

ARTICULOS

ESPECIES Y RAZAS DE *Meloidogyne* PREDOMINANTES EN LA COSTA DE HERMOSILLO Y CAMBIOS HISTOLOGICOS CAUSADOS POR *M. javanica* (Treub) Chitwood EN VID*

José Alfonso RAMIREZ ARREDONDO ¹
Ignacio CID DEL PRADO VERA ²
Daniel TELIZ ORTIZ ²
Emma ZAVALETA MEJIA ²

RESUMEN

El nematodo *Meloidogyne* spp es un patógeno que causa daños de importancia económica en viñedos de la Costa de Hermosillo, Sonora. Por tal razón, a través de esta investigación se pretendió por principio identificar las especies y razas de *Meloidogyne* presentes en vid en este Valle y en seguida determinar los cambios histológicos ocasionados específicamente por *M. javanica* (Treub) Chitwood en la variedad Carignane y cuatro portainjertos de vid.

Para cumplir ambos objetivos, durante la primavera e invierno de 1988 se realizaron muestreos de *Meloidogyne* spp en viñedos de la Costa de Hermosillo y la identificación se hizo con patrones perineales y con plantas diferenciales. Asimismo, se observaron los cambios histológicos inducidos por *M. javanica* en raíces de los genotipos Carignane, Hoppenehim, Kobber, Dogrigde y Couderc 1613.

Las especies y razas del nematodo identificadas fueron: *M. incognita* (Kafoid y White) Chitwood raza 1; *M. arenaria* (Neal) Chitwood raza 1 y *M. javanica*. Los cambios histológicos ocasionados por *M. javanica* en vid consistieron en células agigantadas en el floema y xilema; las células con hipertrofia presentaron paredes gruesas, citoplasma denso y varios núcleos. Las raíces mostraron hiperplasia alrededor de las células con hipertrofia. *M. javanica* causó mayor hiperplasia e hipertrofia en raíces de Carignane que en los portainjertos Hoppenehim, Kobber, Dogrigde y Couderc 1613.

* *Este artículo, enviado al Comité Editorial Agrícola del INIFAP el 22 de agosto de 1994, es parte de la tesis presentada por el primer autor para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Fitopatología en el Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México.*

¹ M.C. Investigador del Programa de Fitopatología. C.E. "Valle del Mayo", Sonora.

² Ph.D. Profesores Investigadores del Colegio de Postgraduados.

SUMMARY

The nematode *Meloidogyne* spp is an important economic pest on vineyards in Coast area of Hermosillo, México. The objectives of this research were to identify species and races of *Meloidogyne* on grapevine in this Valley and determine histological changes caused by *M. javanica* on Carignane variety and four grapevine rootstocks.

Several vineyard in the Hermosillo Coast, Sonora, México were sampled to identify species of root-knot nematode during spring and winter of 1988. Histological alterations induced by *M. javanica* were investigated in roots of Carignane variety and Kobber, Hoppenheim, Dogridge and Couderc 1613 grapevine rootstocks.

The species and races identified by perineal patterns and differential hosts were *Meloidogyne incognita* race 1, *M. arenaria* race 1 and *M. javanica*. Histological changes caused by *M. javanica* on grapevine consisted a giant cells near or between vascular tissues. The cells with hyperthrophy presented gross wall, dense cytoplasm and several nucleus. The roots presented also hiperplasia around at the cells with hyperthrophy. *M. javanica* caused a higher hiperplasia and hyperthrophy in roots of Carignane than in Hoppenheim, Kobber, Dodridge and Couderc 1613 rootstocks.

INTRODUCCION

La vid es el frutal de mayor importancia en la Costa de Hermosillo, Sonora, con una superficie de 10,500 ha. Los cultivares establecidos son: Carignane, Perlette, Cardinal, Thompson Seedless y Flame Seedless. Estos cultivares son susceptibles al ataque del nematodo *Meloidogyne* spp, el cual se encuentra distribuido ampliamente en ésta y otras regiones del mundo como son California (E.U.A.), Australia y Egipto.

