

USO DE GASOLINA PARA LA SEPARACION DE QUISTES DE *GLOBODERA PALLIDA* Y MATERIA ORGANICA EN MUESTRAS EXTRAIDAS DE SUELO

M. Canto-Sáenz y A. González

Centro Internacional de la Papa, CIP, Apartado 5969, Lima, Perú.

RESUMEN

Canto-Sáenz, M. y A. González. Uso de la gasolina para la separación de quistes de *Globodera pallida* y materia orgánica en muestras extraídas de suelo. *Nematropica* 23:57-61.

Se evaluaron gasolinas de 84 y 95 octanos como sustitutos de la acetona en métodos de flotación usados para eliminar restos orgánicos de muestras de quistes de *Globodera pallida* previamente extraídas del suelo por el método de Fenwick. No se encontraron diferencias significativas en el número de quistes recobrados entre la acetona y la gasolina. La gasolina, además no tuvo efecto sobre la viabilidad de los huevos, ni sobre la capacidad de juveniles (J2) emergidos para penetrar y desarrollarse en raíces de papa.

Palabras clave: extracción de nematodos, gasolina, *Globodera pallida*, índice de infectividad, nematodo quiste de la papa, viabilidad de huevos.

ABSTRACT

Canto-Sáenz, M., and A. González. Use of gasoline to separate organic matter from cysts of *Globodera pallida* extracted from soil. *Nematropica* 23:57-61.

Gasolines of 84 and 95 octanes were evaluated as substitutes for acetone in flotation procedures used for eliminating organic matter from cysts of *Globodera pallida* extracted from soil by the Fenwick method. There were no significant differences between the numbers of cysts extracted with acetone and gasoline. In addition, gasoline had no effect on the viability of eggs or the capacity of emerged juveniles (J2) to penetrate and develop in potato roots.

Key words: egg viability, gasoline, *Globodera pallida*, infectivity index, nematode extraction, potato cyst nematode.

INTRODUCCION

Se han realizado numerosas investigaciones sobre métodos de extracción de nematodos formadores de quistes (2,3,8, 9,10,12) y se han desarrollado técnicas que involucran procesadores de suelo automáticos y semi-automáticos (2,11,12). Todos estos métodos reducen la cantidad de suelo de la muestra, pero no evitan la presencia de restos orgánicos cuando se procesan suelos con alto contenido de materia orgánica. Para eliminar este inconveniente se desarrolló el método de flotación en acetona (7,8). Sin embargo, en muchos lugares de la zona andina, la obtención de este solvente es difícil y es necesario sustituirlo para la extracción de quistes del nematodo.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la posibilidad de utilizar la gasolina en forma comercial como medio alternativo para eliminar el contenido de materia orgánica de muestras de quistes, de *Globodera pallida* (Stone) Behrens, extraídos del suelo.

MATERIALES Y METODOS

Efectos de flotación con gasolina sobre el número de quistes recuperados, viabilidad de los huevos e infectividad de juveniles (J2): Se utilizó suelo de la localidad de Lluin, La Libertad, Perú, naturalmente infestado con la raza P5A de *G. pallida* y quistes de la localidad de Chocón, Junín, raza P4A de *G. pallida*, (1). El suelo se depositó en

bandejas de plástico y se dejó secar a temperatura ambiente y bajo sombra. Cuando el suelo estuvo completamente seco, se tomaron 15 muestras de 200 cm³ cada una y se lavaron por el método modificado de Fenwick (4). Las muestras de quistes y restos orgánicos se dejaron secar y se dividieron en tres grupos (uno para cada solvente) con cinco repeticiones cada uno. Para eliminar la mayor parte de materia orgánica se utilizó la técnica de flotación con acetona (testigo) comparándolas con gasolinas de 84 y 95 octanos (tratamiento). Se evaluó el total de quistes recuperados después de la flotación y se determinó la viabilidad infectiva y el índice de infectividad de los juveniles del segundo estadio (J2) de los quistes obtenidos en cada uno de los solventes.

