

MUESTREO POBLACIONAL DEL NEMATODO DORADO (*Globodera rostochiensis*) Y OTROS NEMATODOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE LA PAPA (*Solanum tuberosum* L.)¹

Alvaro Ramírez*

ABSTRACT

The results showed 18 plantations with *G. rostochiensis* cysts, during 1972-1974. After 1975 to 1977 the nematode did not appear in any sample taken from the same area. This fact is apparently due to local conditions, affecting the development of the larvae.

The inoculation of potato plants with *G. rostochiensis* cysts, under green house conditions, in sterilized and unsterilized soils, demonstrated that this nematode did not affect the plants, did not produce larvae nor cysts. Some cysts had incipient larvae development but never the first larvae stage. A comparison between *G. rostochiensis* cysts from Panama and Costa Rica showed differences in color, number of eggs and the activity of larvae inside the eggs.

INTRODUCCION

Los nemátodos fitoparásitos representan una de las más importantes plagas en la agricultura. Su amplia distribución y la condición de ser microorganismos polífagos, representa un factor negativo en la economía agrícola.

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) es muy susceptible al ataque de nemátodos, los que a menudo causan pérdidas económicas en la cosecha en un porcentaje alto (18).

Varias especies se citan como patógenos al cultivo, entre ellas: *Globodera* (= *Heterodera*) *rostochiensis* (Woll.) y *G. pallida* (Stone), *Pratylenchus* spp., *Nacobbus* spp., *Trichodorus* spp., *Meloidogyne* spp. y *Ditylenchus* spp. (1,27). La primera de

ellas, conocida comúnmente como nemátodo dorado, es uno de los más relevantes patógenos del cultivo (19). Su impacto en la industria y el cultivo de la papa en el mundo es de grandes dimensiones, así como los esfuerzos en investigación que se realizan para combatirlo (12).

Infestaciones severas localizadas en un campo papero pueden provocar la pérdida del 25 al 50% de la cosecha (24). De acuerdo a cálculos realizados en Gran Bretaña la reducción en cosecha por la patogenicidad del nemátodo dorado ha sido del orden de 2,5 t/ha, por cada 20 huevos del nemátodo presente por gramo de suelo, antes de la época de siembra (25).

Centroamérica aparentemente estuvo libre de la presencia del nemátodo dorado hasta finales del año 1967, cuando se le encontró en Panamá (21), país donde el autor observó el daño provocado al cultivo de la papa. El problema se agravó cuando agricultores costarricenses de la zona fronteriza las Mellizas introdujeron clandestinamente papa de los focos de infección panameños (Volcán y Cerro Punta). En

1. Recibido para su publicación el 23 de abril de 1978.

* Laboratorio de Nematología, Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica.

junio de 1968 el Departamento de Fitopatología del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) realizó una inspección a la zona de las Mellizas con el propósito de obtener muestras de suelos de los cultivos de papa para su posterior análisis en el laboratorio. El resultado del análisis de suelos fue negativo en cuanto a la presencia de *G. rostochiensis* en la zona (11).

En los años 1970-71 se importaron cerca de 1,5 millones de kilos de papa para semilla y consumo de México (cifras del Depto. de Cuarentena Vegetal y Registro del MAG). Un año después, la Organización Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA) comunicó la presencia del nemátodo dorado en México, y el nemátodo fue descubierto por vez primera en nuestros suelos paperos en la región de Cartago, en octubre de 1972 (16).

Tomando en consideración las características biológicas y patógenas del nemátodo dorado y las implicaciones comerciales que para Costa Rica representa su presencia, además de la importancia al cultivo de otros nemátodos fitoparásitos, se planeó la presente investigación. Esta se ubicó en la zona norte de la ciudad de Cartago a fin de medir y evaluar las densidades poblacionales de los nemátodos fitoparásitos asociados al cultivo, el efecto patógeno y la posible correlación con los rendimientos de las cosechas.

MATERIALES Y METODOS

Obtención de las muestras

Este estudio se realizó en la zona papera norte de Cartago, ubicada entre las longitudes 84°45' a 84°59' E., y las latitudes 9°18' a 9°07' S., con un ámbito de precipitación de 1316 mm a 2387 mm y alturas de 1440 a 3400 m snm (3,26).

