

RESPUESTA DE CINCO CULTIVARES DE ALMENDRO A CUATRO ESPECIES DE NEMATODOS LESIONADORES EN ESPAÑA[†]

Joan Marull, Jorge Pinochet y Soledad Verdejo

Departamento de Patología Vegetal, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, IRTA, Crta. de Cabrils s/n, 08348, Cabrils, Barcelona, España.

Accepted:

27.VIII.1990

Accepted:

RESUMEN

Marull, J., J. Pinochet y S. Verdejo. 1990. Respuesta de cinco cultivares de almendro a cuatro especies de nematodos lesionadores en España. *Nematropica* 20:143-151.

Se evaluó la reacción de cinco cultivares de almendro (*Prunus amygdalus*) a *Pratylenchus vulnus*, *P. neglectus*, *P. thornei* y *Zygotylenchus guevarai*, bajo condiciones de invernadero a los 120 días después de la inoculación con 1 000 nematodos por planta. Dos de estos cultivares, Garrigues y Atocha, se utilizan comunmente como patrones francos en España. Todas los cultivares fueron parasitados por *P. vulnus* que alcanzó una alta tasa de incremento poblacional, entre 6.8 y 14.8, y una cantidad de nematodos/g de raíz significativamente superior a las otras especies de nematodos en todos los materiales evaluados. *Pratylenchus neglectus* presentó una tasa de incremento poblacional baja, entre 1.2 y 1.9, lo cual sugiere que el almendro es un hospedador pobre de esta especie, mientras que *P. thornei* y *Z. guevarai* apenas se reprodujeron indicando que el almendro no es hospedador de éstas especies. No se encontraron diferencias en el desarrollo del sistema radicular.

Palabras claves: almendro, patrones, *Pratylenchus*, *neglectus*, *P. thornei*, *P. vulnus*, *Prunus amygdalus*, resistencia, susceptibilidad, *Zygotylenchus guevarai*.

ABSTRACT

Marull, J., J. Pinochet, and S. Verdejo. 1990. Response of five almond cultivars to four root-lesion nematodes in Spain. *Nematropica* 20:143-151.

Five almond (*Prunus amygdalus*) cultivars were evaluated for their reaction to *P. vulnus*, *P. neglectus*, *P. thornei*, and *Z. guevarai*, under greenhouse conditions at 120 days after inoculation with 1 000 nematodes/plant. Two of these, 'Garrigues' and 'Atocha', are used commonly as rootstocks in Spain. All cultivars were susceptible to *P. vulnus*. This nematode showed high rates of reproduction in all cultivars ranging from 6.8 to 14.8. The number of nematodes/g of root was significantly higher in relation to the other nematode species in all materials tested. *Pratylenchus neglectus* showed low population increase, between 1.2 and 1.9, suggesting that almond is a poor host to this species, whereas *P. thornei* and *Z. guevarai* multiplied poorly on almond, indicating that the plant is not a host of both species. No differences were found in root development for that period.

[†]Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Proyecto No. 8528.

Key words: almond, *Pratylenchus neglectus*, *P. thornei*, *P. vulnus*, *Prunus amygdalus*, resistance, rootsocks, susceptibility, *Zygotylenchus guevarai*.

INTRODUCCION

El almendro, *Prunus amygdalus* Batsch., constituye en España un importante rubro frutícola, tanto para el consumo interno como para la exportación. La distribución del almendro se concentra en la franja mediterránea e Islas Baleares, ocupando una superficie cultivada de unas 600 000 ha (16). El uso de patrones francos de almendro es la forma predominante de propagación de este frutal entre los agricultores, debido a sus cualidades de buena compatibilidad patrón-injerto, vigor, adaptación a condiciones de secano y suelos pobres en donde se cultiva (4). En algunas regiones de Portugal y en el Norte de Africa, también se utilizan algunos cultivares españoles como patrones francos (Felipe, comunicación personal).