Para el caso de la viabilidad infectiva, se tomaron 25 quistes al azar de cada uno de los tratamientos y se colocaron en bolsas de muselina para realizar la prueba de emergencia, considerando cinco repeticiones por tratamiento (6). Las bolsas de muselina se colocaron en recipientes de vidrio de 5 cm³ y se remojaron 3 días en agua destilada. Al cuarto día se reemplazó el agua por exudado radicular del cv. de papa Revolución el cual es susceptible al nematodo quiste. Cada siete días se contó

el número de J2 que emergían en cada tratamiento.

Como los J2 provenientes de los quistes recuperados con acetona y gasolina podían ser afectados en su actividad parasitaria, se realizó la prueba de índice de infectividad utilizando la técnica en placas de petri desarrollada para estudios de evaluación de resistencia a *Globodera* sp. (6). Los J2 que emergían cada semana de cada muestra de quistes en la prueba anterior fueron inoculados en raíces del cv. de papa Rosita desarrolladas en placas de petri con agar-agua al 2%. A los 30 días de la inoculación se contaron las hembras formadas y se calculó el porcentaje de formación de hembras (% H) que es el cociente entre el número de hembras formadas y el número de J2 inoculados en las raíces. Cuando el % H es mayor de 14 se considera que la planta es hospedante eficiente del patógeno (6).

Efectos de varios tiempos de exposición a los solventes: Se tomaron 25 quistes al azar de *G. pallida* raza P4A, proveniente de la localidad de Chocón, Junín, (para tener información sobre otra raza además de la P5A) que habían sido extraídos por el método de Fenwick (agua de caño) y no habían sido expuestos a los tres solventes. Los quistes se depositaron en bolsitas de

Cuadro 1. Número promedio de juveniles del segundo estado (J2) de *Globodera pallida*, raza P5A emergidos por quiste en exudado radicular de papa usando quistes previamente extraídos con tres solventes.

Solvente	Días de exposición en exudado radicular				
	7	14	21	28	35
Acetona	22 ab	11 ab	41 a	2 a	14 a
Gasolina de 84 octanos	30 a	5 b	33 a	2 a	13 a
Gasolina de 95 octanos	17 b	16 a	48 a	2 a	15 a
C.V. ² (%)	17	28	18	28	16

Promedio de cinco repeticiones. Letras iguales en cada columna indican diferencias no significativas de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$).

²Datos analizados con transformación $\sqrt{(X + 1)}$.

Cuadro 2. Índice de formación de hembras (% H)² de *Globodera pallida*, raza P5A en el cultivar de papa Rosita. Prueba en placas de petri con J2 obtenidos de la prueba de emergencia (Cuadro 1).

Solvente	Días de exposición en exudado radicular				
	7	14	21	28	35
Acetona	45.2	46.6	39.3	38.7	37.5
Gasolina 84	39.7	41.9	36.4	33.1	37.0
Gasolina 95	41.1	40.0	32.5	28.8	30.9

²Índice mayor de 14 representa alta reproducción del nematodo.

muselina para ser remojados por 3, 6, 9 o 12 minutos en acetona, gasolinas de 84 y 95 octanos y agua de caño considerada en esta oportunidad como el testigo. En cada tiempo de exposición se utilizaron tres repeticiones por tratamiento y se

evaluaron la viabilidad de los huevos y el índice de infectividad de los juveniles (J2) emergidos de igual forma que en la prueba de separación de la materia orgánica, explicada en el caso anterior.

RESULTADOS Y DISCUSION

Efectos de la flotación en los solventes: Los tres solventes permitieron recuperar los quistes extraídos por el método de Fenwick, limpios del alto contenido de materia orgánica del suelo usado. Los números promedios de quistes recobrados con acetona, gasolinas de 84 y 95 octanos fueron 970, 1 010 y 870 quistes por 200 cm³ de suelo, respectivamente. Aunque el coeficiente de variación fue bajo (9.2%), la prueba de significación estadística no mostró diferencia significativa entre los

Cuadro 3. Número de juveniles del segundo estadio (J2) emergidos/quiste de *Globodera pallida* raza P4A en exudado radicular de papa usando quistes previamente expuestos a tres solventes en cuatro tiempos de exposición.

Solvente	Tiempo de exposición (min)	Días de exposición en exudado radicular			
		7	14	21	28
Acetona	3	2.4	0.7	0.4	9.2
	6	2.3	0.6	0.9	4.0
	9	1.7	1.2	0.9	4.0
	12	2.8	2.3	0.5	8.0
Gasolina 84	3	5.9	0.5	0.2	4.0
	6	6.8	0.2	0.2	7.0
	9	5.2	0.6	0.1	2.0
	12	8.4	2.0	0.4	8.0
Gasolina 95	3	7.2	1.8	0.6	9.0
	6	2.7	0.2	0.1	1.0
	9	4.6	1.5	0.4	8.0
	12	2.8	0.9	0.1	4.0
Control (agua)	3	4.2	1.5	0.8	7.0
	6	7.2	0.9	1.0	7.0
	9	7.5	0.8	0.3	14.4
	12	6.8	1.5	0.5	7.0
C.V. ² (%)		35.7	26.9	19.5	32.0

Promedio de tres repeticiones.

²Datos analizados con transformación $\sqrt{(X + 1)}$.

tratamientos ($P \leq 0.05$). Por consiguiente, la gasolina de ambos octanajes se puede utilizar para este objetivo. Sin embargo, el uso de la gasolina presenta algunas desventajas, tales como el olor desagradable y residuos de hidrocarburos en los recipientes y manos del operador. Se puede evitar percibir el olor trabajando en un ambiente con buena ventilación.

En la prueba de emergencia de J2 a partir de quistes que fueron recuperados con los tres solventes, la prueba de significación estadística mostró que en cuatro de las cinco fechas de exposición de quistes a exudado radicular, no existen diferencias significativas en la emergencia de J2 (coeficiente de variación = 16 a 28%). La diferencia en número de J2 emergidos a los 14 días de exposición, se podría atribuir a un posible efecto de los solventes en la viabilidad de los huevos o a la variación aleatorizada. Sin embargo, la prueba de

infectividad realizada posteriormente indicó que no hubo tal efecto. Los tres solventes no afectaron ($P \leq 0.05$) el contenido total de huevos viables ni el porcentaje de huevos que eclosionaron en la presencia de exudado radicular (Cuadro 1).

En la prueba de infectividad, los juveniles que emergieron a los 7, 14, 21, 28 y 35 días de exposición en exudado radicular, tuvieron la capacidad de penetrar y desarrollar hasta hembras en el cultivar susceptible Rosita (Cuadro 2). Los valores del índice de formación de hembras (% H), en cada fecha de inoculación, correspondieron a lo que normalmente se esperaría en un cultivar susceptible, donde el % H = 50 es la máxima capacidad de desarrollo de hembras si consideramos la relación macho:hembra (1:1) por la condición anfimíctica de este nematodo. Por consiguiente, los quistes de *G. pallida* que fueron extraídos por flotación en acetona

Cuadro 4. Índice de formación de hembras (% H) de *Globodera pallida* raza P4A en papa cv. Rosita. Prueba en placas de petri con J2 obtenidos en la prueba de emergencia (Cuadro 3).