La identificación de las especies de patógenos presentes en una región, así como las pruebas de patogenicidad, son las fases previas de investigación en la búsqueda de alternativas de control genético. Basado en lo anterior, este trabajo persiguió los siguientes objetivos: 1) identificar las especies y razas de *Meloidogyne* presentes en viñedos de la Costa de Hermosillo; y 2) conocer los cambios histológicos que induce la especie y raza predominante de *Meloidogyne* en cinco genotipos de vid.

REVISION DE LITERATURA

Eisenback *et al.* (3) en 1983 consignaron que se han descrito 45 especies de *Meloidogyne*, de las cuales *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* y *M. hapla* son las cuatro especies más comunes en el mundo.

Esser *et al.* (4) en 1976 lograron identificar 35 especies de *Meloidogyne* con base en las características anatómicas y morfológicas de las hembras adultas, tales como: modelos perineales, distancia de la posición del poro excretor al estilete y longitud del estilete.

Eisenback *et al.* (2) en 1980, al comparar también la morfología de los patrones perineales, el estilete y la estructura de la cabeza de las hembras de *Meloidogyne hapla* razas A y B, *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* en el microscopio de luz (ML) y en el microscopio electrónico de rastreo (MER), observaron que la morfología de los patrones perineales fueron similares en ambos microscopios; el MER reafirmó los detalles superficiales mientras que el ML reveló la estructura subcuticular. Las características del estilete fueron diferentes para todas las especies pero similares entre las razas de *M. hapla*. Encontraron además diferencias entre las cuatro especies en cuanto a la forma del cono, nódulos y distancia de la desembocadura de la glándula esofágico dorsal a la base de los nódulos.

MATERIALES Y METODOS

Este trabajo, realizado en los invernaderos y laboratorios del Centro de Fitopatología del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Edo. de México, se inició con un muestreo en abril de 1988 de seis viñedos comerciales situados en Perico, Navolato, Orebalma, Tepeyac, San Antonio y Campo Experimental "Costa de Hermosillo" (CECH), Sonora, que se sabía estaban infestados por *Meloidogyne* spp. Se colectaron 100 g de raíces agalladas tomados de varias parras situadas en diferentes puntos de cada viñedo. En los primeros cuatro viñedos, durante diciembre de 1988 se realizó un segundo muestreo para confirmar resultados sobre especies de *Meloidogyne* identificadas por cortes perineales en el primer muestreo y obtener poblaciones de *Meloidogyne* directamente de las raíces de vid e inocularlas a las plantas de variedades diferenciales.

Los huevecillos y larvas de *Meloidogyne* spp presentes en las raíces de vid agalladas se extrajeron a través de la técnica de agitación, con agitadora eléctrica y tamizado.

El incremento de las seis poblaciones de *Meloidogyne* spp obtenidas en el primer muestreo se hizo en plantas de tomate variedad ACE 55, las cuales se sembraron y desarrollaron en suelo desinfectado con bromuro de metilo.

Identificación de especies y razas de Meloidogyne.

La identificación de especies de *Meloidogyne* a través de modelos perineales se realizó en hembras adultas extraídas de raíces de plantas de tomate ACE 55. La tinción de las raíces se logró al hervir los fragmentos durante tres minutos en una solución de glicerina, ácido láctico y solución acuosa de Fuccina ácida al 0.05% en proporciones iguales. Para su aclareo, las raíces se conservaron en una solución de glicerina y agua destilada en proporciones iguales.

Las plantas diferenciales de tabaco NC 95, cacahuate Florunner, chile California Wonder, algodón Deltapine 61, sandía Charleston Gray y tomate ACE 55, se sembraron el 28 de noviembre de 1988 en vasos de poliuretano de 0.5 litro de capacidad, que contenían arena esterilizada en autoclave a 15 lb/pulg² (1.0545 kg/cm²) y 120 °C durante 45 minutos. Las plantas diferenciales fueron inoculadas a los 35 días después de la siembra, con las poblaciones de *Meloidogyne* spp extraídas directamente de los viñedos de Perico, Navolato, Orebalma y Tepeyac durante el segundo muestreo. Las seis variedades diferenciales se inocularon en tres repeticiones, utilizando 3 ml de suspensión que contenía huevecillos de *Meloidogyne* en cantidades de: 550, 400, 250 y 200 huevecillos por planta diferencial de las poblaciones provenientes de los viñedos de Navolato, Perico, Orebalma y Tepeyac, respectivamente. La respuesta de las variedades diferenciales a la inoculación de las cuatro poblaciones de *Meloidogyne* spp se evaluó a los 160 días.

Cambios histológicos causados por Meloidogyne javanica en vid.

Para conocer los cambios histológicos que *Meloidogyne javanica* provoca en vid, se colectaron raíces agalladas y sanas del testigo Carignane y de los portainjertos Hoppenehim, Kobber, Dogrigde y Couderc 1613. Las raíces muestreadas se fragmentaron en trozos de 1 cm de longitud, se pusieron en frascos de vidrio de 20 ml y se les adicionó 5 ml de solución fijadora Craff III.

Para la inclusión de los tejidos, los fragmentos de raíces se sacaron de la solución fijadora y se transportaron al cambiador automático, donde permanecieron por tres horas en cada solución, que fueron en total 11. Posteriormente se quitaron de ahí y se acomodaron en posición vertical y horizontal dentro de moldes de aluminio que contenían parafina caliente, la cual se dejó enfriar y así formar fracciones regulares de alrededor de 1 cm³. Por último, estas fracciones se montaron en trozos de madera para poder cortarlos con microtomo. Se realizaron en total 403 cortes perineales.

Los cortes longitudinales y transversales tuvieron un grosor de 12 micras y se colocaron en portaobjetos a los que previamente se les puso adhesivo de Haupt más una gota de formol al 10%. Para estirar los cortes, éstos se calentaron en una plancha a temperatura de 50 °C, después se quitaron de ahí y se dejaron inclinados durante 20 minutos para eliminar el exceso de formol.

Para la tinción de los cortes se empleó la técnica de Johansen modificada por Castillo y Marban (1) en 1984. Los cortes una vez teñidos se montaron en resina sintética para observarlos en el microscopio.

RESULTADOS Y DISCUSION

Identificación de especies y razas de *Meloidogyne*

Mediante los cortes perineales se identificaron las especies *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria*, cuya proporción en porcentaje respecto del total de cortes realizados por cada uno de los viñedos muestreados se incluye en el Cuadro 1.

CUADRO 1. PROPORCION (%) DE TRES ESPECIES DE *Meloidogyne* IDENTIFICADAS A TRAVES DE MODELOS PERINEALES EN VIÑEDOS DE LA COSTA DE HERMOSILLO. CHAPINGO, 1989.

Viñedo	Núm. cortes	Especie		
		<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	<i>M. arenaria</i>
Orebalma	84	63.0	26.0	10.7
Perico	79	74.6	22.7	2.5
Navolato	71	42.2	22.5	35.1
San Antonio	60	68.3	8.3	23.2
Costa de Hermosillo	55	5.4	94.5	0.0
Tepeyac	54	16.6	75.9	7.3
Promedio (%)		45.0	41.6	13.0

El modelo perineal que resultó más común en una proporción del 45% (Cuadro 1), presentó un arco dorsal alto en forma cuadrada o de trapecio, con las líneas laterales poco visibles que no cortaban a las líneas longitudinales. Además se encontraron algunos modelos con líneas longitudinales que presentaban bifurcaciones y ondulaciones ligeras en las partes laterales. Las características anteriores coinciden con las citadas para *Meloidogyne incognita* por Eisenback *et al.* (3) en 1983, Esser *et al.* (4), en 1976 y Taylor y Sasser (9) en 1978.