Varias especies del género *Pratylenchus* se encuentran presentes en plantaciones establecidas y viveros de frutales y vides (3,8). El nematodo lesionador de mayor importancia económica en frutales leñosos en las condiciones mediterráneas es *Pratylenchus vulnus* Allen y Jensen (9). Esta especie, también presente en España, es considerada como un patógeno severo de frutales y del rosal (*Rosa multiflora* L.) en Francia, (17), y del melocotonero (*Prunus persica* (L.) Batsch), los cítricos (*Citrus* spp.) y el olivo (*Olea europea* L.) en Italia (6). En California se ha encontrado presente en el 26% de las plantaciones de almendro (12), donde además es considerada como una importante plaga en nogal (*Juglans regia* L.) cerezo (*Prunus avium* L.) e higuera (*Ficus carica* L.) (1,10,11). Otro nematodo lesionador de interés y poco estudiado es *Zygotylenchus guevarai* (Tobar Jiménez) Braun y Loof. Su frecuencia de detección es menor y sus niveles poblacionales en muestras de suelo y raíz suelen ser bajos. En España se encuentra asociado a cultivos anuales (20), plantaciones de frutales y viñedos. Sin embargo, la relación parásito-hospedador en este último cultivo no está bien entendida (14). *Zygotylenchus guevarai* también se encuentra asociado al almendro en Hungría (2).

Este estudio se llevó a cabo para evaluar la reacción de cinco cultivares de almendro, tres de los cuales se utilizan regularmente como patrones franco, a cuatro especies de nematodos lesionadores bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y METODOS

Semillas de los cultivares Atocha, Garrigues, Largueta, Marcona y Texas, fueron proporcionadas por el Departamento de Arboricultura Mediterránea del IRTA, Mas Bové, Reus (Tarragona). Las principales características agronómicas de estos cultivares se detallan en el Cuadro

Cuadro 1. Información general de los cinco cultivares de almendro evaluados frente a cuatro especies de nematodos lesionadores.

Cultivar	Origen	Características agronómicas
Atocha	Murcia	Buen vigor. Utilizada como patrón franco Productividad media
Largueta	Tarragona	Tardanza en entrar en producción Vigor medio. Cultivar muy difundido Productividad media Sensible a las heladas
Garrigues	Murcia	Buen vigor. Muy difundida como patrón franco Alta productividad Adaptada a secano. Sensible a las heladas
Marcona	Alicante	Vigor medio. Variedad muy difundida Alta productividad Exigente en suelos, clima y cuidados
Texas	California (EUA)	Alto vigor. Muy difundida en zona de origen Poca productividad en España

1. Las semillas se trataron con una solución de oxiclورو de cobre durante 24 horas. Luego se enjuagaron con abundante agua para eliminar restos del fungicida, se colocaron sobre papel de filtro para que absorbiera el exceso de humedad y se estratificaron en semilleros con perlita (Europerl, Decalite Española S. A., Barcelona, España). Los semilleros se mantuvieron en una cámara frigorífica a 4 C durante 43 días. Las semillas que habían iniciado la formación de la radícula se transfirieron individualmente a macetas de 1 L de capacidad con arena de río esterilizada al vapor. Las plántulas se mantuvieron en invernadero durante 7 semanas antes de ser inoculadas con los nematodos.

Las cuatro poblaciones de nematodos lesionadores eran originarias de distintas localidades de Cataluña. *Zygotylenchus guevarai* fué aislado de la rizosfera de almendros en Reus (Tarragona); *P. vulnus* de rosas en Cabrils (Barcelona); *P. thornei* Sher y Allen, y *P. neglectus* (Rensch) Filipjev y Schuurmans Stekhoven, de melocotonero, en un vivero localizado en Artesa (Lérida). Estas poblaciones se establecieron y multiplicaron en cultivos monoxénicos utilizando discos de zanahoria (*Daucus carota* L.) como sustrato. Los nematodos se extrajeron del suelo utilizando solamente los tamices de 0.074 y 0.038 mm. Hembras adultas de cada una de las poblaciones fueron separadas individualmente de la suspensión de nematodos en agua con pipetas Pasteur y concentradas en aproximadamente 0.3 ml de agua esterilizada en tubos de centrifuga cónicos autoclavados. La desinfección en superficie se realizó añadiendo 0.7 ml de una solución de 100 ppm de cloruro de mercurio y 1 000 ppm de sulfato de estreptomycin. Después de 5 minutos la suspensión se diluyó 10 veces con agua destilada estéril. Un segundo enjuague también con agua estéril se realizó con el objeto de remover el exceso de los

