. paranachaleos* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) from rice plants. *Fundam. appl. Nematol.*, 17 (2), 153-160.
6. Hunt, J. D. 1993. Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae. Their Systematics and Bionomics. CAB International. Wallingford, UK. 352p.
7. Ibrahim, S.K. and Hooper, D.J. 1994. *Aphelenchoides varicaudatus* sp. N. (Nematode: Aphelenchoididae). *Afro-Asian Journal of Nematology*. Vol. 4, No. 2: 210-214.
8. Karssen, G., Liao, J., Kan, Z., van Heese, EYJ, des Nijs, LJMF. 2012. On the species status of the root-knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* Rammah & Hirschmann, 1998. *ZooKeys* 181:67-77. doi:10.3897/zookeys.181.2787.
9. Luna, P. R., Castañón, B. A. y Raz-Guzman, A. La biodiversidad en México su conservación y las colecciones biológicas. *Ciencias No. 101*. Enero-Marzo 2011. *Revista*. Págs. 36-43.
10. Perry, R. N, Moens, M. and J. L. Starr. 2009. Root-knot nematodes. CABI Publishing. Wallingford, UK. 488 pp.
11. Rodríguez, V. J. 2000. La historia de la fitosanidad en México. Siglo XX. México.
12. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1978. Informe de labores del primero de septiembre de 1978 al 31 de agosto de 1978. México. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos-Dirección General de Información y Relaciones Públicas, 370pp.
13. Shurtleff, M. C. and C. W. Averre. 2000. *Diagnosis plant diseases caused by nematodes*. APS PRESS. USA. 187 p. Siddiqi, M. R. 2000. *Tylenchida: Parasites of Plants and Insects*, 2nd edition. CABI publishing, St. Albans, UK. 883p.
14. Subbotin, S. A., Mundo-Ocampo, M. and J.G. Baldwin. 2010. Systematics of Cyst Nematodes (Nematoda: Heteroderinae), Volume 8 Part A, B (Monographs and Perspectives), BRILL.
15. Thorne, G. 1961. *Principles of Nematology*. McGraw-Hill Book Company, Inc. USA. 553p.
16. Ye, W. & Robbins R. T. 2003. *Longidorus grandis* n. sp. and *L. paralongicaudatus* n. sp. (Nematoda: Longidoridae), two parthenogenetic species from Arkansas. *Journal of Nematology* 35(4): 375-387.
17. Ye, W. & Robbins R. T. 2004. *Longidorus biformis* n. sp. and *L. glycines* n. sp. (Nematoda: Longidoridae), two amphimictic species from Arkansas. *Journal of Nematology* 36(1): 1-13.

## ANEXO FOTOGRÁFICO



**Figuras:** **a.** Equipo de trabajo del proyecto JC007, de izquierda a derecha: Ing. Leonel Rosas Hernández, Biol. Diego Alberto Martínez Cano, Biol. Fany Carranza de la Rosa y Biol. Antonio Sánchez Gamboa. *Taxónomos especialistas:* **b.** Dr. Manuel Mundo Ocampo y **c.** Dr. Cristian Nava Díaz; **d y e.** Utensilios y materiales para restauración de laminillas; **f.** Corte perineal; **g.** Corte fenestral; **h.** Estado original de laminillas de colección; **i.** Estado posterior a restauración; **j.** Detalle de etiquetado de laminillas, y **k.** Vista de gabinetes para almacen y resguardo de preparaciones.