Se efectuaron muestreos de suelos (derivados de cenizas volcánicas recientes), tubérculos y raíces, tanto para el nemátodo dorado como para los otros nemátodos fitoparásitos, en terrenos de siembra de papa sin terminar su desarrollo vegetativo, sobre sistemas radicales de plantas de aspecto clorótico, en el troje, sobre el suelo adherido a papas al momento del embalaje y durante la cosecha, sobre el piso de galerones y en pilas de lavado de papa. De esta for-

ma se obtuvieron 285 muestras de suelo en 57 fincas y 110 muestras de raíces en 22 fincas en el transcurso de los años 1972 a 1977.

Obtención e identificación de estados larvales del nemátodo dorado y otros nemátodos fitoparásitos

Las muestras de raíz se procesaron por el método de Vilardebo (A. Vilardebo comunicación personal, 1969) con la técnica de Taylor y Loegering (23); para las muestras del suelo se siguió el método de Caveness y Jensen (2). Para la identificación de los géneros y las especies se utilizó el microscopio y cámaras de Plexiglass (10). Se efectuaron tinciones radicales y de tubérculos con el método de Franklin y Goodey (6) con la finalidad de observar los nemátodos endoparásitos en el interior de las raíces.

Obtención e identificación de quistes del nemátodo dorado

Se utilizó el método de Fenwick modificado (5) para la obtención de quistes del nemátodo. Sin embargo, el aparato de Fenwick que se usó, se construyó con dimensiones mayores a las convencionales (17) para la obtención de mayor cantidad de quistes en menor tiempo, necesarios tanto para el estudio de laboratorio como el de invernadero.

Para la identificación del género y las especies se tomaron en cuenta las características morfológicas y taxonómicas principales (7,20) de quistes sometidos a 1) observación morfológica, 2) cortes y preparaciones de regiones perineales, y 3) envió de quistes a técnicos holandeses para el estudio de patotipos y reproducción del nemátodo.

Estudio de patogenicidad

Se realizaron dos ensayos de invernadero con suelos derivados de cenizas volcánicas, uno cerca del Volcán Irazú (2800 m snm) y el otro en Guadalupe de Goicoechea (1300 m snm). Se emplearon dos cultivos de papa, "Atzimba" y "Red Pontiac", reconocidos como susceptibles al nemátodo (M. I. Villareal, comunicación personal, 1973) y (22) sembrados en macetas de barro de 18 cm de diámetro por 18 cm de alto.

En el ensayo de papa con el cultivar "Atzimba" se empleó suelo esterilizado y sin esterilizar. Se hicieron inoculaciones de 0,50, 100 y 500 quistes/maceta extraídos con acetona, y 50 quistes/maceta extraídos sin acetona. Se efectuaron dos repeticiones de cuatro macetas cada una.

En el caso del cultivar "Red Pontiac" se usó suelo esterilizado y sin esterilizar. Las inoculaciones fueron de 0 y 100 quistes/maceta extraídos con acetona, y 100 quistes/maceta extraídos sin acetona. Se efectuaron dos repeticiones de cuatro macetas cada una. En este ensayo se emplearon menos quistes que en el del cultivar Atzimba debido a la carencia de éstos.

A los cuatro meses de edad de las plantas se observó su sistema radical par detectar posibles hembras adheridas al al mismo, raíces teñidas para estudiar posibles estados larvales incrustados, tubérculos con la misma finalidad del caso anterior, suelos para determinar el número de quistes y segundos estados larvales del nemátodo y quistes triturados por el método de Huijsman (5) para el estudio de huevos y larvas.

Estudio comparativo de quistes de Panamá y de Costa Rica

En visita efectuada a la zona papera de Cerro Punta (Panamá) se obtuvo muestras de suelo y raíz de tres de los principales cultivares de papa de la zona. En laboratorio fueron procesadas con la metodología citada para la obtención de quistes. Con un homogenizador de Huijsman, se seleccionaron al azar diez quistes por cultivar con el propósito de comparar el número de huevos y larvas contenidas en su interior con los de quistes obtenidos en Costa Rica.

RESULTADOS

Determinación de estados larvales, adultos y quistes del nemátodo dorado a nivel de campo.

El análisis de las muestras obtenidas de 1973 a 1974 reveló la existencia de 18 plantaciones, con presencia de quistes en el suelo. La población promedio fue de diez quistes/100 g de suelo y no se encontraron estados larvales, adultos ó quistes adhe-

ridos en las raíces, ni tampoco síntomas de patogenicidad. De 1975 al presente no fue posible la recuperación de nuevos quistes en el campo.

Evaluación morfológica y taxonómica del quiste del nemátodo dorado en laboratorio.