compuestos esterilizantes. Nematodos depositados en el fondo del tubo fueron recolectados con una pipeta Pasteur y añadidos a discos de zanahoria preparados de acuerdo con el método descrito por Moody, Lownsberry y Ahmed (13). En el establecimiento de los primeros cultivos de nematodos procedentes del campo, los niveles de inóculo fueron de 10 a 20 especímenes por cada frasco que contenía de tres a cinco discos de zanahoria. Posteriormente, en cultivos de transferencia los niveles de inóculo fueron de 50 a 200 especímenes por frasco. Los cultivos se mantuvieron en una incubadora a 24 C en la oscuridad durante 60 días. La identificación de las tres poblaciones de *Pratylenchus* a nivel de especie fué realizada por la Commonwealth Institute of Parasitology, St. Albans, Reino Unido.

El inóculo se obtuvo añadiendo agua a los cultivos monoxénicos, para recoger 24 horas más tarde grandes cantidades de nematodos que habían emigrado fuera de los discos de zanahoria. Plantas de los cinco cultivares de almendro de crecimiento uniforme y aproximadamente 30 cm de altura se inocularon con una alícuota de 1 000 individuos/planta, (mezcla de todos los estadíos del ciclo biológico) de cada una de las poblaciones del nematodo. Los inóculos de *Z. guevarai* y *P. vulnus* tenían aproximadamente un 10% de machos. La suspensión de nematodos se traspasó con pipeta en tres agujeros realizados a unos 3 cm de la base de cada planta. Plantas no inoculadas se incluyeron como control. Se utilizó un diseño completamente al azar con siete repeticiones por tratamiento. Las plantas se regaron de acuerdo a su necesidad y se abonaron con solución nutritiva de Hoagland cada 15 días durante los dos primeros meses y cada semana los meses restantes.

La reacción de los cinco cultivares de almendro se evaluó 120 días después de la inoculación. Los parámetros que se determinaron fueron la población final de nematodos por planta (suelo más raíz), el número de nematodos/g de raíz, la tasa de incremento poblacional (P_f/P_i) y el peso radical. Los nematodos del suelo, se extrajeron mediante tamizado diferencial (tamices de 0.150, 0.074 y 0.038 mm de apertura) y flotación en solución de sacarosa 1M (7), partiendo de una alícuota de 250 cm³ de barro homogeneizado, que provenía del total del volumen del suelo de cada maceta y del agua sobrante del lavado de las raíces hasta completar 2 L. Los nematodos de las raíces se obtuvieron mediante la trituración del sistema radicular en un volumen de 200 cm³ de agua en una licuadora durante tres períodos de 15 segundos separados por dos intervalos de 10 segundos. Los nematodos en suspensión se recogieron utilizando tamices de 0.150, 0.074 y 0.025 mm (aperturas de 100, 200 y 500 mallas/pulgada, respectivamente). Partículas de raíz e impurezas atrapadas en el tamiz de 0.150 fueron descartadas, mientras que se recolectó el remanente de la suspensión retenido en los tamices de 0.074 y 0.025, determinándose el número de nematodos en un contador de 1

Cuadro 2. Población final (suelo y raíz) alcanzada por cuatro especies de nematodos lesionadores en cinco cultivares de almendro 4 meses después de la inoculación con 1 000 nematodos por planta.

Nematodo	Atocha	Garrigues	Marcona	Largueta	Texas
<i>Zygotylenchus guevarai</i>	270 a	190 a	164 a	206 a	159 a
<i>Pratylenchus thornei</i>	515 a	622 a	773 a	915 a	595 a
<i>P. neglectus</i>	1 816 a	1 348 a	1 209 a	1 490 a	1 863 a
<i>P. vulnus</i>	13 085 b	15 825 b	6 834 b	11 785 b	11 716 b

Promedio de siete repeticiones.

Valores en una misma columna seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente según la Prueba de Rango Múltiple de Duncan ($P = 0.05$).

cm³ de capacidad. Los datos se analizaron estadísticamente mediante el Análisis de la Varianza y las medias fueron comparadas por medio de la Prueba de Rango Múltiple de Duncan ($P = 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

La población final alcanzada por *P. vulnus* fué significativamente mayor que la de las otras tres especies en los cinco cultivares de almendro evaluados, logrando niveles poblacionales que fluctuaron entre 6 834 y 15 825 nematodos por planta, en 'Marcona' y 'Garrigues' respectivamente (Cuadro 2). En cuanto al número de nematodos/g de raíz (Cuadro 3), *P. vulnus* tuvo un comportamiento similar, difiriendo significativamente de las demás especies de nematodos en 'Atocha', 'Garrigues', 'Largueta' y 'Texas'. Sin embargo, en el cultivar Marcona no se encontraron diferencias de *P. vulnus* con *Z. guevarai* y *P. neglectus*, pero sí con *P. thornei*.

Cuadro 3. Nematodos por g de raíz de cuatro especies de nematodos lesionadores en cinco cultivares de almendro 4 meses después de la inoculación con 1 000 nematodos por planta.

Nematodo	Atocha	Garrigues	Marcona	Largueta	Texas
<i>Zygotylenchus guevarai</i>	2 a	4 a	31 ab	12 a	11 a
<i>Pratylenchus thornei</i>	6 a	2 a	0 a	0 a	3 a
<i>P. neglectus</i>	54 a	39 a	41 ab	23 a	96 a
<i>P. vulnus</i>	353 b	228 b	173 b	368 b	457 b

Promedio de siete repeticiones.

Valores de una misma columna seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente según la Prueba de Rango Múltiple de Duncan ($P = 0.05$).

La alta susceptibilidad de los cinco cultivares de almendro a *P. vulnus* podría representar un peligro potencial para este cultivo (18), especialmente en situaciones de replante y cuando aparece asociado a viveros contaminados que propagan almendros. Además, ésta especie posee un amplio rango de hospedadores, tanto de plantas espontáneas como cultivadas, anuales y perennes (1,17), lo que dificulta su erradicación y facilita su difusión. Lamentablemente, se desconoce la distribución de *P. vulnus* en España. En California, donde la mayor área de cultivo se ha establecido en las últimas tres décadas, el daño que este nematodo causa en almendro es apreciable en replantaciones (12). En Europa es considerado como uno de los nematodos más peligrosos de cultivos perennes en la cuenca Mediterránea, donde con frecuencia las pérdidas que ocasiona pasan desapercibidas debido a que los síntomas no son específicos (18).

Pratylenchus neglectus, *P. thornei* y *Z. guevarai* no mostraron diferencias significativas en relación a la población final y al número de nematodos/g de raíz en los cinco cultivares de almendro ensayados (Cuadros 2 y 3). Sin embargo, *P. neglectus* mantuvo un nivel poblacional levemente superior al inicial, alcanzando una tasa de incremento poblacional (Pf/Pi) superior a las otras dos especies la cual fluctuó entre 1.2 ('Marcona') y 1.8 ('Atocha' y 'Texas'), sugiriendo que todos los cultivares de almendro evaluados son hospedadores pobres (Fig. 1). Esta especie se detecta con frecuencia en plantaciones frutales y viveros en Cataluña.

Pratylenchus thornei y *Z. guevarai* presentaron una tasa de incremento poblacional que fluctuó entre 0.51 y 0.92 en el primero, y entre 0.16 y 0.27 en el segundo (Fig. 1). Huevos y segundos estadíos larvarios de *Z. guevarai* fueron ocasionalmente extraídos de la raíz y del suelo, indicando que este nematodo es capaz de multiplicarse en almendro. *Pratylenchus thornei* no se reprodujo en 'Largueta' ni en 'Marcona', aunque aparentemente fue capaz de alimentarse como ectoparásito (Cuadros 2 y 3). En base a los antecedentes mencionados, los materiales evaluados se pueden considerar como plantas no hospedadoras de *P. thornei* y *Z. guevarai*. Es posible que sus hospedadores preferenciales sean malezas asociadas al cultivo. Estudios de patogenicidad de *P. thornei* y *Z. guevarai* indican que ambas especies atacan cultivos anuales, algunas malezas gramíneas y especies arbustivas (5,20,21). Aparentemente, *P. neglectus*, *P. thornei* y *Z. guevarai*, no constituyen una plaga importante para el cultivo del almendro en España.

Los cultivares Atocha y Garrigues, recomendados como patrones francos por su mayor vigor (4), mostraron un sistema radical muy superior al de 'Marcona', 'Largueta' y 'Texas', independientemente de la población del nematodo inoculada. La mayor cantidad de tejido radical desarrollado en este período podría explicar la mayor población final de nematodos alcanzada por *P. vulnus* en 'Atocha' y 'Garrigues'

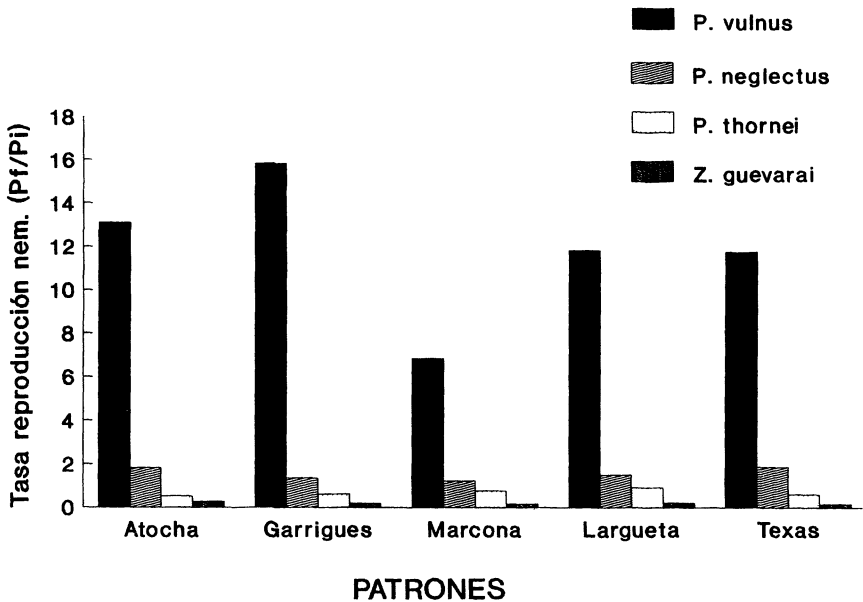


Fig. 1. Tasa de incremento poblacional comparativa (P_f/P_i) de cuatro especies de nematodos lesionadores en cinco cultivares de almendro a los 4 meses después de la inoculación con 1 000 nematodos por planta.

(13 085 y 15 825 nematodos/planta, respectivamente), en contraste con la de 'Marcona', 'Lagueta' y 'Texas' (6 834, 11 785 y 11 716 nematodos/planta, respectivamente). El hecho de no encontrar diferencias significativas entre los pesos radicales de las plantas inoculadas con las distintas poblaciones de nematodos y las plantas control (Cuadro 4), fué probablemente debido a la corta duración del ensayo y condiciones experimentales en las cuales éste se llevó a cabo.

Cuadro 4. Peso radicular en g de cinco patrones de almendro franco a los 4 meses después de la inoculación con 1 000 nematodos por planta.

Nematodo	Atocha	Garrigues	Marcona	Largueta	Texas
<i>Zygotylenchus</i> <i>guevarai</i>	11.3	11.6	3.8	5.1	5.3
<i>Pratylenchus</i> <i>thornei</i>	13.5	11.5	5.0	6.3	5.8
<i>P. neglectus</i>	9.6	11.3	5.8	6.0	5.2
<i>P. vulnus</i>	10.1	12.1	5.3	5.5	4.2
Control	9.5	12.0	3.8	4.6	4.5
	NS	NS	NS	NS	NS

Promedio de siete repeticiones.

