

MORFOMETRIA Y RESPUESTA DE HOSPEDANTES DIFERENCIALES A TRES POBLACIONES DE *Meloidogyne incognita* Y UNA DE *M. javanica*.^{1*}

Róger López** y D. W. Dickson***

ABSTRACT

Host response and morphometrics of three populations of *Meloidogyne incognita* and one of *M. javanica*. The interpretation of a morphometric study of three populations of *M. incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949, and one of *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, from Florida, U.S.A., revealed significant differences among populations in several characters of second stage larvae, males and females. Males of *M. javanica* had two gonads, and the lateral fields were not areolated, whereas *M. incognita* males had one gonad, and the lateral fields were areolated. Differences were also noted in the interpretation of the female perineal patterns of the two species. In *M. javanica*, the patterns had lateral incisures, and the striae were smooth, whereas in *M. incognita*, there were not lateral incisures, and the striae were wavy. Strawberry, cotton and peanut were not hosts for the nematodes, whereas watermelon and 'All Gold' sweetpotato were. Corn was rated as a poor host for both species. 'Puerto Rico' sweetpotato and pepper were hosts for *M. incognita*, but not for *M. javanica*. 'NC-95' tobacco was host for the *M. javanica* population, but not for the *M. incognita* populations.

INTRODUCCION

Meloidogyne spp., agentes causales de la enfermedad de los "nódulos radicales" de numerosas plantas cultivadas y silvestres, constituyen uno de los principales géneros de nemátodos fitoparásitos. Son comunes dentro de este género variaciones

intraespecíficas en su morfología y ámbito de hospedantes (7,9). Se considera que la caracterización morfológica, en coordinación con el estudio de la dinámica de poblaciones, podría permitir desarrollar un método preciso, rápido y práctico para la identificación de las especies y sus variantes, así como la aplicación de medidas de combate más efectivas.

El objetivo de esta investigación fue el de determinar ciertas características morfológicas de larvas en el segundo estadio, los machos y las hembras, de tres poblaciones de *M. incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949, y una de *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, así como observar la respuesta de nueve hospedantes diferenciales inoculados con estas poblaciones, con el fin de determinar si existía relación entre su morfología y su habilidad para parasitar algunos de estos hospedantes. Este trabajo se realizó en el Departamento de Entomología y Nematología de la Universidad de Florida, durante los años 1975 y 1976. Un resumen parcial del mismo ha sido publicado previamente (8).

¹ Recibido para su publicación el 17 de marzo de 1977.

* Parte de una tesis presentada por el primer autor como requisito parcial para optar al grado de Master of Science en la Universidad de Florida. Autorizado para publicación como Florida Agricultural Experiment Station Series No. 573.

** Laboratorio de Nematología. Facultad de Agronomía. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. América Central.

*** Departamento de Entomología y Nematología. Universidad de Florida. Gainesville, Florida 32611. U.S.A.

MATERIALES Y METODOS

La identificación de las poblaciones de nemátodos utilizadas en este estudio fue la siguiente: *M. incognita* 118 y *M. incognita* 122, colectadas ambas en papa; *M. incognita* 165, colectada en tabaco, y *M. javanica* 158, colectada en gandul; los números corresponden al registro de colecciones de *Meloidogyne* de la Universidad de Florida. Las cuatro poblaciones fueron aisladas de raíces procedentes de diferentes regiones del Estado de Florida, U.S.A.; se incrementaron en el invernadero a partir de una sola masa de huevos, inoculada en plántulas de tomate del cultivar "Rutgers". La temperatura se mantuvo entre 9 y 24 C. En todos los casos se utilizaron 1300 ml de una mezcla (1:3 v/v) de musgo de pantano y suelo arenoso desinfectado con bromuro de metilo (1.73 kg/m³).

Morfometría.