El patrón perineal que figuró en segundo lugar en una proporción de 41.6% (Cuadro 1), presentó el arco dorsal alto en forma de trapecio o bajo en forma redondeada, pero siempre con las líneas laterales bien definidas, las cuales cortaban completamente las líneas longitudinales. Esta segunda característica es exclusiva de *Meloidogyne javanica*, según lo especificaron los autores anteriormente citados.

El tercer modelo perineal caracterizado se encontró sólo en el 13.0% del total de modelos revisados (Cuadro 1), y constó de arco dorsal bajo y redondeado, con líneas longitudinales fuertemente onduladas en las partes laterales y en ocasiones demasiado prolongadas, que llegaban a formar una o dos alas laterales. Además, en las áreas de ondulaciones las líneas longitudinales presentaban bifurcaciones fuertes. Estas características, de acuerdo con lo expresado por los mismos investigadores ya mencionados, corresponden a *Meloidogyne arenaria*.

En cuanto a la respuesta diferencial de plantas al ataque del nematodo, se observó abundante agallamiento por *Meloidogyne* spp en tabaco NC 95, sandía Charleston Gray y tomate ACE 55. Fue escaso el agallamiento en chile California Wonder y cacahuate Florunner, mientras que en raíces de algodón Deltapine 61 no se observó agallamiento (Cuadro 2).

Con base en los resultados obtenidos en pruebas de variedades diferenciales, Taylor y Sasser (9) en 1978 y Eisenback *et al.* (3) en 1983, indicaron que son tres especies y tres razas de *Meloidogyne* las que atacan al cultivo de la vid en la Costa de Hermosillo. Dichos resultados se presentan en el Cuadro 3.

Según comentaron Stirling y Cirami (8) en 1984, las tres especies y tres razas de *Meloidogyne* que aparecen en el Cuadro 3 han sido también respectivamente identificadas con base en estudios morfológicos y pruebas de plantas diferenciales en vid en Australia.

La identificación de las especies *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria* en viñedos de la Costa de Hermosillo a nivel regional, coinciden con los resultados de otras investigaciones basadas también en cortes perineales, dados a conocer por Ramírez y Jiménez (7) en 1987, y Ramírez (6) en 1989.

CUADRO 2. RESPUESTA DIFERENCIAL DE SEIS ESPECIES AGRICOLAS A CUATRO POBLACIONES DE *Meloidogyne* spp PROVENIENTES DE RAICES AGALLADAS DE VID DE LA COSTA DE HERMOSILLO. 1989.

Viñedo	Especie diferencial					
	Tabaco	Algodón	Chile	Sandía	Cacahuete	Tomate
Perico	+	-	+ -	+	-	+
Navolato	+	-	-	+	+ -	+
Orebalma	+	-	+ -	+	-	+
Tepeyac	+	-	-	+	-	+

+ Respuesta positiva con agallamiento abundante

+ - Respuesta positiva con pocas (4-6) agallas

- Respuesta negativa sin agallas

CUADRO 3. ESPECIES Y RAZAS DE *Meloidogyne* IDENTIFICADAS MEDIANTE VARIETADES DIFERENCIALES (Taylor y Sasser, 1978) EN CUATRO VIÑEDOS DE LA COSTA DE HERMOSILLO. 1989.

Viñedo	Especie		
	<i>M. javanica</i>	<i>M. incognita</i>	<i>M. arenaria</i>
	Unica raza	Raza I	Raza I
Perico	+	+	
Navolato	+		+
Orebalma	+	+	
Tepeyac	+		

Cambios histológicos causados por M. javanica en vid

Mediante los cortes histológicos se observó que *M. javanica* se estableció en células del floema y xilema, por lo que provocó una desorganización de los tejidos conductores, los cuales aparecían curvados debido a la presencia de células hipertrofiadas que tenían la función de alimentar al nematodo; estas células mostraban un mayor tamaño, pared gruesa, citoplasma denso y muchos núcleos.

El grupo de células agigantadas varió de 4 a 7. En el cultivar Carignane se tuvieron grupos hasta de siete células y en el portainjerto Hoppenehim, que resultó susceptible a *M. javanica*, se encontraron grupos de cinco células hipertrofiadas. Asimismo, en el portainjerto Couderc 1613 se observaron grupos de cuatro células agigantadas, mientras que en los portainjertos Kobber y Dogrigde no se observaron células agigantadas alrededor del nematodo.

El tamaño de las células con hipertrofia también fue variable, de modo que mientras en la variedad Carignane se distinguieron con el objetivo 10X, en los portainjertos Hoppenehim y Couderc 1613 se requirió para verlos el objetivo 16X; en cambio, fue imposible distinguirlos aun con el objetivo 40X en los portainjertos Kobber y Dogrigde. La hiperplasia e hipertrofia que se observó histológicamente coincide con los resultados publicados por Hafez *et al.* (5) en 1981, quienes encontraron estos mismos cambios en raíces del cultivar Thompson Seedles inoculado con *M. incognita*.

CONCLUSIONES

1. Las especies de *Meloidogyne* identificadas a través de modelos perineales en viñedos de la Costa de Hermosillo fueron: *M. javanica*, *M. incognita* y *M. arenaria*.
2. Las especies y razas de *Meloidogyne* identificadas por la reacción de variedades diferenciales fueron: *M. javanica* raza única, *M. incognita* raza I y *M. arenaria* raza I.
3. *M. javanica* ocasionó hiperplasia e hipertrofia en raíces de vid.

4. El grupo de células con hipertrofia causada por *M. javanica* en los genotipos Carignane, Hoppenehim y Courdec 1613 fue de 7, 5 y 4 células, respectivamente.

LITERATURA CITADA

1. Castillo, P.G. y Marbán, M.N. 1984. Histología y desarrollo de *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen 1944 en raíces de *Capsicum annuum* y *C. baccatum*. *Agrociencia* . 56:85-93.
2. Eisenback, J.D., H. Hirschmann, and A.C. Triantaphyllou. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns and stylets. *J. Nematology* 12: 300-313.
3. _____, H. Hirschmann, J.N. Sasser, and A.C. Triantaphyllou. 1983. *Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nematodo agallador (Meloidogyneespecies)*. International Meloidogyne Project. Raleigh, North Carolina. Traducida al español por C. Sosa Moss. 48 p.
4. Esser, R.P., V.G. Perry, and A.L. Taylor. 1976. A diagnostic compendium of the genus *Meloidogyne* (Nematoda:Heteroderidae). *Proceedings of the Helminthological Society*. 43: 138.
5. Hafez, S.F., D.J. Raski, and A.M. Kheir, 1981. Effect of inoculum levels of *Meloidogyne incognita* on thompson seedles grapevine. *J. Nematology*. 13: 442.
6. Ramírez Arredondo, J.A. 1989. *Cuantificación de nematodos fitoparásitos importantes en viñedos comerciales de la Costa de Hermosillo, Sonora*. En: Memorias XVI Congreso Nacional de Fitopatología. Montecillos, México, p. 82.
7. _____ y L.M. Jiménez. 1987. *Identificación y cuantificación de nematodos fitoparásitos asociados a la vid en la Costa de Hermosillo, Sonora*. En: Memorias XIV Congreso Nacional de Fitopatología, Morelia, Michoacán. p. 134.
8. Stirling, G.A., and R.M. Cirami 1984. Resistance and tolerance of grape root stocks to south Australian populations of root-knot nematode. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 24: 277-282.
9. Taylor, A.L., and J.N. Sasser. 1978. *Biology, Identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. A cooperative publication of the Department of Plant Pathology, North Carolina State University and the United States Agency for International Development. North Carolina State Graphics, Raleigh, N.C. 111 p.