

# ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS CAUSADAS POR *MELOIDOGYNE INCOGNITA* EN ALMENDRO (*PRUNUS AMYGDALUS*)

L. Rosso<sup>1</sup>, A. De Candia<sup>2</sup>, P. Leonetti<sup>1</sup>, y A. Ciancio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto per la Protezione delle Piante, Sezione di Bari, C.N.R. and <sup>2</sup>Dipartimento di Genetica, Biologia Generale e Molecolare, Università di Napoli, Italia.

---

## RESUMEN

Rosso, L., A. De Candia, P. Leonetti, y A. Ciancio. 2004. Alteraciones histopatológicas causadas por *Meloidogyne incognita* en almendro (*Prunus amygdalus*). *Nematropica* 34:257-261.

En el sur de Sicilia, se observaron daños importantes en una plantación joven de almendro naturalmente infectada por el nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. El parasitismo del nematodo se vió favorecido por la susceptibilidad del portainjerto franco y el suelo arenoso en el que se desarrollaron las plantas. En la raíz principal y raíces laterales se observaron numerosas agallas grandes, que causaron una severa reducción de la funcionalidad del sistema radical. El estudio histopatológico reveló la presencia de células gigantes en el cilindro central, caracterizadas por presentar citoplasma denso, núcleos heterocromáticos hipertróficos y pared celular engrosada. El establecimiento de los sitios de alimentación provocó interrupciones, reducciones y alteraciones en la continuidad del tejido vascular. La producción se redujo cuantitativa y cualitativamente en las plantas infectadas.

*Palabras clave:* almendro, histopatología, *Meloidogyne*, parasitismo.

---

## ABSTRACT

Rosso, L., A. De Candia, P. Leonetti, and A. Ciancio 2004. Histopathological changes caused by *Meloidogyne incognita* on almond (*Prunus amygdalus*). *Nematropica* 34:257-261.

Severe root damage induced by a population of *Meloidogyne incognita* was observed in a naturally infested almond orchard in southern Sicily. The nematode attack was favoured by the susceptibility of the unselected rootstocks and the sandy soil. Several large galls were visible on principal and lateral roots, inducing a severe reduction of the radical system functionality. The giant cells observed into the vascular cylinder, were characterized by a dense cytoplasm, hypertrophy, heterochromatic nuclei, and thicker cell walls. The feeding sites caused interruptions, reductions and alterations in the continuity of the vascular tissues. In parasitized plants the production of almond nuts was lower both in quantity and quality.

*Key words:* almond, histopathology, *Meloidogyne*, parasitism.

---

## INTRODUCCIÓN

Italia, junto a España y Estados Unidos, son los mayores productores de almendras del mundo (Nyczepir y Halbrecht, 1993). De los nematodos fitoparásitos que atacan al género *Prunus*, las especies pertenecientes al género *Meloidogyne* son las más perjudiciales. *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White, 1918) Chitwood 1949 es una de las especies de mayor importancia que

afecta a esta drupácea y constituye un factor limitante en la producción de almendras, principalmente en suelos arenosos (Di Vito *et al.*, 1980). Las plantas jóvenes de almendro (*Prunus amygdalus* Batsch) infectadas por *Meloidogyne* spp. muestran escaso desarrollo con cese o disminución del crecimiento. Asimismo en las plantas adultas se observan deficiencias hídricas y nutricionales, disminución del área foliar y reducción del tamaño del fruto, lo que se traduce en

una reducción del vigor y rendimiento de la producción (Nyczepir y Halbrendt, 1993).