Para estudiar cada característica de los machos, las hembras y las larvas, se observaron 20 especímenes. Para el estudio de larvas se tomaron huevos recogidos al azar y se dejaron en agua destilada por 24 horas. Las larvas recién eclosionadas fueron montadas en una gota de agua sobre un portaobjetos y se colocó alrededor un anillo de Zut*. Posteriormente se puso un cubreobjetos encima. Para el estudio de los machos, se disectaron en agua las raíces afectadas, y los machos liberados fueron montados usando para ello el método descrito anteriormente para las larvas. En el estudio del diseño perineal de las hembras, estos fueron preparados de acuerdo al método descrito por Franklin (4) y luego modificado por Taylor y Netscher (10). Cada diseño perineal fue dividido en varias zonas (Fig. 1), de acuerdo al método de Esser, Perry y Taylor (3). Una de ellas es el perineo, o triángulo formado por la vulva y el ano. Las restantes se denominan de la siguiente manera: la zona 1 es una área circular en el centro del diseño, excluyendo el perineo; la zona 2 es el área anterior a la vulva; la zona 3 está localizada a ambos lados del perineo; la zona 4 está ubicada posteriormente al ano. Se anotó la presencia o ausencia de estrías en el perineo y en la zona 1. En

las zonas 2, 3 y 4 se observó la presencia y abundancia relativa de estrías interrumpidas o continuas, y onduladas o lisas.

Para medir el estilete y la distancia entre la base de los telorhabdiones y el orificio de la glándula dorsal esofágica (O.G.D.E.) en las hembras, se depositó una gota de Zut en un portaobjetos y se dejó secar al aire. Las hembras vivas fueron extraídas de raíces de tomate y montadas en la gota de Zut, en tal forma que la región del cuello quedara sobre ésta, pero el resto del cuerpo fuera de la gota. Posteriormente se aplicó una gota de lactofenol y se cubrió con un cubreobjetos.

Todas las medidas se tomaron con un micrómetro ocular calibrado, a 1000X de magnificación, excepto el largo total de las larvas, que fue tomado a 200X.

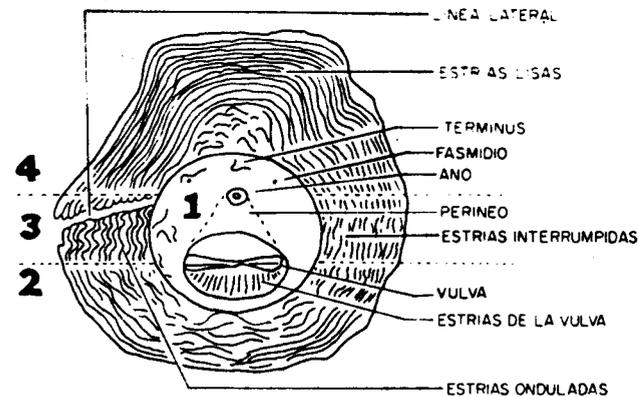


Fig. 1. Diseño perineal esquemático. 1: Zona 1; área circular en el centro del diseño. 2: Zona 2; área estriada anterior a la vulva. 3: Zona 3; área estriada, a ambos lados del perineo. 4: Zona 4; área estriada posterior al ano. (Redibujado de Esser, Perry y Taylor (3)).

* Producto sellador. Marca registrada de Bennett's, Salt Lake City, Utah.

Respuesta de hospedantes diferenciales.

Para este estudio se utilizaron plantas de maíz (*Zea mays* L.) cv. 'Minn A 401'; tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) cv. 'NC-95'; chile (*Capsicum annum* L.) cv. 'California Wonder'; algodón (*Gossypium hirsutum* L.) cv. 'Delta P.L. 16'; maní (*Arachis hypogea* L.) cv. 'Florunner'; sandía (*Citrullus vulgaris* Schard) cv. 'Charleston Gray'; fresa (*Fragaria* sp.) cv. "Allbritton"; camote (*Ipomoea batatas* (L) Lam) cv. 'All Gold' y cv. 'Puerto Rico'. Como indicadores de la viabilidad del inóculo se utilizaron plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) cv. 'Rutgers'. Los hospedantes crecieron en potes individuales pequeños, y luego fueron trasplantados a potes grandes, de 15 cm de diámetro. Las plántulas se inocularon de la siguiente forma: el maíz y camote a los 10 días de edad; el maní, algodón y sandía a los 16 días; el tomate a los 30 días, y el tabaco, la fresa y el chile a los 70 días de edad.

El inóculo consistió de huevos, los cuales fueron colectados de acuerdo al método descrito por Hussey y Barker (5), utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 1.05%. El número de huevos recobrados se determinó en cuatro alícuotas de 1 ml cada una. Posteriormente se pipeteó y mezcló profusamente con el suelo una densidad equivalente a 10000 huevos por pote. Cada combinación población-hospedante fue repetida cinco veces. Sesenta días después de la inoculación, las plantas fueron sacadas de los potes, sus raíces lavadas con agua y examinadas para determinar la presencia de masas de huevos. Cada planta fue evaluada de acuerdo al siguiente índice:

0 = 0 masas	3 = 11-30 masas
1 = 1-2 masas	4 = 31-100 masas
2 = 3-10 masas	5 = más de 100 masas

RESULTADOS Y DISCUSION

Morfometría

Hembras. Los promedios de las mediciones, junto con los rangos respectivos, así como la interpretación del diseño perineal de cada población se presentan en el Cuadro 1. Debido a que hubo variaciones en las zonas 2 a 4 del diseño perineal, se presenta sólo el tipo predominante. Se encontraron diferen-

cias significativas en la longitud del estilete y el O.G.D.E. La forma del diseño perineal fue similar en las cuatro poblaciones; la mayoría eran piriformes, con un arco trapezoidal, pero en unos pocos especímenes de *M. incognita* 118 y 122 los diseños eran redondeados. La presencia de incisuras laterales y estrías lisas en los diseños de *M. javanica* 158, los distinguió de los de las tres poblaciones de *M. incognita*. Una ilustración de los diseños de cada población se presenta en la Fig. 2.

Los valores de la longitud del estilete y O.G.D.E. aquí presentados son similares a los dados por otros autores (2,3,12). La ausencia de una protuberancia posterior y la forma del diseño perineal concuerda con informes anteriores (3,6,12), y la interpretación de las zonas del diseño perineal, en la mayoría de los casos, fue igual a la dada por Esser, Perry y Taylor (3) para las dos especies.

Machos. Los promedios y rangos de las mediciones en los machos se presentan en el Cuadro 2. Hubo diferencias significativas en la longitud del estilete, O.G.D.E. y la longitud de las espículas (cuerda del arco). El número de líneas laterales (cuatro) fue igual en todos los casos, pero la ausencia de areolación en los machos de *M. javanica* 158 los distinguió de los de las tres poblaciones de *M. incognita*. Además, un 95% de los machos de *M. javanica* 158 tenía dos gónadas y una hinchazón anterior a la cloaca, o incluso una vulva bien desarrollada, lo que los distinguía de los machos de *M. incognita*. Esta observación ya había sido anotada por Chitwood (2).

La longitud promedio del estilete en machos de las tres poblaciones de *M. incognita*, fue similar a los valores dados por Chitwood (2) y Whitehead (12), pero los valores del O.G.D.E. dados por estos autores y Kirby (6) y Esser *et al* (3), fueron menores que los encontrados en esta investigación para *M. incognita* 118 y 122. La longitud promedio de las espículas fue similar a los valores dados por estos autores (2,3,12). Los machos de *M. javanica* 158 tenían un estilete más pequeño que el valor dado por Chitwood (2), y la longitud de las espículas fue similar al valor dado por Whitehead (12), pero menor que el dado por Chitwood (2) para esta especie.

Larvas Las características evaluadas en especímenes del segundo estado larval se presentan

Fig. 2. Fotomicrografías del diseño perineal de hembras de *Meloidogyne* spp. A- *M. incognita* 118. B- *M. incognita* 122. C- *M. incognita* 165. D- *M. javanica* 158.

gitud de la cola, ancho máximo del cuerpo, diámetro anal, y en las proporciones alfa (longitud total/ancho máximo) y gama (longitud total/longitud de la cola).

en el Cuadro 3. En todos los casos el hemizonidio estaba colocado anterior al poro excretor, y los rectos eran dilatados. Hubo diferencias significativas en la longitud total de la larva, longitud de la cabeza (medida desde la base de los nódulos del estilete hasta la porción anterior del cuerpo), O.G.D.E., lon-

A pesar de haberse encontrado diferencias significativas en prácticamente todos los parámetros evaluados, ningún carácter individual pudo ser utilizado para distinguir entre las tres poblaciones de *M. incognita*, o al comparar éstas con la de *M. javanica*, debido a que los ámbitos de todas las medidas se traslaparon.

Cuadro 1. Características morfométricas de hembras de cuatro poblaciones de *Meloidogyne* spp. de Florida, U.S.A.

Característica	Poblaciones de <i>Meloidogyne</i>			
	M. javanica		M. incognita	
	158	118	122	165
Protuberancia posterior	no	no	no	no
Longitud de estilete (μ m)	14.6 b* (13.9-16.0)**	14.8 b (13.9-14.9)	14.0 a (12.8-16.0)	15.4 c (13.9-17.2)
O.G.D.E. (μ m)***	3.6 c (2.6-4.2)	3.8 c (3.2-4.2)	3.0 a (2.1-3.2)	3.3 b (3.2-4.2)
Diseño perineal****				
Incisuras laterales	si	no	no	no
Estrías del perineo	no	no	no	no
Estrías Zona 1	pocas	pocas	pocas	pocas
Estrías Zona 2	L I P	O I P	O I P	O I M
Estrías Zona 3	L I P	O I P	O I P	O I M
Estrías Zona 4	L I P	O I P	O I P	O I M

* Promedio de 20 mediciones. Promedios de una misma característica seguidos por la misma letra no difieren significativamente entre sí, de acuerdo a los resultados de la Prueba de Duncan ($P = 0.05$).

** Números entre paréntesis muestran la amplitud de la observación.

*** O.G.D.E. se refiere a la distancia entre la base de los telorhabdiones y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

**** Interpretación basada en el tipo prevalente. L = lisas; O = onduladas; I = interrumpidas; P = pocas; M = moderado.

Cuadro 2. Características morfométricas de machos de cuatro poblaciones de *Meloidogyne* spp. de Florida, U.S.A.

Característica	Poblaciones de <i>Meloidogyne</i>			
	M. javanica*		M. incognita	
	158	118	122	165
Longitud estilete (μm)	18.8 a** (17.6-20.9)***	22.0 b (19.8-23.1)	23.9 c (22.0-25.3)	24.1 c (23.1-26.4)
O.G.D.E. (μm)****	3.4 c (2.2-4.4)	3.5 c (3.3-4.4)	3.0 b (2.2-3.3)	2.3 a (2.2-3.3)
Líneas Laterales	4	4	4	4
Areolación	no	si	si	si
Longitud espículas (μm) (cuerda del arco)	27.1 a (23.1-29.7)	31.0 ab (30.8-38.5)	34.5 b (33.0-37.4)	35.0 b (30.8-38.5)

* Un 95% de los especímenes eran machos con dos gónadas, y una hinchazón anterior a la cloaca, o incluso una vulva bien desarrollada.

** Promedio de 20 mediciones. Promedios de una misma característica seguidos por la misma letra no difieren significativamente entre sí, de acuerdo a los resultados de la Prueba de Duncan ($P = 0.05$).

*** Números entre paréntesis muestran la amplitud de la observación.

**** O.G.D.E. se refiere a la distancia entre la base de los telorhabdiones y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

La longitud promedio de las larvas de las tres poblaciones de *M. incognita* fue mayor que la dada por Whitehead (12), pero similar a la de Kirby (6). Para *M. javanica* 158, los valores son similares a los dados por estos autores. La longitud de la cabeza, y el ancho máximo del cuerpo, para ambas especies, son similares a los presentados por Kirby (6). Los valores del O.G.D.E. para las tres poblaciones de *M. incognita* fueron mayores que los dados por Chitwood (2) y Kirby (6), mientras que el promedio para *M. javanica* 158 fue menor. La longitud de la cola para *M. incognita* fue similar al valor dado por Kirby (6), pero mayor que el dado por Whitehead (12); para *M. javanica* 158 este valor fue similar al dado por estos autores.

Finalmente, los valores de las proporciones alfa y gama encontrados en esta investigación para las dos especies, fueron similares a los dados por varios autores (2,3,6,12).

Respuesta de los hospedantes diferenciales

Se obtuvieron respuestas uniformes en las repeticiones de cada combinación población-hospedante. Los promedios se presentan en el Cuadro 4. La viabilidad del inóculo fue evidenciada por el número de masas de huevos encontradas en el tomate "Rutgers", en el cual el índice de reproducción en todos los casos fue de 5. El chile, la sandía y los

Cuadro 3. Características morfométricas de larvas en el segundo estadio de cuatro poblaciones de *Meloidogyne* spp. de Florida, U.S.A.

Característica	Poblaciones de <i>Meloidogyne</i>			
	M. javanica		M. incognita	
	158	118	122	165
Longitud total (μm)	412.9 b* (365.8-451.9)**	416.9 c (381.9-441.1)	404.8 a (371.2-441.1)	411.0 b (365.8-446.5)
Longitud cabeza (μm)***	14.7 b (12.8-14.9)	14.0 a (13.9-14.9)	14.8 b (13.9-16.0)	14.7 b (13.9-15.5)
O.G.D.E. (μm)****	3.2 b (2.6-4.2)	3.1 ab (2.6-3.2)	2.9 a (2.1-3.2)	2.9 a (2.1-3.2)
Cola (μm)	51.8 ab (44.9-55.6)	50.0 a (44.9-53.6)	52.9 b (46.0-58.8)	53.1 b (47.0-57.7)
Ancho (μm)	14.8 c (13.9-16.0)	14.3 b (12.8-18.1)	13.8 a (12.8-14.9)	14.9 c (13.9-16.0)
Diámetro anal (μm)	9.7 a (9.6-10.7)	9.9 a (9.6-11.7)	10.6 b (9.6-11.7)	10.0 a (9.6-10.7)
Alfa	27.8 a (24.1-30.5)	29.1 b (24.2-31.7)	29.2 b (26.6-32.6)	27.5 a (23.7-30.9)
Gama	7.9 b (7.0-8.4)	8.3 c (7.4-9.2)	7.6 a (6.7-8.6)	7.7 a (7.2-8.7)

* Promedio de 20 mediciones. Promedios de una misma característica seguidos por la misma letra no difieren significativamente entre sí, de acuerdo a los resultados de la Prueba de Duncan ($P = 0.05$).

** Números entre paréntesis muestran la amplitud de la observación.

*** Medida desde la base de los telorhabdiones.

**** O.G.D.E. se refiere a la distancia entre la base de los telorhabdiones y el orificio de la glándula dorsal esofágica.

camotes 'all Gold' y 'Puerto Rico' fueron excelentes hospedantes de las tres poblaciones de *M. incognita*; el maíz fue un hospedante pobre, mientras que la fresa, el algodón, el maní y el tabaco no fueron hospedantes. La población *M. javanica* 158 infectó el tabaco y el camote 'All Gold', mientras que la sandía fue moderadamente infectada. Esta pobla-

ción no pudo parasitar camote 'Puerto Rico', chile, algodón, fresa y maní. El maíz fue catalogado como un hospedante pobre. Estos resultados están de acuerdo con lo que Sasser (9) denominó "la respuesta usual" de estos hospedantes diferenciales a estas especies.

Cuadro 4. Respuesta de nueve hospedantes diferenciales a cuatro poblaciones de *Meloidogyne* spp. de Florida, U. S. A.

Población	Respuesta de los hospedantes*								
	Maíz 'Minn 'A-401'	Maní 'Florunner'	Chile 'California 'Wonder'	Fresa 'Albritton'	Algodón 'Delta 'P.L. 16'	Camote 'All Gold'	Camote 'Puerto 'Rico'	Tabaco 'NC-95'	Sandía 'Charleston 'Gray'
<i>M. javanica</i>									
158	2.8	0	0	0	0	4.2	0	5.0	3.8
<i>M. incognita</i>									
165	1.4	0	5.0	0	0	5.0	5.0	0	5.0
122	2.0	0	5.0	0	0	5.0	5.0	0	5.0
118	1.4	0	4.8	0	0	5.0	5.0	0	5.0

* Promedio de cinco repeticiones. Respuesta de los hospedantes evaluada de acuerdo al número de masas de huevos. 0 = ninguna; 1 = 1-2; 2 = 3-10; 3 = 11-30; 4 = 31-100 y 5 = más de 100 masas de huevos. Tomate 'Rutgers' fue utilizado como indicador de la viabilidad del inóculo; en todos los casos recibió una lectura de 5.

El objetivo principal de este trabajo fue el de establecer una correlación entre la morfología de las poblaciones y su habilidad para reproducirse en algunos hospedantes. De acuerdo con los resultados obtenidos, sería posible postular que existe una relación entre ciertas diferencias en el diseño perineal de las hembras (estrías lisas e incisuras laterales en *M. javanica* 158, o estrías onduladas y sin incisuras laterales en las tres poblaciones de *M. incognita*), o en la longitud de las espículas, areolación y número de gónadas en los machos de las dos especies, y la habilidad de estas especies para parasitar ciertos hospedantes diferenciales, v g, *M. incognita* en camote 'Puerto Rico' y chile, o *M. javanica* en tabaco 'NC-95'. Esta información podría utilizarse en un laboratorio nematológico como criterio para diagnosticar rápidamente las especies presentes en una muestra, y poder recomendar medidas de combate basadas en la rotación de cultivos y la siembra de cultivares resistentes.

RESUMEN

La interpretación de un estudio morfométrico de tres poblaciones de *Meloidogyne incognita* y una de *M. javanica* del Estado de Florida, U.S.A., mostró

diferencias significativas entre poblaciones en ciertas características de larvas en el segundo estadio, los machos y las hembras. También se observaron diferencias en la interpretación del diseño perineal de las hembras de las dos especies. Plantas de fresa, algodón y maní no fueron hospedantes de las cuatro poblaciones. Plantas de sandía y camote 'All Gold' si lo fueron. El maíz fue un hospedante pobre para estas poblaciones. El camote 'Puerto Rico' y el chile fueron hospedantes de *M. incognita*, no así de *M. javanica*. El tabaco 'NC-95' fue hospedante de *M. javanica*, pero no de *M. incognita*.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento a la señora Mary Lou Schrieber y al señor Luis A. Salazar por su cooperación en la toma de las fotomicrografías y en la preparación del esquema de diseño perineal, respectivamente.

LITERATURA CITADA

1. ALLEN, M.W. Observations on the genus *Meloidogyne* Goeldi. Proc. Helminthol. Soc. Wash. 19:44-51. 1952.

2. CHITWOOD, B.G. "Root-knot nematodes" - I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. Proc. Helminthol. Soc. Wash. 16: 90-104. 1949.
3. ESSER, R.P., PERRY V.G., y TAYLOR, A.L. A diagnostic compendium of the genus *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae). Proc. Helminthol Soc. Wash. 43: 138-150. 1976.
4. FRANKLIN, MARY T. Preparation of posterior cuticular patterns of *Meloidogyne* spp. for identification. Nematologica 7: 336-337. 1962.
5. HUSSEY, R.S. y BARKER, K.R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Dis. Rep. 57: 1025-1028. 1973.
6. KIRBY, M.F. Florida root-knot nematodes characterized by morphology, host ranges, and enzymes and proteins separated with disc electrophoresis. M. Sc. Thesis. Gainesville, Florida, University of Florida, 1972. 80 p.
7. KIRBY, M.F., SMART, G.C., Jr. y DICKSON, D.W. Physiological variation within species of *Meloidogyne* occurring in Florida. Plant Dis. Rep. 59: 353-356. 1975.
8. LOPEZ, R., y DICKSON, D.W. Host response and morphometric variations among three populations of *Meloidogyne incognita* and one of *M. javanica* from Florida. J. Nematol. 9: 293 (Abstr.). 1976.
9. SASSER, J.N. Physiological variation in the genus *Meloidogyne* as determined by differential hosts. Eur. Mediterr. Plant Prot. Bull. 6: 41-48. 1972.
10. TAYLOR, D.P. y NETSCHER C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematologica 20: 268-269. 1974.
11. TRIANTAPHYLLOU, A.C. y SASSER, J.N. Variation in perineal patterns and host specificity of *Meloidogyne incognita*. Phytopathology 50: 724-735. 1960.
12. WHITEHEAD, A.G. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with descriptions fo four new species. Trans. Zool. Soc. London. 31: 263-401. 1968.