LITERATURA CITADA

1. CORBETT, D. C. M. 1974. *Pratylenchus vulnus*. C. I. H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes Set 3, No. 37. Commonwealth Institute of Helminthology, St. Albans, Herts., England.
2. DECKER, H., y G. A. MANNINGER. 1977. Zum Auftreten von *Zygotylenchus guevarai* (Tobar Jimenez, 1963) Braun & Loof, 1966 in der VR Ungarn. 2. Votr. Aktuel. Probl. Phytonematol. 27.5.1976, Rostock. Manusk. druk. Votr. Biol. Ges. Dtsch. Demokr. Repub., Sekt. Phytopathol. Wilhelm-Piek Univ., Rostock DDR, 117–125.
3. ESCUER, A. 1985. Contribución al conocimiento de la nematofauna de los cultivos de fruta dulce en el Bajo Cinca. Tesis. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona, Barcelona, España.
4. FELIPE, A. 1989. Patrones para frutales de pepita y hueso. Ediciones Técnicas Europeas, Barcelona, España.
5. FORTUNER, R. 1977. *Pratylenchus thornei*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes Set 7, No. 93. Commonwealth Institute of Helminthology, St. Albans, Herts., England.
6. INSERRA, R. N., A. ZEPP y N. VOVLAS. 1979. I *Pratylenchus* dell'Italia meridionale. Nematologia mediterranea 7:137–162.
7. JENKINS, W. R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter 48:692.
8. JIMENEZ-MILLAN, F. M. ARIAS, A. BELLO y J. M. LOPEZ PEDREGAL. 1965. Catálogo de los nematodos fitoparásitos y periradiculares encontrados en España. Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural 63:47–104.
9. LAMBERTI, F. 1981. Plant nematode problems in the Mediterranean region. Helminthological Abstracts Series B, Plant Nematology. Commonwealth Institute of Helminthology. 50:145–166.
10. LOWNSBERY, B. F., y E. F. SERR. 1963. Fruit and nut tree rootstocks as hosts for a root-lesion nematode, *Pratylenchus vulnus*. Proceedings American Society Horticultural Sciences 82:250–254.
11. McELROY, F. D. 1972. Nematodes of tree fruits and small fruits. Pgs. 335–376 en J. M. Webster, ed. Economic Nematology. Academic Press: New York.
12. McKENRY, M. V. 1987. Survey of nematodes associated with almond production in California. Plant Disease 71:71–73.
13. MOODY, E. H., B. F. LOWNSBERY y J. M. AHMED. 1973. Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. Journal of Nematology 5:225–226.
14. PINOCHET, J., y T. CISNEROS T. 1986. Seasonal fluctuation of nematode populations in three Spanish vineyards. Revue de Nématologie 9:391–398.
15. PINOCHET, J., S. VERDEJO y J. MARULL. 1989. Evaluación de siete patrones de *Prunus* a tres especies de *Meloidogyne* en España. Nematropica 19:125–134.
16. SAURA, F., J. CAÑELLAS y L. SOLER. 1988. La Almendra. Composición, variedades, desarrollo y maduración. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias.
17. SCOTTO LA MASSESE, C. 1975. Tests d'hôtes de quelques porte-greffe et variétés fruitières à l'égard de *Pratylenchus vulnus* Allen et Jensen. C. R. Acad. Agric. Fr. (séance 3 décembre 1975), 1088–1095.
18. SCOTTO LA MASSESE, C. 1989. Les problèmes posés par les nématodes phytophages à l'amandier. Pgs. 33–38 en A. J. Felipe et R. Socias, eds. Options méditerranéennes. Séminaire du GREMPA sur les porte-greffe de l'amandier. CIHEAM, Zaragoza, España.
19. SIDDIQI, M. R. 1975. *Zygotylenchus guevarai*. C. I. H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes Set 5, No. 65. Commonwealth Institute of Helminthology, St. Albans, Herts., England.

20. TOBAR JIMENEZ, A. 1973. Nematodos de los "secanos" de la comarca de Alhama. I. Niveles de población y cultivos hospedadores. *Revista Ibérica de Parasitología* 33:525-556.
21. VOVLAS, N., R. N. INSERRA y F. LAMBERTI. 1976. Osservazioni sull'epidemiologia e sulla patogenicità di *Zygotylenchus guevarai* (Tobar) Braun et Loof. *Nematologia mediterranea* 4:183-193.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Dr. Francisco Vargas por proporcionar el material vegetal.

Recibido para publicar:

5.VII.1990

Received for publication: