

SOBREVIVENCIA DE ESTADIOS BIOLÓGICOS DE *NACOBBUS ABERRANS* EN CONDICIONES DE CAMPO

A. J. Cristóbal,¹ I. Cid del Prado V.,¹ N. Marbán-Mendoza,² G. P. Sánchez,³
G. Mora-Aguilera¹ y L. R. H. Manzanilla⁴

Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad, Montecillo, México, CP 56230,¹ Km 38.5, Carretera México-Texcoco, Universidad Autónoma Chapingo, Dpto. de Parasitología Agrícola, Chapingo, México, CP 56230,² Colegio de Postgraduados, Instituto de Recursos Naturales, Montecillo, México, CP 56230,³ y IACR, Rothamsted, Harpenden, Hertfordshire, AL52JQ, U.K.⁴

RESUMEN

Cristóbal, A. J., I. Cid del Prado V., N. Marbán-Mendoza, G. P. Sánchez, G. Mora-Aguilera y L. R. H. Manzanilla. 2001. Sobrevivencia de estadios biológicos de *Nacobbus aberrans* en condiciones de campo. *Nematropica* 31:229-235.

Se estableció un experimento durante 12 meses que consistió en tener en condiciones de campo estadios biológicos de *Nacobbus aberrans* en microparcelas consistentes en: huevos con masa gelatinosa (HCMG), huevos sin masa gelatinosa (HSMG), juveniles de segundo estadio (J₂), juveniles del tercer y cuarto estadio (J₃J₄), raíces agalladas fragmentadas con todos los estadios del nematodo (RF) y testigo (sin nematodo). Los J₃ y J₄ sobrevivieron durante 12 meses a las condiciones experimentales expuestas, ya que conservaron su infectividad al ser inoculadas en raíces de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Río Grande. También en el tratamiento con RF se manifestó la presencia de agallas en raíces de tomate del mismo cultivar, con lo cual se infirió que quienes indujeron las agallas fueron los J₃ y J₄, los cuales permanecieron infectivos hasta el final del experimento. Lo anterior sugiere que estos J₃ y J₄ son protegidos por residuos vegetales y tienden a mantener su infectividad, cuando son expuestos a condiciones desfavorables del ambiente en ausencia de un hospedante susceptible. Asimismo, se demostró que estos estadios biológicos del nematodo, pueden formar parte del inóculo inicial primario en los siguientes ciclos de siembra.

Palabras clave: Estadios biológicos, *Nacobbus aberrans*, sobrevivencia.

ABSTRACT

Cristóbal, A. J., I. Cid del Prado V., N. Marbán-Mendoza, G. P. Sánchez, G. Mora-Aguilera, and L. R. H. Manzanilla. 2001. Survival of life stages of *Nacobbus aberrans* under field conditions. *Nematropica* 31:229-235.

An experiment was established in which different life stages of *Nacobbus aberrans* were maintained for 12 months in microplots. Treatments consisted of: 1) eggs with gelatinous matrix (EGM), 2) eggs without gelatinous matrix (EWGM), 3) second stage juveniles (J₂), 4) juveniles of 3rd and 4th stages (J₃J₄), 5) fragmented root-galls with all stages of the nematode (FR), and 6) controls (without nematode). The J₃J₄ stages maintained their ability to infect tomato roots following 12 months under the experimental conditions. The FR treatment also maintained viable nematodes for up to a year, presumably those in the J₃J₄ stages. The experiment demonstrated the likelihood that overwinter survival by J₃J₄ stages of *N. aberrans* is the primary source of inoculum in following crop cycles.

Key words: *Nacobbus aberrans*, nematode life stages, survival.

INTRODUCCIÓN

El mejor diagnóstico para atribuir el parasitismo por *Nacobbus aberrans* en plan-

tas hospedantes es la presencia de agallas en el sistema radical, que es producto de la hiperplasia y de la hipertrofia que induce el nematodo. Estas agallas en su mayoría

son pequeñas, separadas una de otras a manera de "rosario" y pueden estar vacías o contener hasta cinco hembras en chile (*Capsicum annuum* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). En hospedantes susceptibles se observa reducción en su crecimiento apical lo que resulta en un severo achaparramiento de las plantas, clorosis, enrollamiento de las hojas y marchitamiento general si se acompaña de una deficiencia de humedad durante las horas de insolación (Jatala, 1985).

En tomate y chile si la planta llega a la fructificación y maduración de frutos, éstos son pequeños, pierden firmeza, disminuyen su vida de anaquel y consecuentemente no tienen aceptación en el mercado.

El nematodo falso nodulador *N. aberrans*, debe su nombre por inducir agallas pequeñas en el sistema radical, que pueden confundirse con las inducidas por *Meloidogyne hapla* y *M. arenaria* (Luc *et al.*, 1990). Se encuentra distribuido en la parte norte del Continente Americano causando pérdidas en los Estados Unidos de Norte América en el cultivo de remolacha, en México en los cultivos de amaranto (*Amaranthus* spp.) tomate (*L. esculentum* Mill.), chile (*C. annuum* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y en Sudamérica en Bolivia, Chile, Argentina y Perú en los cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.), tomate y chile, principalmente (Brunner, 1967; Inserra *et al.*, 1985; Jatala, 1985).

A la fecha, se han intentado diversas estrategias y tácticas para su control, con el objetivo de disminuir pérdidas en los diferentes cultivos que afecta (Brunner, 1967; Cid del Prado *et al.*, 1996; Cristóbal *et al.*, 2000). Sin embargo, el manejo de *N. aberrans* sigue siendo insatisfactorio, debido a la falta de información relacionada con su ciclo biológico, estadios de sobrevivencia en el suelo y métodos de diagnósticos rápidos y confiables para su detección en muestras de suelo. Al parecer esto último a limitado en

mayor medida su control, ya que este patógeno puede encontrarse en el suelo en un estado de reposo y el número de estadios activos y viables recuperados a partir de muestras de suelo es nulo o muy reducido; lo que dificulta la posibilidad de establecer niveles poblacionales iniciales antes de establecer las siembras o transplantes de cultivos susceptibles.

La extracción de *N. aberrans* utilizando los métodos tradicionales, durante los períodos de descensos de temperatura y de sequía en terrenos infestados, es nula; esta especie puede tolerar la desecación durante 24 meses en los estadios de hembras y huevos (CIP, 1980).

Se conoce que las masas de huevos permanecen adheridas a residuos orgánicos, los cuales se separan del suelo junto a la materia orgánica, que por lo general es deshechada durante el procesamiento del suelo (IBTA/PROIMPA, 1998).

El presente trabajo tuvo como objetivo principal: Determinar cuál (es) de los estadios de *N. aberrans* constituye (en) las formas de sobrevivencia y por consiguiente de inóculo primario, durante los ciclos de siembra.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en los terrenos e invernaderos del Colegio de Postgraduados (CP), en Montecillo, Edo. de México, México.

Para realizar los estudios relacionados con los posibles estadios de resistencia del nematodo, en ausencia de hospedante susceptible y en condiciones naturales de campo, se utilizó la población del nematodo procedente de Montecillo, Edo. de México, para ello se estudiaron los siguientes tratamientos:

- 1) Huevos con masas gelatinosa (HCMG)
- 2) Huevos sin masa gelatinosa (HSMG)
- 3) Juveniles J₂ (J₂)

- 4) Juveniles J_3 + Juveniles J_4 (J_3 y J_4)
- 5) Raíces agalladas fragmentadas (RF)
- 6) Testigo (sin estadio del nematodo) (T)

El suelo donde se establecieron los tratamientos, fue recolectado de los terrenos experimentales del CP y esterilizado mediante calor. El tipo de suelo es clasificado como Fluventic Haplustolls (Cachón *et al.*, 1976; USDA-SCS, 1994), Serie Arenal, Unidad de Capacidad IIIh1 (Ortiz, 1979). Es considerado un suelo de textura media, con reacción moderadamente alcalina, de fertilidad natural baja y alto contenido de sales.

De acuerdo a la clasificación de Köppen, modificada por García (1973) el clima es considerado como templado subhúmedo, fresco con lluvias en verano, con una precipitación media anual de 664.8 mm, temperatura media anual de 12 y 18°C, temperatura media del mes más frío de 3 y 18°C y del mes más caliente de 22°.

Preparación del material biológico. Plantas de Chile (*C. annuum* L.) cv. Wonder tipo jalapeño, naturalmente infestado con el nematodo, fueron utilizadas para la obtención de raíces agalladas, masas de huevos con masa gelatinosa (HCMG) y huevos sin masa gelatinosa (HSMG). Éstos últimos se obtuvieron desintegrando manualmente las masas y lavándolas cuidadosamente con hipoclorito de sodio al 1%, para enseguida lavarlas con agua corriente. Se prepararon soluciones madre y diluciones para obtener el nivel de inóculo deseado. Para obtener los juveniles J_2 (J_2) también se recolectaron de raíces agalladas, masas de huevos que se incubaron a 26°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), hasta obtener la eclosión de los juveniles J_2 . Posteriormente se prepararon soluciones madre y diluciones para preparar el inóculo establecido. La mezcla del tratamiento de Juveniles J_3 y Juveniles J_4 (J_3 y J_4) se obtuvieron a partir de raíces fragmentadas que se procesaron mediante la técnica de licuado-centrifuga-

do, hasta obtener la cantidad de inóculo deseado. El tratamiento de raíces fragmentadas (RF) se obtuvo con las fragmentaciones de raíces de aproximadamente un cm de largo. El testigo (T) consistió de suelo estéril, sin ningún estadio del nematodo.

Verificación del inóculo: Para verificar la viabilidad del inóculo, cada tratamiento fue colocado en vasos de poliuretano de 500 ml de capacidad, que contenían 400 g de suelo estéril, proveniente del campo experimental de Montecillo, donde se transplantaron dos plantas de tomate cv. Río Grande de un mes, las cuales permanecieron en condiciones de invernadero durante 45 días. La presencia de agallas en las raíces se consideró para estimar la infectividad y recuperación de viabilidad del nematodo. En este bioensayo los HCMG, HSMG y J_2 , tuvieron un nivel de inóculo de: un huevo con masa gelatinosa, un huevo sin masa gelatinosa y un juvenil de segundo estadio, respectivamente, por gramo de suelo estéril. Para los J_3 y J_4 , un juvenil de tercer estadio o un juvenil de cuarto estadio por cuatro gramos de suelo estéril; para las RF se inocularon diez gramos de éstas por 400 g de suelo estéril y el testigo sin nematodos. El experimento se condujo bajo un diseño completamente aleatorio con cuatro repeticiones por tratamiento.

Conducción del experimento en campo: Se agregaron 10 kg de suelo de campo previamente esterilizados, en contenedores de la misma capacidad y se llevaron a condiciones de campo, donde se enterraron formando microparcelas (Baker, 1987). Cada tratamiento consistió de cuatro repeticiones, distribuidas en un diseño completamente aleatorio. Los tratamientos HCMG, HSMG, J_2 y J_3 y J_4 , se inocularon con 5000 unidades biológicas por repetición; el tratamiento RF, cada repetición se inoculó con 500 g de raíces agalladas fragmentadas y finalmente el tratamiento T, consistió solo de suelo estéril inoculado con 100 ml

de agua destilada estéril. Mensualmente, de cada repetición se tomaron 400 g de suelo, se depositaron en vasos de poliuretano de 500 ml de capacidad, y se transplantaron dos plántulas de tomate cv. Río Grande de un mes de edad, las cuales posteriormente se llevaron a condiciones de invernadero durante 45 días, como en el caso de la verificación del inoculo. Se consideró la presencia de agallas y estadios biológicos del nematodo en las raíces como indicativo de recuperación e infectividad de los estadios de *N. aberrans*.

Con la finalidad de estimar al mejor tratamiento en la recuperación de la infectividad del nematodo, se realizó un análisis de varianza total y mensual, también una comparación múltiple de medias por el método de Tukey ($P = 0.05$).

El experimento se estableció de septiembre 1999 a agosto del 2000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este bioensayo mostraron que, en todos los tratamiento excepto en el testigo, se indujo la formación de aga-

llas lo cual nos confirmó la viabilidad de los estadios biológicos del nematodo, bajo las condiciones descritas y antes de someterlos a condiciones de campo y ausencia de un hospedante susceptible.

En el Cuadro 1, se sintetizan los tratamientos que durante el período Sept/1999-Agost/2000, registraron la recuperación e infectividad del nematodo, donde se puede observar que los tratamientos J_3 y J_4 y RF, fueron capaces de permanecer viables después de un año de exposición a las condiciones que se establecieron, lo cual hace suponer, que los estadios juveniles J_3 y juveniles J_4 de *N. aberrans* sobreviven más a las condiciones extremas de temperatura, humedad y ausencia de hospedantes susceptibles, comparados con el resto de los estadios biológicos. Resultados similares fueron notificados por Manzanilla *et al.* (2000), al encontrar a los juveniles J_3 y Juveniles J_4 como tolerantes a la deshidratación gradual hasta por 15 días en un rango de 20% al 100% de humedad relativa. También encontraron cierta tolerancia a la deshidratación gradual de las masas de huevo del nematodo, en menor medida que los juve-

Cuadro 1. Resultados obtenidos del experimento de estadios de resistencia, después de 12 meses de establecido en Montecillo, Edo. de México, México

| Trat. | Tiempo de exposición Sept/1999, Agost/2000 | | | | | | | | | | | |
|------------|--|------|------|------|------|------|-------|------|------|------|------|--------|
| | Sept. | Oct. | Nov. | Dic. | Ene. | Feb. | Marz. | Abr. | May. | Jun. | Jul. | Agost. |
| HCMG | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| HSMG | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| J_2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| J_3, J_4 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| RF | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| T | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

HCMG = Huevos con masa gelatinosa, HSMG = Huevos sin masa gelatinosa, J_2 = Juveniles J_2 , J_3, J_4 = Juveniles J_3 y Juveniles J_4 , RF = Raíces fragmentadas, T = Testigo.

- sin presencia de agallas.

+ presencia de agallas.

niles J_3 y juveniles J_4 , en este estudio no se encontró en ninguna evaluación alguna recuperación de infectividad de las masas de huevos.

En el caso del tratamiento de RF, es posible que los juveniles J_3 y juveniles J_4 , al quedar dentro de las raíces y permanecer en el suelo, queden protegidos del ambiente edáfico, temperatura y humedad y una vez que se presentan condiciones favorables para su desarrollo, se activen y continúen con su ciclo biológico, con mayor probabilidad de éxito de infectar un hospedante susceptible, que aquellos nematodos que sólo permanecen asociados con las partículas del suelo. Es común que en un tratamiento como el de RF, se encuentren todos los estadios biológicos del nematodo, incluyendo hembras jóvenes, y considerarlas como un estado de sobrevivencia más; sin embargo, Manzaniella y Pérez (1999), mostraron experimentalmente que dichos estadios, no tiene tanta tolerancia a la deshidratación como los juveniles J_3 y juveniles J_4 , por lo que se descarta la posibilidad de que formen parte de los estadios de sobrevivencia del nematodo.

La cantidad de agallas, así como la recuperación de juveniles filiformes en suelo y raíz, en los tratamientos que recuperaron la infectividad de *N. aberrans*, estuvo determinada por las condiciones de temperatura y humedad, ya que a partir de los meses de marzo-agosto/2000 se registraron los mayores niveles de temperatura, tanto en suelo a 20 cm de profundidad, como a la intemperie. Asimismo, la precipitación total mensual dió inicio en el mes de febrero, lo que propició para estas fechas, la presencia de humedad en las microparcelas que contenían los tratamientos; estos factores al parecer, interrumpieron un posible fenómeno de anhidrobiósis en el nematodo que culminó con la presencia del hospedante suscepti-

ble. La mayor precipitación total se registró en el mes de junio, el mayor registro de temperatura en abril (Figs. 1A, 2B y 3C).

Al estimar la cantidad total de agallas en los tratamientos que mostraron una recuperación de infectividad del nematodo, después de 12 meses de exposición en condiciones de campo, el análisis de varianza mostró altas diferencias significativas ($P = 0.01$). La comparación de medias por el método de (Tukey $P = 0.05$), separó al tratamiento de RF como el mejor, al conseguir 15.3 agallas por planta durante el experimento, mientras que el tratamiento J_3J_4 obtuvo un 5.5, promedio total de agallas por planta.

Lo anterior confirma el supuesto de que los juveniles J_3 y J_4 , están protegidos por los fragmentos de raíces de las condiciones adversas al nematodo y tienen

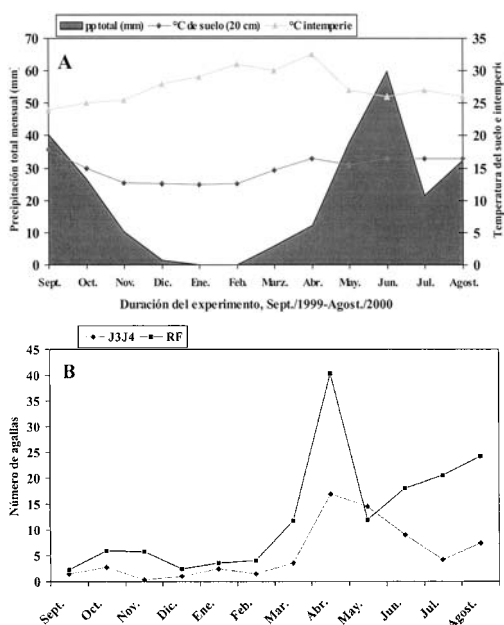


Fig. 1. Relación de factores ambientales (A) y la recuperación de infectividad del nematodo, con la inducción de agallas (B) en tomate (*L. esculentum* Mill.) cv. Río Grande, en los tratamientos de J_3J_4 y RF.

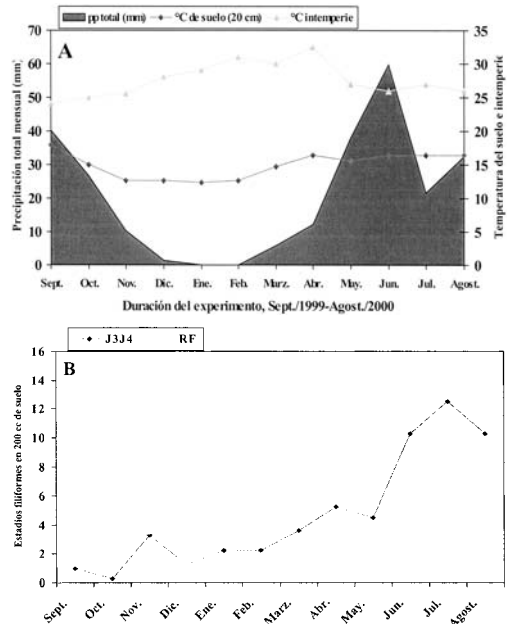
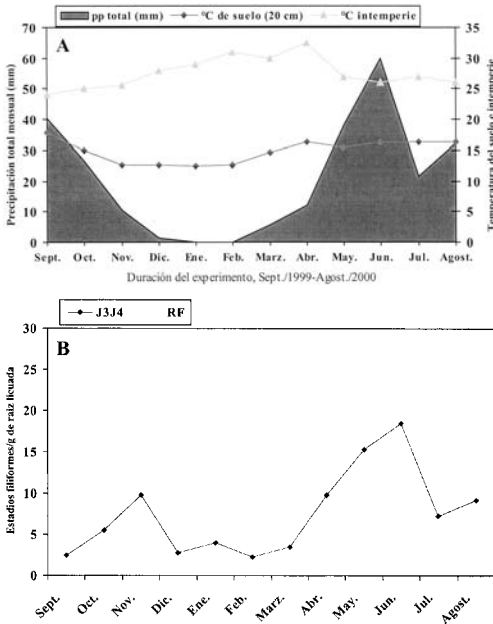


Fig. 2. Relación de factores ambientales (A) y la cantidad de estadios filiformes (B) encontrados en raíces de tomate (*L. esculentum* Mill.) cv. Río Grande, en los tratamientos de J₃J₄ y RF.

Fig. 3. Relación de factores ambientales (A) y la cantidad de estadios filiformes (B) recuperados en suelo con raíces de tomate (*L. esculentum* Mill.) cv. Río Grande, en los tratamientos de J₃J₄ y RF.

menor dificultad de recuperación, cuando los factores de humedad, temperatura y hospedante susceptible le favorecen.

Por otra parte, al estimar la eficiencia de recuperación de infectividad mensual, en los tratamientos de J₃J₄ y RF, con la inducción de agallas en raíces de tomate cv. Río Grande, el análisis de varianza no mostró diferencias significativas, durante

los primeros cinco meses de evaluación, es decir, de Sept./1999 a Ene./2000. Sin embargo, a partir del sexto mes hasta el último mes, se detectaron diferencias significativas entre los dos tratamiento, ($P = 0.01$), la comparación múltiple de medias (Tukey $P = 0.05$), separó al tratamiento de RF, como el que mejor recuperó la infectividad del nematodo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Número de agallas promedio mensual, en los tratamientos que recuperaron la infectividad de *N. aberrans*.

| | Tiempo de exposición Sept/1999, Agost/2000 | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|--|--------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|
| Trat. | Sept. | Oct. | Nov. | Dic. | Ene. | Feb. | Marz. | Abr. | May. | Jun. | Jul. | Agost. |
| J ₃ J ₄ | 1.5 a ^c | 2.75 a | 0.25 a | 0.25 a | 2.5 a | 1.5 b | 3.5 b | 17.0 b | 14.0 b | 9.0 b | 4.0 b | 7.5 b |
| RF | 2.25 a | 6.0 a | 5.75 a | 5.75 a | 3.5 a | 4.5 a | 14.25 a | 40.25 a | 42.5 a | 18.0 a | 20.5 a | 24.25 a |

^cCifras con la misma literal en la misma columna, son estadísticamente iguales Tukey ($P = 0.05$).

LITERATURA CITADA

- BAKER, K. R. 1987. Diseño de experimentos en invernaderos y microparcels para evaluar resistencia a nematodos. Pp. 113-120 *en* Fitonematología Avanzada. I. M. N. Marbán, y J. I. Thomason, eds. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, México.
- BRUNNER, M. P. 1967. "Jicamilla del chile causada por un nuevo nematodo y obtención de fuentes de resistencia". *Agrociencia*. 2:92-98.
- CACHÓN, A. L. E., H. N. REYES y De la C. E. H. CUANALO. 1976. Los suelos del área de influencia de Chapingo. S.A.G. Colegio de Postgraduados. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México, 79 pp.
- CID DEL PRADO V., I., K. EVANS, L. R. H., MANZANILLA, J. C. CRISTÓBAL y A. G. E. FRANCO. 1996. Evaluación de algunas estrategias para el manejo de *Nacobbus aberrans* en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. Resumen. Congreso Nacional de Fitopatología, Guadalajara, Jalisco, México.
- CIP, 1980. Falso nematodo del nudo. Pp. 41-43 *en* Informe Anual del CIP, 1979. Lima Perú.
- CRISTÓBAL, A. J., V. I. CID DEL PRADO, L. R. H. MANZANILLA, M. N. MARBÁN, A. G. MORA y G. P. SÁNCHEZ. 2000. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad del agallamiento radical en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ocasionada por *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 30:120.
- GARCÍA, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. Instituto de geografía, UNAM. México.
- IBTA/PROIMPA, 1998. Incidencia y severidad de *Nacobbus aberrans* y *Globodera* spp. en el cultivo de la papa en Bolivia. Pérdidas en el valor bruto de su producción. Cochabamba, Bolivia, 208 pp.
- INSERRA, R. N., G. D. GRIFFIN, and J. L. ANDERSON. 1985. The false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *Research Bulletin* 510. Utah Agricultural Experimental Station Logan. Utah, USA. 14 pp.
- JATALA, P. 1985. El nematodo falso nodulador de la raíz: *Nacobbus aberrans*. Pp. 47-55 *en* Fitonematología Avanzada I. M. N. Marbán y J. I. Thomason, eds. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, México.
- LUC, R., A. A. SIKORA, and J. BRIDGE. 1990. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International, Wallingford, U.K.
- MANZANILLA, L. R. H., and V. O. PÉREZ. 1999. Survival of dehydration and infectivity of the developmental stages of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944. *Nematropica* 29:125-126.
- MANZANILLA, L. R. H., C. M. PLUMA y M. E. LÓPEZ. 2000. Tolerancia a la deshidratación e infectividad de juveniles y masas de huevos de *Nacobbus aberrans* (Nematoda: Pratylenchidae). *Nematropica* 30:136-137.
- ORTÍZ, C. A. 1979. Levantamiento de suelos del campo experimental Montecillo. Colegio de Postgraduados. S.A.R.H. Chapingo, México. 37 pp.
- USDA-SCS. 1994. Claves para la taxonomía de suelos, 6th Ed. Trad. por C. A. Ortíz y C. Gutiérrez. 1995. SMCS. México, pp. 187-231.

Received:

12.I.2001

Accepted for publication:

17.X.2001

Recibido:

Aceptado para publicación:

BLANK PAGE USED IN PAGE COUNT