La estrategia de control más práctica y eficiente de *Meloidogyne* spp. en *Prunus* está basada en la utilización de la resistencia del huésped (Marull *et al.* 1991). Entre los autores que en España e Italia han realizado estudios histopatológicos para evaluar la resistencia al ataque de *M. incognita* en durazno e híbridos de almendro-duraznero, Di Vito *et al.* (1980) señalan en líneas de duraznero susceptibles a *M. javanica* (Treub) Chitw. una acentuada hiperplasia del parénquima vascular y cortical, y la formación de amplias áreas necróticas en los tejidos adyacentes a las hembras en estado de senescencia. En raíces de durazneros resistentes a *M. incognita* se observó acumulación de lignina y suberina en las células próximas al nematodo (Simeone, 1987). Se describió también la presencia de tílides y esclereidas, las cuales se consideran como una respuesta de defensa de la planta a la infección del nematodo. Marull *et al.* (1994) señalaron la presencia de una barrera constituida por 4 a 8 capas de células necróticas con alta concentración de calosa como respuesta relacionada con un mecanismo hipersensible que conduce a la degradación progresiva de las células gigantes, impidiendo el desarrollo del nematodo.

La resistencia vegetal, como estrategia de control, puede verse amenazada por varios factores. Así, la temperatura es un factor muy importante ya que afecta la expresión de la resistencia en algunos portainjertos de *Prunus*. El límite de temperatura para el normal mantenimiento de la resistencia en algunos genotipos es de 27°C, y la pérdida parcial de la resistencia en algunos híbridos almendro-duraznero constituye un factor que debe tomarse en consideración en regiones de clima templado (Fernandez *et al.*, 1993).

Las malezas, a menudo huéspedes alternativos de *Meloidogyne* spp., presentes

en los sistemas agrícolas influyen también en el desarrollo de la población del nematodo. Especies endémicas en el ambiente mediterráneo como *Chenopodium album* han sido calificadas como "muy buen" huésped para *M. incognita* y *M. arenaria* (Tedford *et al.*, 1988).

En almendro no se dispone de información sobre las alteraciones histopatológicas, aunque sea conocida la susceptibilidad de este cultivo al género *Meloidogyne* (Nyczepir y Halbrendt, 1993). En este trabajo se presentan algunas observaciones sobre las alteraciones histopatológicas causadas por *M. incognita* en el sistema radical del almendro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron macroscópicamente árboles de 2-3 años de *Prunus amygdalus* cv. Genco pertenecientes a una plantación naturalmente infectada por *M. incognita*, localizada en Pedalino (Ragusa), injertada sobre portainjertos de almendro no seleccionados (franco) y cultivados en suelo arenoso. Asimismo, se estudió la infección por el nematodo en la maleza predominante en la plantación, *Chenopodium album*.

En primavera y verano se muestrearon plantas infectadas por *M. incognita*, exponiendo las raíces y tomando muestras del sistema radical junto a 1000-2000 cm<sup>3</sup> de suelo. Para evaluar las poblaciones del nematodo se procesaron 250 cm<sup>3</sup> de suelo siguiendo el método de extracción de Cobb (1918).

Mediante disección directa de las raíces bajo un microscopio estereoscópico, se extrajeron hembras adultas, se cortaron para preparar patrones perineales y estos se colocaron en glicerina para su estudio (Hartman y Sasser, 1985).

Para el análisis histopatológico, se seleccionaron raíces naturalmente infectadas por el nematodo. Las agallas se cor-

taron en fragmentos no mayores de 5 mm, se lavaron cuidadosamente con agua y fijaron en FAA (formol, ácido acético, etanol, agua; 30:5:5:15 v/v). Transcurridas 72 horas, el material seleccionado se deshidrató en una serie ascendente de alcohol etílico (70°-80°-90°-96°-100°); alcohol 100°-xilol (3:1-1:1-1:3); xilol-Histowax (3:1-1:1-1:3), Histowax (Reichert-Jung) puro dos cambios e inclusión a 57-58°C. Los segmentos incluidos se cortaron con un microtomo rotativo en secciones transversales consecutivas de 8-10 µm de espesor. Las secciones se colocaron en portaobjetos, se tiñeron con hematoxilina—safranina—fast green y se montaron en DPX (Fluka Chemika) (Johansen, 1940; O'Brien y Mc Cully, 1981).

## RESULTADOS Y DISCUSION

El daño producido por el ataque del nematodo se manifestó en el sistema radical de *P. amygdalus* con agallas grandes, numerosas e irregulares de tamaño variable entre 3-15 mm (Fig. 1A). En la misma parcela, se observó la presencia de plantas de *Chenopodium album* con agallas producidas por el ataque del mismo nematodo. La densidad de población del nematodo en el suelo superó los 1500 juveniles de segundo estadio por 100 cm<sup>3</sup> de suelo en los meses de julio y septiembre. El ataque del nematodo causó una disminución del 50% en el tamaño y la producción de los frutos en las plantas infectadas en comparación con las plantas de la misma parcela no infectadas (Fig. 1B). En las raíces no infectadas, no se observaron alteraciones histopatológicas ni alteraciones en la disposición de los tejidos radicales (Fig. 1C). El análisis histopatológico de las agallas mostró la formación de células gigantes en el cilindro central, inducidas por el nematodo como sitio de alimentación. Estas células, de forma irregular, presentaban dimensiones 6-7 veces

superiores al de las células parenquimáticas vecinas (Fig. 1D). El sitio de alimentación estaba constituido aproximadamente por 6 a 10 células gigantes que se caracterizaban en el estadio inicial de diferenciación celular, por presentar pared celular ligeramente engrosada y citoplasma vacuolizado. Los núcleos múltiples (4 a 8 por célula) eran hipertróficos con membrana nuclear lobulada y nucléolo evidente (Fig. 1E). Cada célula gigante madura se caracterizaba por presentar pared celular bien desarrollada y citoplasma moderadamente vacuolizado con los numerosos nucleos dispuestos en grupos (Fig. 1F). La presencia de hembras y el desarrollo del sitio de alimentación estaban relacionados con un desorden significativo en los tejidos radicales, observándose reducción del tejido cortical y alteraciones en los tejidos vasculares. En ocasiones, se observó el xilema desplazado y fraccionado con sus elementos en posición anómala. A este desorden contribuían fenómenos de hiperplasia e hipertrofia cortical que determinaron un aumento considerable del tamaño de la agalla (Fig. 1F, 1G).

Se observaron juveniles en el tejido cortical y en el cilindro central. En el tejido contiguo no se observaron señales de defensa por parte de las plantas. Las hembras se dispusieron con la región anterior en el cilindro central, extendiéndose hacia el tejido cortical y la región posterior en contacto con el exterior. En los tejidos adyacentes a las hembras se observaron fenómenos de hiperplasia e hipertrofia, llegando en ocasiones a afectar el parénquima del cilindro vascular (Fig. 1G). Areas de tejido suberizado y necrosis celular se observaron cercanas a la masa de huevos (Fig. 1H).

Las observaciones macroscópicas y microscópicas demuestran que el daño provocado por la infección de *M. incognita* en almendro condujo a un declive fisiológico que se vió reflejado en una disminución cuantitativa y cualitativa de la producción

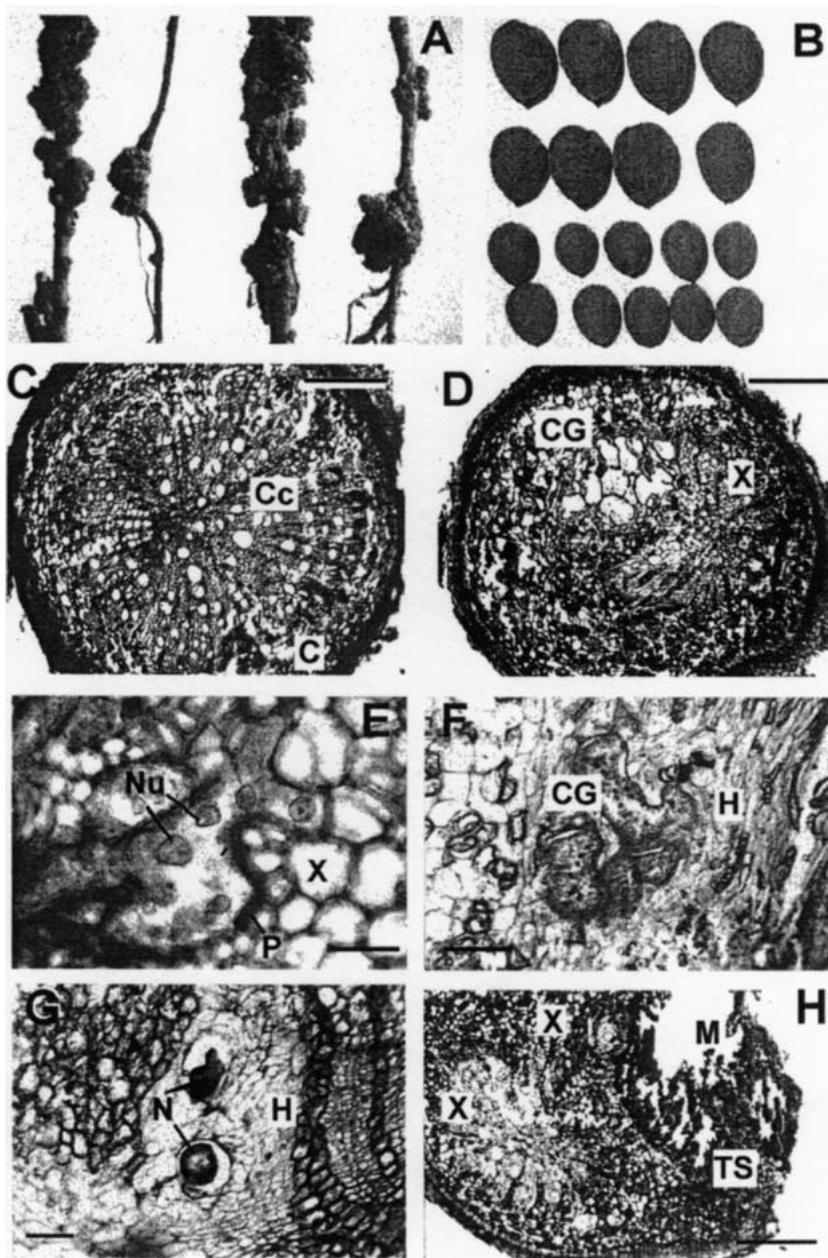


Fig. 1. Detalle de las agallas en raíces de almendro portainjerto no seleccionado (*Prunus amygdalus*) atacadas por *Meiodogyne incognita* (A). Almendras producidas por plantas sanas (dos líneas superiores) e infectadas (dos líneas inferiores) (B). Secciones transversales de raíces del portainjerto: Raíz sana (C). Raíz infectada mostrando sitio de alimentación en el cilindro central (D). Célula gigante en estadio inicial (E). Célula gigante madura (F). Hiperplasia del tejido adyacente a la masa de huevos (G). Rotura del xilema, hiperplasia, suberificación y necrosis del tejido adyacente a la masa de huevos (H). Escalas: C, D, H: 250  $\mu$ m; E: 20  $\mu$ m; G: 65  $\mu$ m. Abreviaturas: C = cortex; Cc = cilindro central; CG = célula gigante; H = tejido hiperplásico; M = masa de huevos; N = nematodo; Nu = núcleo; P = pared celular; Ts = tejido suberificado; X = xilema.

de frutos, con grave pérdida económica. Las alteraciones histopatológicas descritas sobre plantas susceptibles de duraznero e híbridos almendro—duraznero (Di Vito *et al.*, 1980; Simeone, 1987), coinciden con las observadas en este estudio en *P. amygdalus*. Las características de las células gigantes observadas en almendro en este estudio se corresponde con las señaladas para otras combinaciones de *Meloidogyne*—planta huésped susceptibles (Jones, 1981).

La presencia en la parcela de *Chenopodium album*, que a menudo constituyen un reservorio natural para el mantenimiento de focos de infección en el campo, junto con el tipo de suelo y el clima templado, probablemente hayan contribuido al desarrollo del nematodo. Esto pone de manifiesto la importancia que tiene un buen programa de manejo de malezas, realizar un análisis nematológico previo de la parcela donde se realizará la plantación y un control del material genético utilizado como portainjerto.

Por todo ello en la actualidad el uso y desarrollo de variedades de almendro resistentes es la alternativa más eficaz y económica para conseguir un control efectivo de *Meloidogyne* spp. en ambientes favorables para su desarrollo.

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece la asistencia del Dr. Angelo Loffredo y de la Dra. Eugenia Lorenzo en el procesamiento de las muestras nematológicas e histopatológicas.

#### BIBLIOGRAFIA

COBB, N. A. 1918. Estimating the nema population of the soil. Agric. Tech. Circ., Bur. Pl. Ind., U. Dept. Agric., pp. 1-48.

- DI VITO, M., R. N. INSERRA, y N. VOVLAS. 1980. Reazione di alcuni portainnesti di pesco alle infestazioni di *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica*. Rivista Ortoflorofruitt 64:222-227.
- FERNANDEZ, C., J. PINOCHET, y A. FELIPE. 1993. Influence of temperature on the expression of resistance in six *Prunus* rootstocks infected with *Meloidogyne incognita*. Nematropica 23:195-202.
- HARTMAN, K. M. y J. N. SASSER. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on basis of differential host test and perineal-pattern morphology. Pp. 69-77 in K. R. Barker, C. C. Carter, and J. N. Sasser, eds. An advanced treatise on *Meloidogyne*. NCSU Graphics, Raleigh.
- JOHANSEN, D. A. 1940. Plant microtechnique 523 pp. Mac Graw Hill, New York.
- JONES, M. G. K. 1981. The Development and function of Plant Cells Modified by Endoparasitic Nematodes, Vol. 3. Pp. 255-279 in B. M. Zuckerman, ed. Plant Parasitic Nematodes. Academic Press, New York-London.
- MARULL, J., J. PINOCHET, A. FELIPE, y J. L. CENIS. 1994. Resistance verification in *Prunus* selections to a mixture of thirteen *Meloidogyne* isolates and resistance mechanisms of a peach-almond hybrid to *M. javanica*. Fundamental Applied Nematology 17:85-92.
- MARULL, J., J. PINOCHET, S. VERDEJO, y A. SOLER. 1991. Reaction of *Prunus* roots stocks to *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria* in Spain. Journal of Nematology 23:564-569.
- NYCZEPIR, A. P., y J. M. HALBRENDT. 1993. Nematode pests of deciduous fruit and Nut trees. Pp. 381-425 in K. Evans, D. J. Trudgill, and J. M. Webster, eds. Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. CAB International, Wallingford, UK.
- O'BRIEN, T. P., y M. E. MC CULLY. 1981. The study of plant structure: Principles and selected methods. Termancarphi PTY Ltd., Melbourne, Australia.
- SIMEONE, A. M. 1987. Osservazioni istologiche su radici di pesco resistenti e sensibili a *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White, 1918) Chitwood 1949. Informatore fitopatologico 4:37-40.
- TEDFORD, E. C., y B. A. FORTNUM. 1988. Weed Host of *Meloidogyne arenaria* and *M. Incognita* Common in Tobacco Fields in South Carolina. Annals of Applied Nematology 2:102-105.

Received:

00.00.2004

Accepted for Publication:

00.00.2005

Recibido:

Aceptado para publicacion:





