

OBSERVACIONES SOBRE LA MORFOLOGIA DE *MELOIDOGYNE EXIGUA* CON EL MICROSCOPIO ELECTRONICO DE RASTREO

Róger López Ch.

Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

Aceptado:

8.III.1985

Accepted:

## RESUMEN

López, Róger. 1985. Observaciones sobre la morfología de *Meloidogyne exigua* con el microscopio electrónico de rastreo. Nematropica 15:27-36.

Se estudió la morfología de machos y hembras de dos poblaciones costarricenses del nematodo formador de agallas radicales del cafeto, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, con el microscopio electrónico de rastreo. Las hembras de ambas poblaciones mostraban un disco labial redondeado y relativamente pequeño, con aberturas anfídiales rectangulares a sus lados, labios laterales visibles y labios medios grandes, semicirculares. Con alguna frecuencia los labios medios estaban fusionados con la región cefálica. Los diseños perineales eran ovalados, con estrías gruesas generalmente continuas, pero interrumpidas a la altura del ano; la vulva era típicamente hundida. Los machos de una de las poblaciones presentaban un disco labial grande, ligeramente ovalado, en cuyo centro estaba el estoma en forma de una rendija hundida. Los labios medios eran asimétricos y estaban separados en su parte media por una leve constricción, mientras que los labios laterales eran trapezoidales o casi triangulares. La región cefálica presentaba un solo anillo. Los machos de la otra población tenían características similares, excepto que la constricción que separaba los labios medios era más acentuada, sobre todo en el labio del lado dorsal. Los campos laterales se iniciaban con dos incisuras localizadas a 5-8 anillos después de la región cefálica; posteriormente aparecían dos nuevas incisuras en el medio. Los anillos atravesaban los campos laterales, produciendo la areolación de los mismos. Los fasmidios se abrían al exterior por medio de poros, en la región caudal. Las espículas presentaban un orificio circular en las puntas. En ambas poblaciones se encontraron machos con el cuerpo torcido y otros sin ninguna torcedura.

*Palabras claves adicionales:* taxonomía, cafeto, agallas radicales.

## ABSTRACT

López, Róger. 1985. Observations on the morphology of *Meloidogyne exigua* with the scanning electron microscope. Nematropica 15:27-36.

Males and females of two Costa Rican populations of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, were observed with the scanning electron microscope. Females from both populations had a relatively small and rounded labial disc, with almost rectangular amphidial openings, distinct lateral lips and semicircular, large medial lips. The medial lips were often fused to the cephalic region. The perineal patterns were oval, with thick striae, usually continuous, but interrupted at the anus level. The vulva was typically sunken. Males from one population had a large, oval labial disc, with the stoma

as a sunken, slit-like opening in the middle. The medial lips were asymmetrical and had indentations in the middle, whereas the lateral lips were trapezoidal or almost triangular. The cephalic region had one annule only. Males from the other population were similar, except that the indentations in the medial lips were more pronounced, especially on the dorsal side. Lateral fields began as two incisures located 5-8 annules behind the cephalic region, but two new inner incisures appeared shortly thereafter. Phasmids opened through pores in the caudal region. Spicules had pores on their tips. Males with twisted and untwisted bodies were observed in each population.

*Additional key words: taxonomy, coffee, root-knot.*

---

## INTRODUCCION

La utilidad del microscopio electrónico de rastreo (MER) en la taxonomía de los nematodos ha sido tratada a profundidad recientemente (5), debido a que con este aparato se logra obtener imágenes fáciles de interpretar, puede ser operado bajo una gran amplitud de aumentos, tiene una profundidad de campo 300-500 veces mayor que la de un microscopio de luz transmitida, y la gran variedad de movimientos de la plataforma en que se ponen los especímenes, hace factible observarlos y tomarles fotografías desde numerosos ángulos (10). Todo esto permite una mejor interpretación de los rasgos microtopográficos (5).

Por otra parte, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, es una de las especies de este importante género de nematodos que se encuentra ampliamente diseminada en Costa Rica, afectando al café (*Coffea arabica* L.) en localidades como Turrialba, Ujarrás, Valle de El General, Volcán de Buenos Aires, Puriscal, Sarchí, Santo Domingo de Heredia y San Josecito de Alajuela. Dada la importancia de este nematodo en Costa Rica, se consideró pertinente realizar este estudio, que tuvo como objetivo hacer observaciones con el MER de la morfología externa de machos y hembras de dos poblaciones de *M. exigua*. Estas poblaciones ya habían sido previamente caracterizadas como diferentes por morfometría, respuesta de plantas diferenciales y patrones electroforéticos (6). No se incluyeron segundos estadios juveniles en el estudio ya que observaciones preliminares indicaron que estos no eran muy diferentes de lo señalado previamente por Eisenback e Hirschmann (2).

## MATERIALES Y METODOS

Dos poblaciones de *M. exigua* fueron colectadas de raíces de café en la Meseta Central de Costa Rica. La primera de ellas fue tomada del cultivar *Typica*, en la localidad de San Luis de Santo Domingo, provincia de Heredia, mientras que la segunda fue obtenida de Caturra en Sarchí de Valverde Vega, provincia de Alajuela. Ambas poblaciones fueron

reproducidas en invernadero en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) cv. California Wonder.

Los especímenes (20 hembras y 20 machos de cada población) fueron procesados para su observación con el MER siguiendo el método descrito por López (7). Para la descripción de la morfología se siguió la terminología propuesta por Eisenback e Hirschmann (3) y Eisenback *et al.* (4).

### RESULTADOS

En la Fig. 1 se ilustra la configuración de la cabeza de hembras de ambas poblaciones. El estoma, en forma de rendija, estaba colocado en el fondo del preestoma circular, en el centro del disco labial que era relativamente pequeño. El preestoma podía ser ovalado o redondeado y estaba en un plano superior al de los labios medios. Frecuentemente se observaron incisuras que delimitaban y separaban al disco labial de los labios medios (Figs. 1C, 1E). Estos eran más grandes que el disco

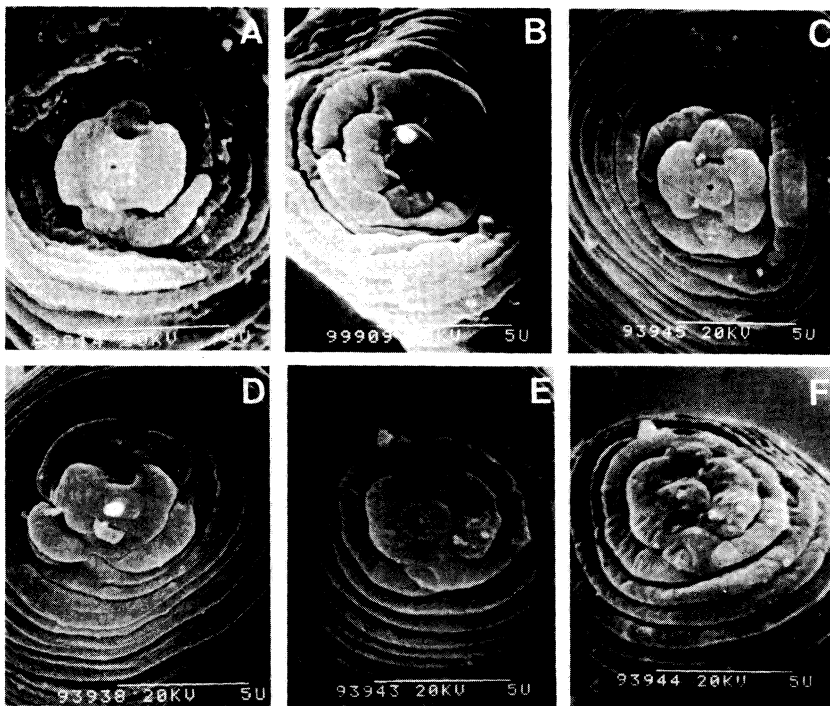


Fig. 1. Fotomicrografías de las porciones labial y cefálica de hembras de *Meloidogyne exigua*. A, B: provenientes de Sarchí. C-F: provenientes de San Luis. La barra equivale a 5  $\mu$ m.

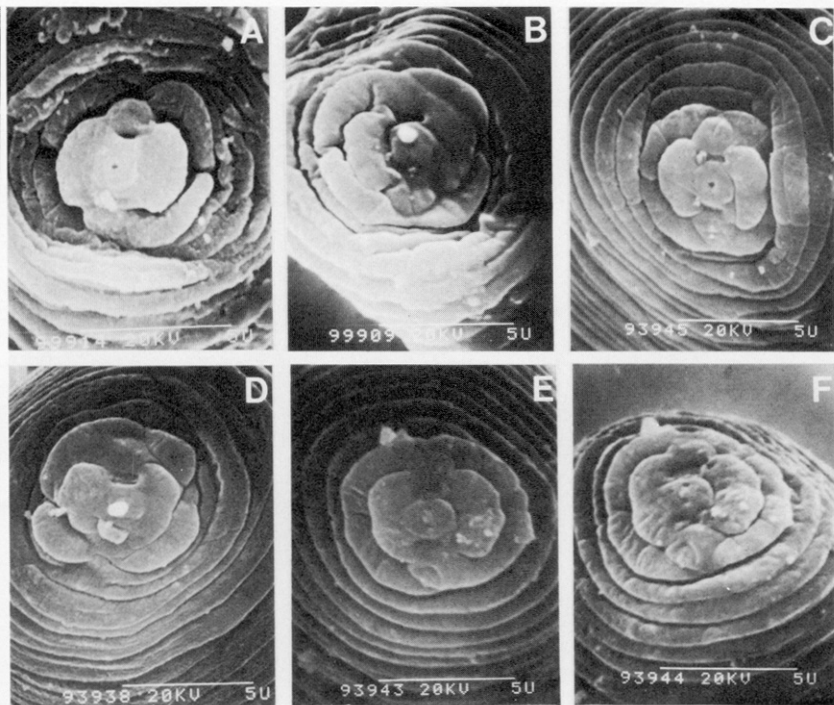


Fig. 1. Fotomicrografías de las porciones labial y cefálica de hembras de *Meloidogyne exigua*. A, B: provenientes de Sarchí. C-F: provenientes de San Luis. La barra equivale a 5  $\mu$ m.

labial, semicirculares, y con alguna frecuencia no había separación entre estos y la región cefálica (Fig. 1B). Las sensilas labiales internas eran difíciles de observar. La región cefálica estaba formada por dos o tres anillos incompletos, los que estaban surcados por líneas longitudinales (Figs. 1A-1F). Las aberturas anfidiales aparecían como pequeños rectángulos, localizados entre el disco labial y los labios laterales. Estos eran generalmente redondeados y bien diferenciados (Figs. 1A, 1C), pero en algunos especímenes sólo estaban definido uno (Figs. 1B, 1E), y en otros no fue posible diferenciarlos de la región cefálica (Fig. 1D). También se observaron especímenes que presentaban una pequeña hendidura en los labios medios, como remanente de la separación que existía entre los labios subdorsales o subventrales (Figs 1A,1C).

En la Fig. 2 (A-E) se presentan varios diseños perineales, así como un detalle de la vulva (Fig. 2F). En todos los especímenes estudiados se encontró que el diseño tendía a ser ovalado, constituido por estrías relativamente uniformes, continuas y gruesas. Dos o tres de ellas eran

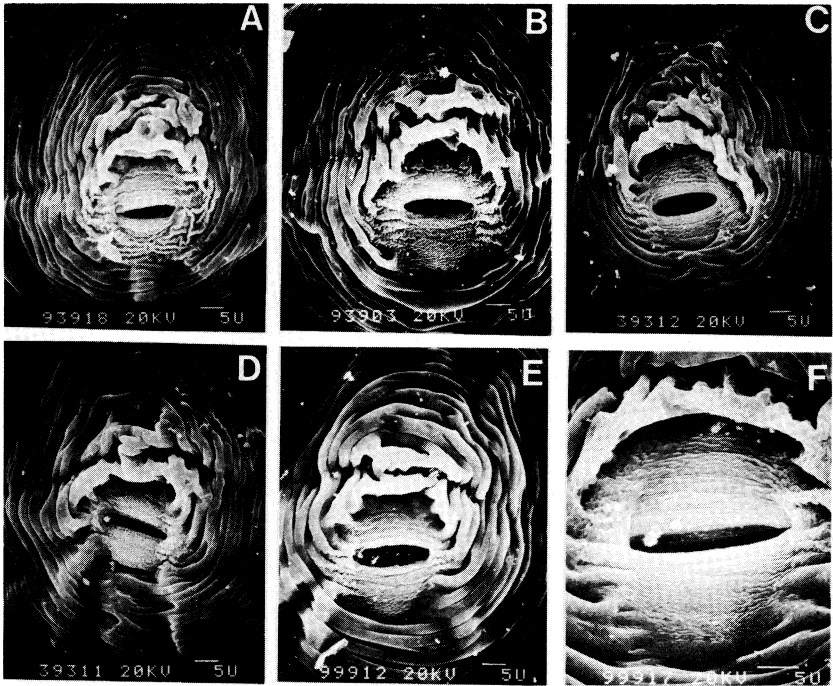


Fig. 2. Diseños perineales de hembras de *Meloidogyne exigua*. A, B: provenientes de San Luis. C-E: provenientes de Sarchí. F: detalle de la vulva. La barra equivale a 5  $\mu$ m.

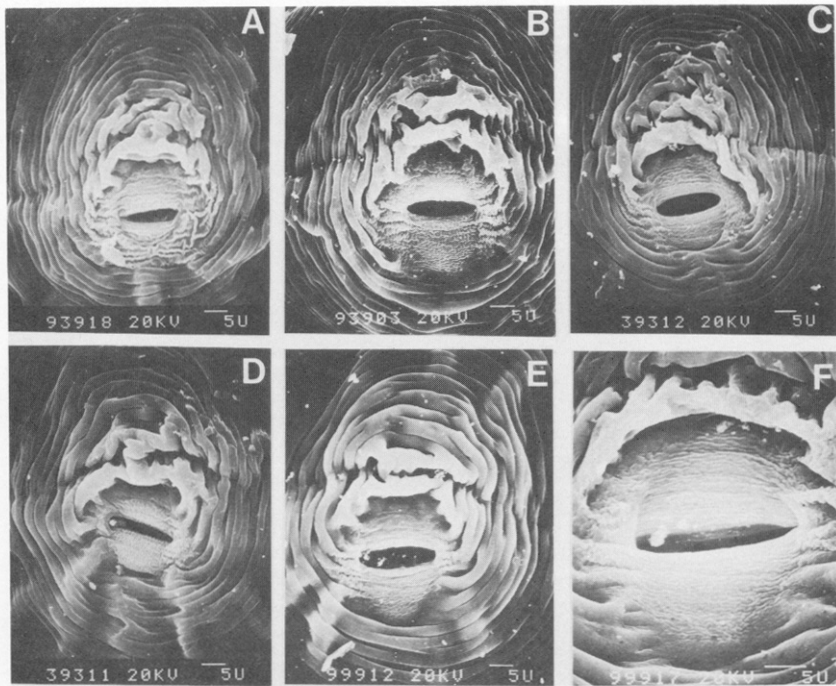


Fig. 2. Diseños perineales de hembras de *Meloidogyne exigua*. A, B: provenientes de San Luis. C-E: provenientes de Sarchí. F: detalle de la vulva. La barra equivale a 5 µm.

más gruesas que el resto, y a menudo estaban separadas entre sí por un espacio que se continuaba a ambos lados del diseño. Este espacio, hacia donde las estrías se hacían muy irregulares o quedaban levemente cortadas, daba la apariencia de campos laterales. Tanto la vulva como la porción inmediatamente adyacente a ella estaban en un plano inferior al resto del diseño, por lo que aparecían como un área hundida en el centro del mismo (Fig. 2F).

Es interesante anotar que durante la preparación de las hembras de ambas poblaciones para su observación con el MER, se encontraron especímenes en los que la región perineal formaba una protuberancia posterior, localizada más bien en posición ventral que terminal (Fig 5).

En las Fig. 3 y 4 se ilustran algunos caracteres observados en los machos. En los machos de la población colectada en San Luis de Santo Domingo se observó que la abertura del estoma, en forma de una rendija, estaba localizada en el fondo del preestoma ovalado. Seis sensilas labiales interiores rodeaban al preestoma y se abrían al exterior a través

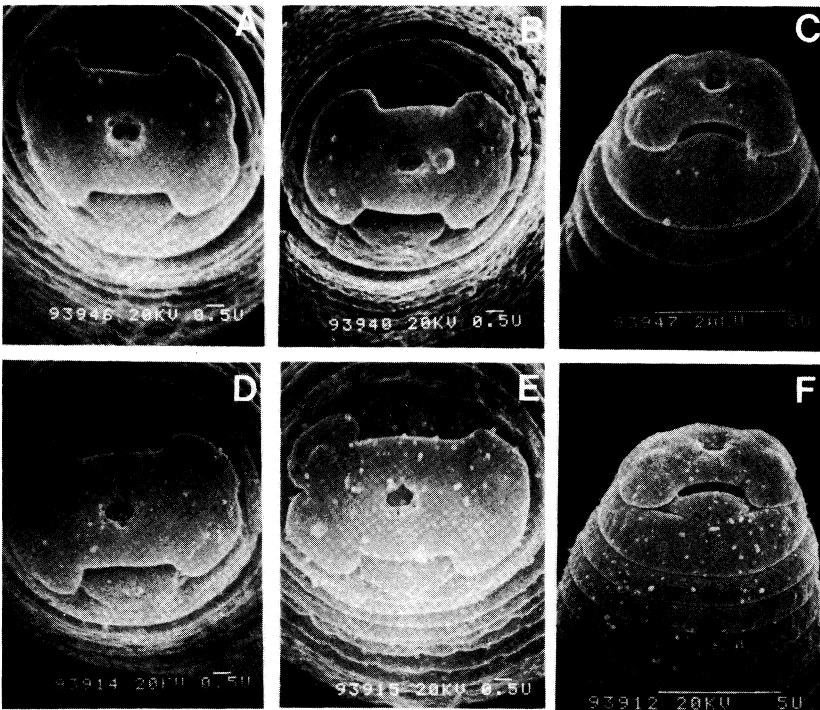


Fig. 3. Porción anterior del cuerpo de machos de *Meloidogyne exigua*. A-C: provenientes de San Luis. D-F: provenientes de Sarchí. En C y F la barra equivale a 5  $\mu\text{m}$ ; en las otras 0.5  $\mu\text{m}$ .

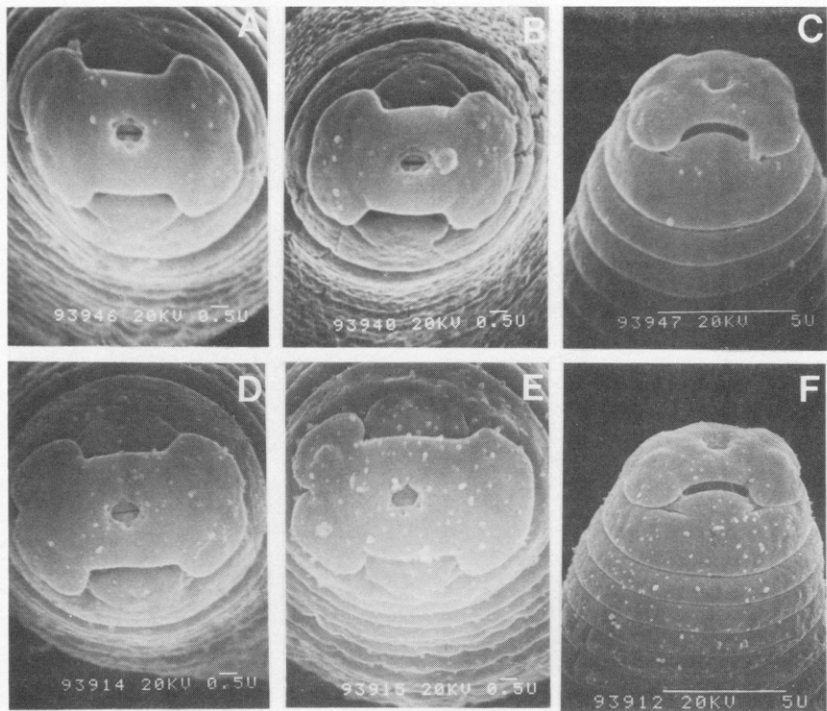


Fig. 3. Porción anterior del cuerpo de machos de *Meloidogyne exigua*. A-C: provenientes de San Luis. D-F: provenientes de Sarchí. En C y F la barra equivale a 5  $\mu\text{m}$ ; en las otras 0.5  $\mu\text{m}$ .



de poros redondeados (Figs. 3A, 3B). El disco labial, relativamente grande y ligeramente elevado sobre el nivel de los labios medios, presentaba los bordes laterales casi rectos, sin indentaciones en las uniones laterales con dichos labios (Figs. 3A, 3B). Los labios medios eran más anchos que el disco labial, presentaban en la parte media del borde una pequeña muesca, y tenía cada uno dos sensilas cefálicas en forma de

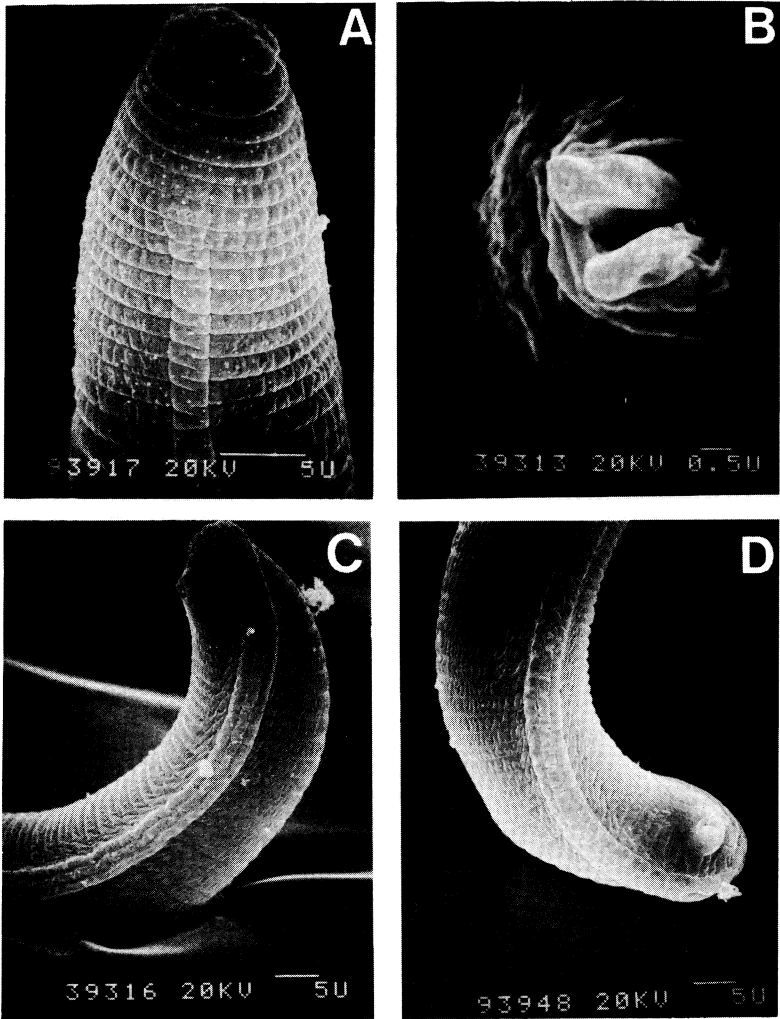


Fig. 4. Fotomicrografías de machos de *Meloidogyne exigua*. A: porción anterior. B: espículas. C: porción posterior sin torcedura. D: porción posterior torcida. En B la barra equivale a 0.5  $\mu\text{m}$ ; en las otras 5  $\mu\text{m}$ .

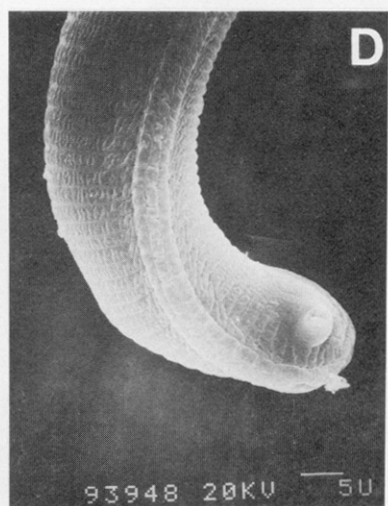
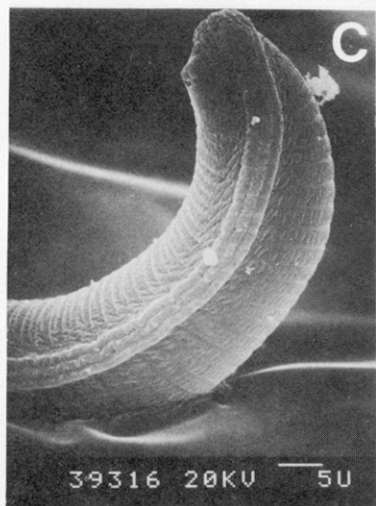
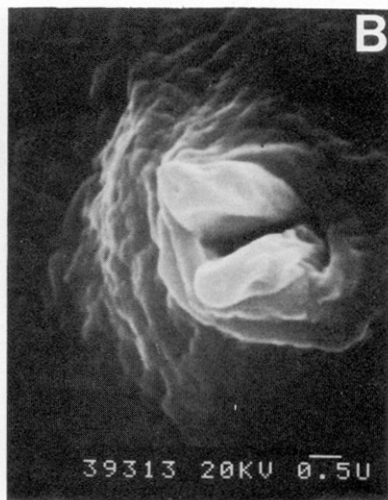
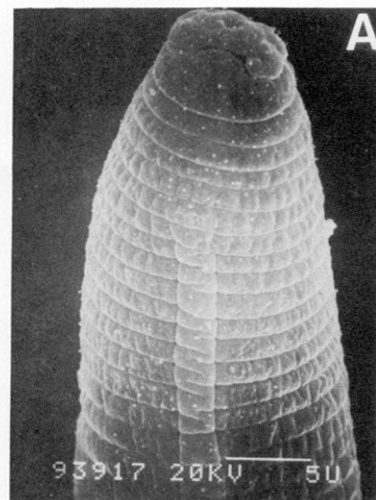


Fig. 4. Fotomicrografías de machos de *Meloidogyne exigua*. A: porción anterior. B: espículas. C: porción posterior sin torcedura. D: porción posterior torcida. En B la barra equivale a 0.5  $\mu\text{m}$ ; en las otras 5  $\mu\text{m}$ .

pequeñas depresiones. En la mayoría de los especímenes observados estos labios eran asimétricos (Fig. 3A). Los labios laterales, de forma trapezoidal o casi triangular, se extendían sobre la región cefálica y estaban delimitados por estrías cortas, que se iniciaban cerca del borde lateral de los labios medios (Figs. 3A, 3B). En ciertos especímenes se observó una sensila en cada uno de los labios laterales (Fig. 3B), en forma de una depresión cuticular redondeada. Las aberturas anfidiales eran poco visibles y se encontraban localizadas debajo de los márgenes laterales del disco labial. La región cefálica era lisa y estaba constituida por un solo anillo.

Casi todas las características mencionadas fueron también observadas en machos de la población colectada en Sarchí de Valverde Vega,

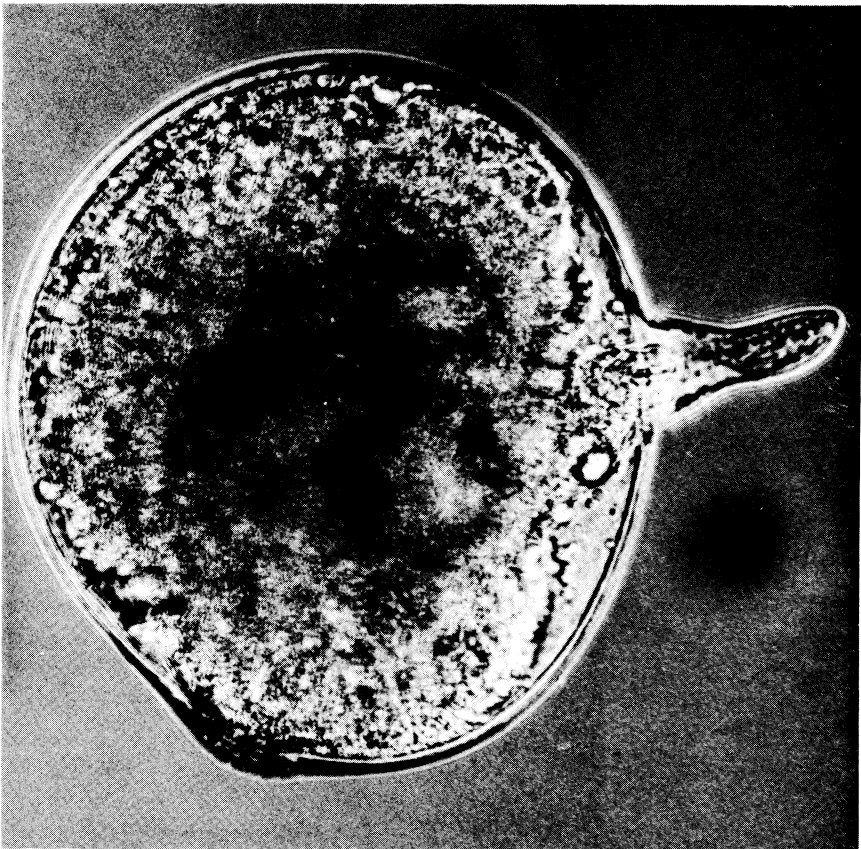


Fig. 5. Contorno del cuerpo de una hembra de *Meloidogyne exigua* mostrando una protuberancia posterior y el cuello colocado en la porción ventral.

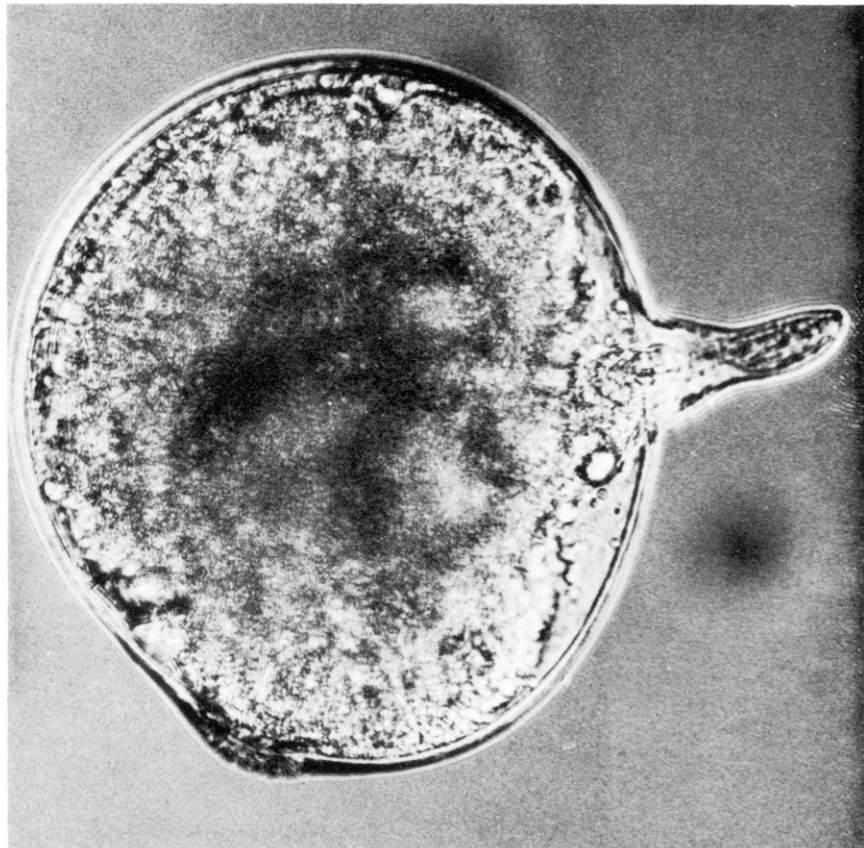


Fig. 5. Contorno del cuerpo de una hembra de *Meloidogyne exigua* mostrando una protuberancia posterior y el cuello colocado en la porción ventral.

excepto que en ellos, la incisura o muesca en la mitad del borde de los labios medios estaba mucho más acentuada, sobre todo en el lado dorsal, determinado por la posición del poro excretor de los especímenes (Figs. 3D, 3E).

En machos de ambas poblaciones se observó que los campos laterales se iniciaban como un área longitudinal levantada, que tomaba la forma de un cordón. Este se originaba a unos 5-8 anillos posteriores a la región cefálica, estaba delimitado por dos incisuras levemente dentadas y corría a lo largo de las regiones laterales del cuerpo (Fig. 4A). Dos nuevas incisuras, en medio de las ya mencionadas, aparecían unos 15 o 20 anillos posteriores al inicio de los campos laterales, prolongándose todos hasta la región caudal (Figs. 4C, 4D). Los anillos del cuerpo se continuaban sobre los campos laterales, produciendo la areolación de éstos, pero sin que hubiera una completa concordancia en ellos (Figs. 4A, 4C, 4D). En ambas poblaciones se observaron machos con el extremo posterior del cuerpo normal (Fig. 4C), y otros torcidos en esta porción (Fig. 4D). Los fasmidios se abrían al exterior a través de pequeños poros en el medio del campo lateral, a la altura (o ligeramente posteriores) de la abertura de la cloaca. Las espículas presentaban un orificio circular en las puntas (Fig. 4B).

## DISCUSION

En un estudio previo (6) se encontró que estas dos poblaciones de *M. exigua* diferían en cuanto a su habilidad para reproducirse en tomate, cv. Rutgers, y en los patrones electroforéticos de las isoenzimas deshidrogenasa de malato, deshidrogenasa de  $\alpha$ -glicerofosfato y fumarasa. Las observaciones realizadas en este estudio con el MER sirvieron para detectar ciertas diferencias entre ambas poblaciones, sobre todo en la morfología de la región anterior de los machos. Estas diferencias morfológicas encontradas podrían ser interpretadas como una evidencia adicional de que estas poblaciones difieren en su constitución genética. Es posible que en el futuro puedan caracterizarse más poblaciones, y que entonces haya más fundamentos para reconocer razas dentro de esta especie de *Meloidogyne*; por ahora, pareciera prematuro aplicar este término a estas dos poblaciones.

Por otra parte, las observaciones realizadas con el MER confirmaron otras hechas previamente con el microscopio de luz por varios autores (1,8,9,11), v.g.: la presencia de un solo anillo en la región cefálica de los machos, especímenes con el cuerpo normal o torcido en su extremo posterior, y algunas características del diseño perineal. También estas observaciones sirvieron para ilustrar otros detalles que no habían sido mencionados previamente, tales como: la vulva hundida en las hembras,

orificios en las puntas de las espículas de los machos, la configuración externa de la región cefálica de machos y hembras, y la presencia de algunas hembras con protuberancia posterior en posición ventral. Esta última observación refuerza aún más los argumentos de Whitehead (11) para rechazar la validez del género *Hypsoperine*.

El uso del MER para establecer criterios adicionales a los aquí expuestos, que permitan el conocimiento más preciso de esta importante especie, tiene un gran potencial.

#### LITERATURA CITADA

1. CHITWOOD, B.G. 1949. Root-knot nematodes. Part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. Proc. Helminthol. Soc. Wash. 16:90-104.
2. EISENBACK, J. D., y H. HIRSCHMANN. 1979. Morphological comparison of second-stage juveniles of several *Meloidogyne* species (root-knot nematodes) by scanning electron microscopy. Scanning Electron Microscopy 3:223-230.
3. EISENBACK, J.D., y H. HIRSCHMANN. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* males by scanning electron microscopy. J. Nematol. 12:23-32.
4. EISENBACK, J.D., H. HIRSCHMANN, y A.C. TRIANTAPHYLLOU. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. J. Nematol. 12:300-313.
5. HIRSCHMANN, H. 1983. Scanning electron microscopy as a tool in nematode taxonomy. Pp. 95-111 in A.R. Stone, H.M. Platt, y L.F. Khalil (eds.). Concepts in nematode systematics. The Systematics Association Special Volume N° 22. Academic Press, N.Y.
6. LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses, morphometrics and electrophoretic patterns of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica and Florida, U.S.A., and the description of *Meloidogyne salasi* sp. n. Ph.D. Dissertation. University of Florida, Gainesville. 124 pp.
7. LOPEZ, R. 1984. *Meloidogyne salasi* sp. n. (Nematoda: Meloidogynidae), a new parasite of rice (*Oryza sativa* L.) from Costa Rica and Panama. Turrialba 34:275-286.
8. LORDELLO, L.G.E., y A.P.L. ZAMITH. 1958. On the morphology of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. Proc. Helminth. Soc. Wash. 25:133-137.
9. SCOTTO LA MASSESE, C. 1969. The principal plant nematodes of crops in French West Indies. Pp. 164-183 in J.E. Peachey (ed.), Nematodes of Tropical Crops. Commonwealth Agricultural Bureaux, Tech. Comm. N° 40 London.

10. WERGIN, W.P. 1981. Scanning electron microscopic techniques and application for use in nematology. Pp. 175-204 in B.M. Zuchermann y R.A. Rohde (eds.), Plant parasitic nematodes, Vol. 3. Academic Press, N.Y.
11. WHITEHEAD, A.G. 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. Trans. Zool. Soc. London 31:263-401.

#### AGRADECIMIENTO

El autor agradece el apoyo económico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Costa Rica, así como las facilidades dadas por los Drs. G. Erdos y H. Berg de la Universidad de Florida.

*Received for publication:*

13.XI.1984

*Recibido para publicar:*