Solvente	Tiempo de exposición (min)	Días de exposición en exudado radicular			
		7	14	21	28
Acetona	3	42.5 ^z	36.6	40.0	30.0
	6	48.0	30.0	36.6	35.0
	9	38.3	31.4	33.3	32.5
	12	40.0	32.0	37.1	32.0
Gasolina 84	3	33.8	24.0	30.0	33.0
	6	36.0	40.0	35.0	32.0
	9	40.0	35.0	30.0	30.0
	12	34.4	24.0	30.0	28.0
Gasolina 95	3	32.7	27.5	32.0	33.0
	6	41.6	40.0	33.0	33.0
	9	36.2	20.0	32.0	27.0
	12	36.6	30.0	30.0	30.0
Control (agua)	3	35.5	40.0	36.0	37.0
	6	38.5	30.0	32.0	30.0
	9	31.6	26.6	29.0	32.0
	12	32.8	35.0	36.0	33.0

^zÍndice mayor de 14 representa alta reproducción del nematodo.

y en gasolinas de 84 y 95 octanos no fueron afectados en la infectividad de los juveniles.

Efecto del tiempo de exposición a los solventes: No existió ninguna interacción significativa entre los solventes y tiempo de exposición de quistes, en la emergencia de J2 en exudado radicular del cv. susceptible Revolución. A los 7 días de emergencia de J2 no se observaron diferencias significativas tanto para solventes y tiempo de exposición como para la interacción entre los mismos. Lo mismo sucedió en la emergencia acumulativa total al final del estudio (Cuadro 3).

Aparentemente, los solventes utilizados no tienen efecto en la embriogénesis de los huevos o viabilidad de J2 considerando que estos emergieron rápidamente ante el estímulo de su hospedante. La prueba de infectividad (Cuadro 4) con los J2 que emergieron a los 7, 14, 21 y 28 días de exposición en exudado radicular indicó que estos tuvieron la capacidad para penetrar y desarrollarse en el cultivar susceptible Rosita. El tiempo de exposición de los quistes a los solventes no afectó al índice de formación de hembras (% H) en las cuatro fechas de evaluación. En consecuencia, la inmersión de los quistes en acetona y gasolina de 84 y 95 octanos por 12 min no afectó la emergencia de J2 ni su capacidad de penetración en raíces de papa.

LITERATURA CITADA

1. CANTO-SAENZ, M. y M. SCURRAH. 1977. Races of the potato cyst nematode in the andean region and a new system of classification. *Nematologica* 23:340-349.
2. FAULKNER, G. J. N. y D. N. GREET. 1984. A machine for the rapid and efficient separation of nematode cysts from dried root debris. *Nematologica* 30:99-102.
3. JUHL, M. 1973. A new suction trap with hand aspirator for collecting cysts and vermiform nematodes. *Nematologica* 19:399-400.
4. FENWICK, D. W. 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology* 18:155-172.
5. FENWICK, D. W. y E. WIDDOVISON. 1958. The conduct of hatching tests on cysts of the potato root eelworm *Heterodera rostochiensis* Woll. *Journal of Helminthology* 22:125-134.
6. FRANCO, J., A. GONZALEZ y A. MATOS. 1990. Evaluación de resistencia al nematodo del quiste de la papa (*Globodera pallida*). Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. 63 pp.
7. OOSTENBRINK, M. 1950. Het aardappelaaltje (*Heterodera rostochiensis* Wollenweber), een gevaarlijke parasiet voor de eenzijdige aardappelcultuur. Verslagen Mededelingen plziektenk Tenkuldig Dienst Wageningen No. 115. 230 pp.
8. SEINHORST, J. W. 1964. Methods for the extraction of *Heterodera* cysts from not previously dried samples. *Nematologica* 10:87-94.
9. SEINHORST, J. W. 1982. The distribution of cysts of *Globodera rostochiensis* on small plots and the resulting sampling errors. *Nematologica* 28:285-297.
10. SOUTHEY, J. F. (ed). 1970. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Technical Bulletin 2, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Her Majesty's Stationery Office, London. 148 pp.
11. SOUTHEY, J. F. 1974. Methods for detection of potato cyst nematodes. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) Bulletin 4:463-473.
12. TRUDGILL, D. L., K. EVANS y G. FAULKNER. 1973. A fluidising column for extracting nematodes from soil. *Nematologica* 18:469-475.

Recibido:

7.V.1992

Received:

Aceptado para publicación:

9.II.1993

Accepted for publication: