

Sección de Fitopatología, D.T. Agricultura - Apartado 61
Salamanca - España
Instituto de Edafología y Biología Vegetal - C.S.I.C.
28006 Madrid - España

HONGOS PARASITOS DE QUISTES Y HUEVOS DE *HETERODERA SCHACHTII* (NEMATODA: HETERODERIDAE) EN EL VALLE DEL DUERO

por

D.J. LOPEZ y M. DOLORES ROMERO

Resumen: Se han determinado los hongos que parasitan a quistes y huevos de *Heterodera schachtii* Schm., en tres localidades del Valle del Duero: Alconada y Encinas de Abajo (Salamanca) y Ventosa de la Cuesta (Valladolid). Mediante técnicas de cultivo artificial, se han aislado y determinado hongos en el 65% de los quistes y en el 29,5% de los huevos estudiados. Se destacan como hongos parásitos: *Acremonium strictum* W. Gams., *Cylindrocarpon destructans* (Zins.) Scholten, *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. y *Verticillium chlamydosporium* Goddard. *C. destructans* aparece en suelos con textura arcillosa. Se detecta la presencia de la enfermedad «oiliness» en huevos y estadios juveniles (J₂).

Summary. *Fungi parasite of cysts and eggs of Heterodera schachtii (Nematoda: Heteroderidae) in the Duero Valley.*

Eggs and cysts of *Heterodera schachtii* Schmidt were found to be parasitized with fungi in three populations of the nematode from Ventosa de la Cuesta, Alconada and Encinas de Abajo. 65% of cysts were infected and 29.5% of the eggs. The most frequently occurring parasites were *Acremonium strictum* W. Gams., *Cylindrocarpon destructans* (Zins.) Scholten, *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. and *Verticillium chlamydosporium* Goddard. *C. destructans* occurs in heavy clay soils. «Oiliness disease» was detected in eggs and second juvenile stages (J₂).

Los hongos parásitos de nematodos, se consideran agentes potencialmente útiles para el control biológico.

La importancia de muchos de estos hongos aislados de los quistes, estadios juveniles y huevos, es limitada, a causa de la baja frecuencia con la que aparecen en algunos casos, y en otros, a que son organismos sa-profitos en el suelo.

Existen citas en Europa y Estados Unidos de América, sobre la incidencia y distribución de estos hongos en poblaciones de *Heterodera schachtii* Schm. (Vinduska, 1979, 1982; Heijbroek, 1983; Nigh *et al.*, 1980, 1980a). Tribe (1977) los divide en dos grupos, aquellos que parasitan a hembras y los que lo hacen sobre huevos. Con una clasificación semejante, se pretende estudiar el espectro de hongos que son parásitos de quistes y huevos de la citada especie en algunas localidades productoras de remolacha (*Beta vulgaris* L.) del Valle del Duero. Se han determinado el porcentaje de quistes y de huevos parasitados por hongos, así como la incidencia con que aparecen cada uno de ellos.

Material y métodos

Se han seleccionado quistes de *H. schachtii* de tres focos de infestación: Ventosa de la Cuesta (Valladolid), y Alconada y Encinas de Abajo (Salamanca). De cada localidad se tomaron 10 muestras de 500 g cada una, a una profundidad comprendida entre 0 y 30 cm. El suelo se dejó secar al aire libre, y se extrajeron los quistes según la técnica de Fenwick (1952). A continuación se procedió a rehidratar los quistes con agua destilada estéril, a 23 ± 2°C durante 72 horas. Para eliminar las partículas adheridas a las paredes de los quistes, se procedió a su lavado (100 ml de agua y dos gotas de detergente líquido), y posteriores lavados con agua estéril. El total de quistes aislados 1200, se repartió en dos lotes: 600 para la determinación de los hongos en quistes y los 600 restantes para el estudio de los hongos en huevos. El procedimiento de extracción de huevos, fué mediante homogeneización de los quistes y pase a través de un tamiz de 150 µm, para retener las paredes rotas de los quistes, recogiendo los huevos en otro tamiz de 20 µm. De los 600 quistes, a 200 se les procedió a

esterilizar sus paredes mediante inmersión durante 3 min en 25 ml de Cl₂Hg al 0,1% con el fin de obtener un control esteril; 200 se colocaron en cámaras húmedas y los 200 restantes en medio de cultivo artificial en placa Petri.

Los huevos contenidos en los 600 quistes se repartieron en tres lotes, con el primero se procedió a su esterilización para utilizarlo como control estéril, mediante inmersión durante 2 min en H₂O₂ de 50 volúmenes, el segundo lote se colocó en cámara húmeda, y el tercero en medio de cultivo en placa Petri. Los medios de cultivo artificial usados fueron: harina de maíz-agar (CMA), avena-agar (OA), extracto de malta-agar (MEA), czapek-agar (CzA), patata-dextrosa-agar (PDA) y patata-sacarosa-agar (PSA), con temperaturas entre 20 y 26°C, según los requerimientos específicos de cada hongo. La determinación de los hongos se efectuó según Domsch *et al.*, (1980). De cada tipo de suelo se efectuaron análisis de textura.

Resultados

En las tablas I y II se exponen los resultados obtenidos en los muestreos efectuados sobre quistes y huevos, dándose para cada especie el porcentaje que se ha detectado. De los quistes estudiados, el 65% presentó

TABLA I - Hongos aislados de quistes de *Heterodera schachtii*

ESPECIES OBSERVADAS	Cámara húmeda y medio de cultivo (a) X %
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht	15,4
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb, ex Link) Lind	11,2
<i>Verticillium chlamydosporium</i> Goddard	8,3
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	7,8
<i>Cylindrocarpon destructans</i> (Zins.) Scholten	6,4
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex Gray	2,7
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	2,5
<i>Phythium ultimum</i> Trow	2,3
<i>Penicillium decumbens</i> Thom	2,2
<i>Aspergillus alutaceus</i> Berk. et Curt	1,6
<i>Penicillium variabile</i> Sopp	1,4
<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi	1,2
Bacterias	17,0
Quistes libres de crecimiento de hongos y bacterias	18,0
Hongos no determinados (micelio estéril)	2,0

(a) Ningún microorganismo fué aislado de los controles estériles.

crecimiento de hongos, el 17% crecimiento de colonias bacterianas, apareciendo un 18% solamente de quistes libres de hongos y bacterias; un 2% de los hongos no fué determinado. El hongo con mayor % de presencia fué *Fusarium oxysporum*, seguido de *Rhizopus stolonifer*, *Verticillium chlamydosporium* y *Fusarium solani*.

De los huevos estudiados se aislaron hongos en el 29,5% de los casos, el 12,7% presentó crecimiento bacteriano, no se determinaron el 3,5% de los hongos, permaneciendo un 57,8% de huevos sin crecimiento de hongos o bacterias. En huevos, el hongo con mayor frecuencia de aparición fué *F. oxysporum* (Fig. 1A), seguido de *V. chlamydosporium*, *F. solani* y *C. destructans*.

En un tanto por ciento elevado de los huevos y estadios juveniles (J₂) se han observado ejemplares con gotas en su interior de aspecto grasiento (Fig. 1B), fenómeno descrito por Tribe (1977) con el nombre de «oiliness» y cuyo agente causal es desconocido, Heijbroek (1983) también cita su presencia en Holanda, indicando que puede llegar a degenerar totalmente el contenido del quiste.

La especie *C. destructans*, aparece casi de forma exclusiva en la localidad de Ventosa de la Cuesta sobre suelos frios con textura arcillosa, no apareciendo sobre suelos con texturas areno-limosa o arenosa de las localidades de Alconada o Encinas de Abajo.

TABLA II - Hongos aislados de huevos de *Heterodera schachtii*

ESPECIES OBSERVADAS	Cámara húmeda y medio de cultivo (a) X %
<i>Fusarium oxysporum</i>	7,5
<i>Verticillium chlamydosporium</i>	3,6
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	3,4
<i>Fusarium solani</i>	3,3
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams	3,2
<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze ex Pers.) Wilts	2,5
<i>Alternaria alternata</i>	2,1
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0,3
<i>Penicillium decumbens</i>	0,1
Bacterias	12,7
Huevos libres de crecimiento de hongos y bacterias	57,8
Hongos no determinados (micelio estéril)	3,5

(a) Ningún microorganismo fué aislado de los controles estériles.