Cierta cantidad de quistes enteros obtenidos del campo se seleccionaron por su forma para su identificación taxonómica (Fig.1). El estudio de numerosos cortes de la región perineal del quiste, las mediciones morfológicas, la observación de las estructuras y la comparación de estas con láminas, coincidieron con la descripción de *G. rostochiensis*. El envío de quistes a Holanda para su identificación y determinación del patotipo, reveló la existencia de la raza o patotipo A (J. J. S'Jacobo y J. Kort, comunicación personal, 1973).

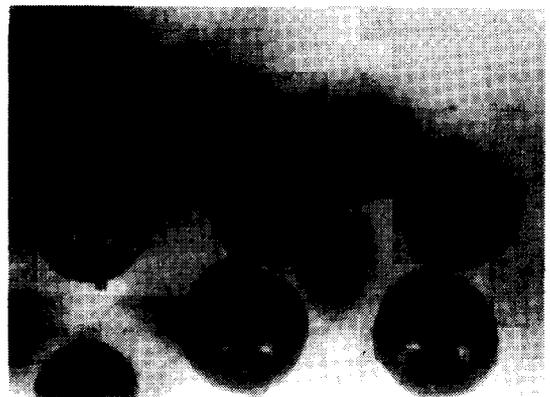


Fig.1. Fotomicrografía de quistes colectados en la zona norte de Cartago, Costa Rica (348 μ – 591 μ)

Patogenicidad del nemátodo dorado en invernadero.

En las pruebas de inoculación no hubo efecto detrimental alguno en las plantas en ambos ensayos; tampoco hubo desarrollo larval, ni de adultos o quistes en las raíces.

El estudio reveló estados embrionarios incipientes pero nunca el primer estado larval. La recuperación de los quistes de las macetas mostró una cantidad ligeramente inferior a la cantidad inoculada.

Cuadro 1. Promedio del número de huevos y larvas eclosionadas de 10 quistes de *Globodera rostochiensis* de Panamá y Costa Rica .

PANAMA						COSTA RICA	
<u>cv. Mirka</u>		<u>cv. Urgenta</u>		<u>cv. Alfa</u>		<u>cv. Atzimba</u>	
Huevos	Larvas	Huevos	Larvas	Huevos	Larvas	Huevos	Larvas
170	0	392	75	333	5	99	0
720	20	181	4	209	0	81	0
827	30	324	6	828	17	87	0
893	60	151	4	573	20	94	0
718	29	236	32	674	38	79	0
398	21	245	18	297	1	235	0
488	33	184	48	51	4	209	0
444	35	600	9	66	0	255	0
383	29	451	25	327	6	267	0
420	12	193	33	556	12	122	0
\bar{x} 546	26	\bar{x} 296	25	\bar{x} 391	10	\bar{x} 158	0

Comparación de quistes de Panamá y Costa Rica

En el Cuadro 1 se aprecia el número de huevos y larvas obtenidos en diez quistes de tres cultivares de papa sembradas en Panamá ("Mirka," "Urgenta" y "Alfa"), en comparación con diez quistes tomados al azar provenientes de la zona papera costarricense. El quiste encontrado en Panamá, además de albergar mayor cantidad de huevos en su interior, mostró que la gran mayoría de los huevos tenían el primer estado larval completamente definido, y otros estaban vacíos, debido probablemente a que la larva había eclosionado.

Los quistes de Costa Rica no presentaron la característica mencionada y siempre fueron de menor tamaño y de color pardo oscuro en contraste con un color más claro del encontrado en Panamá.

Determinación de otros nemátodos fitoparásitos a nivel de campo..

En las Figs. 2 y 3 se presentan resultados de los

otros nemátodos fitoparásitos. De acuerdo a la Fig. 2 la población promedio mayor fue la de *Helicotylenchus* sp., y la menor la de *Tylenchorhynchus* sp.; el porcentaje de frecuencia mayor fue el de la subfamilia Tylenchinae y el menor el de los géneros *Criconema* sp. y *Tylenchorhynchus* sp. De acuerdo a la Fig. 3 la población promedio mayor fue la de *Pratylenchus* sp. y la menor la de *Meloidogyne* sp., que obtuvo a su vez el menor porcentaje de frecuencia, siendo el mayor para *Ditylenchus* sp.

La mayoría de las poblaciones del género *Ditylenchus* correspondieron a las especies *D. dipsasi* y *D. destructor* (M. Oostenbrik, comunicación personal, 1974). Los síntomas observados de esta especie en papas fueron 1) el resquebrajamiento de la corteza o cáscara con pudrición en ciertas secciones, 2) al rebanar o pelar la papa se notó el avance de la pudrición hacia partes profundas, 3) al cortar por la mitad el tubérculo se notó una podredumbre con la forma de un anillo de color negruzco en los tejidos corticales, con desplazamiento hacia tejidos parenquimatosos y vasculares, y 4) la pudrición con frecuencia, de éstos últimos con formación de una típica oquedad o ausencia de tejido. En un caso de

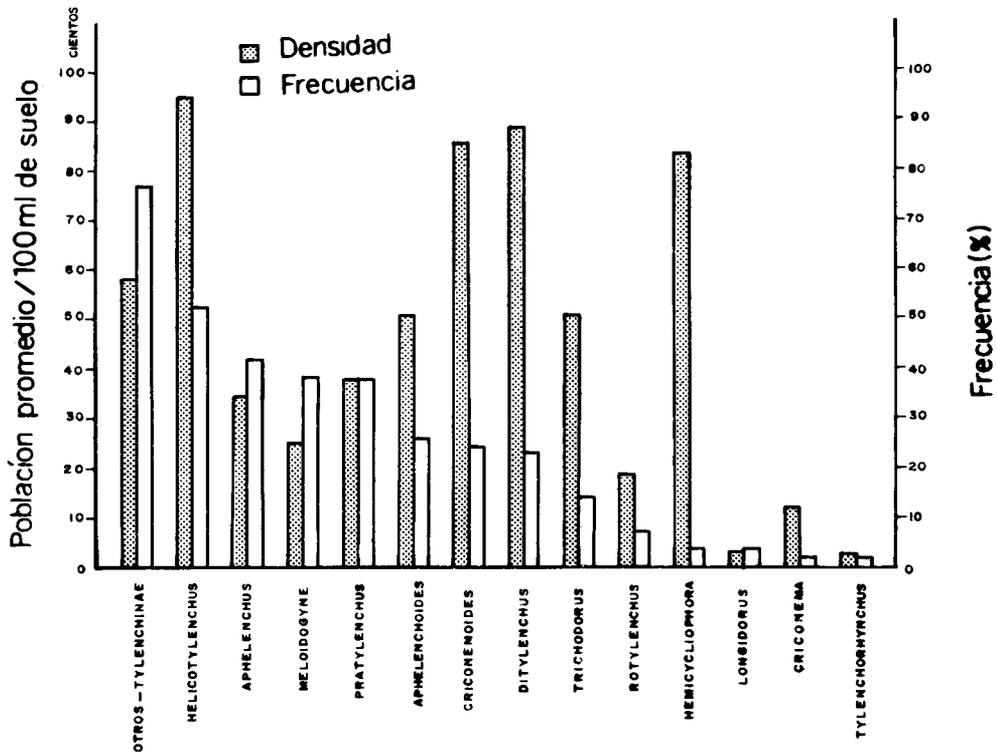


Fig. 2. Población promedio y porcentaje de frecuencia de nemátodos provenientes de 285 muestras de suelo de 57 fincas paperas en la zona norte de Cartago en los años 1973-74-75.

sintomatología severa de un tubérculo, se obtuvo la cantidad de 7350 *Destructor*/100 g de cáscara.

De los otros nemátodos, *Pratylenchus* sp se encontró en altas poblaciones y en asocio con otros microorganismos como bacterias y hongos en raíces y tubérculos enfermos. Sólo en una finca ubicada en Llano Grande se pudo observar algunas agallas o cecidios causadas por *Meloidogyne* sp, en las raíces de plantas de aspecto normal.

DISCUSION

Nemátodo dorado

La nula patogenicidad del nemátodo dorado,

encontrada tanto en el campo como a nivel de invernadero, en Costa Rica, es una paradoja dentro del conjunto de antecedentes históricos y actuales que identifican al nemátodo como un patógeno de gran virulencia. Se considera que este fenómeno podría deberse al concurso de varios efectos, algunos de los cuales se mencionan a continuación.

Científicos en Rusia (14) encontraron que el nitrato de amonio tiene un efecto nematostático que inhibe la oviposición de algunos nemátodos, entre ellos *Meloidogyne incognita*, que junto con *G. rostochiensis*, pertenece a la familia Heteroderidae. Así mismo, Lehman (13) encontró que el nitrato de amonio inhibió el ciclo de vida y afectó al emergencia de larvas de *Heterodera glycines*. En Costa Rica este efecto puede presentarse dado que el agricultor papero abona con nitrógeno de fuente amoniacal.

Se conoce que los exudados radicales estimulan la eclosión de larvas de nemátodos (9), de modo que cualquier mecanismo que elimine exudados reduce la posible acción de los mismos. En suelos derivados de cenizas volcánicas la formación de complejos órganos minerales es común (E. Bornemisza, comunicación personal, 1978) lo que puede explicar en parte, el por qué de la baja patogenicidad del nemátodo dorado.

Otros factores como la rotación de cultivos o la aplicación de nematicidas u otros productos químicos al suelo pueden afectar la patogenicidad. Sin embargo, la viabilidad del quiste del nemátodo dorado, así como la presencia de otros nemátodos, hace descartar que éstas sean causas mayores de la reducción de la patogenicidad del nemátodo dorado.

Las diferencias entre los quistes colectados en Panamá y Costa Rica puede deberse a variaciones genéticas ya que Brodie y May (1) destacaron que patotipos agresivos difieren en su habilidad para atacar diferentes especies del género *Solanum*. Asimismo, Tarté (22) envió quistes colectados en Panamá (patotipo A) al Perú, en donde encontraron variantes en el desarrollo del ciclo de vida del nemátodo dorado.

Otros nemátodos fitoparásitos

En el presente estudio *Ditylenchus* sp. y *Pratylenchus* sp. fueron los endoparásitos más abundantes y se encontraron en asocio con bacterias, hongos, virus e insectos propios de la zona. Se considera normal su distribución, dada su fácil diseminación y amplia gama de hospedantes (27).

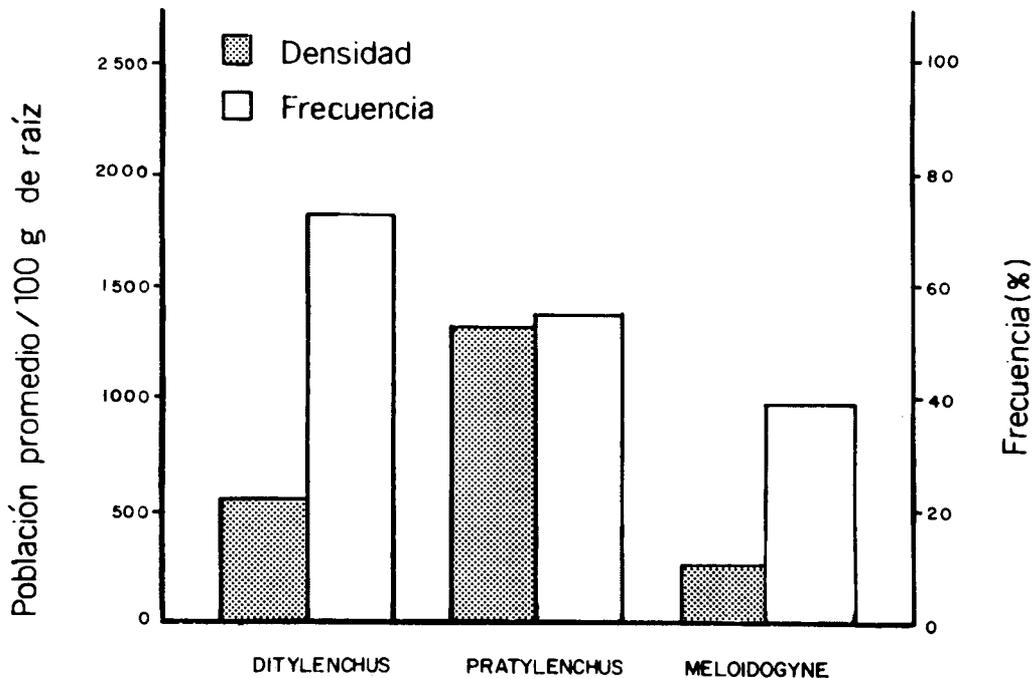


Fig. 3. Población promedio y porcentaje de frecuencia de nemátodos provenientes de 110 muestras de raíz de 22 fincas paperas en la zona norte de Cartago en los años 1973-74-75.

En papales de condición clorótica nunca se determinaron poblaciones aisladas; sin embargo, *Pratylenchus* sp, se encontró asociado a una condición de podredumbre radical y en la mayoría de las veces en tubérculos dañados o deformes, condición de importancia para el mercadeo del producto. Las poblaciones halladas fueron bajas, posiblemente debido a que la mayoría de los agricultores usan productos químicos insecticidas con poder nematocida.

RESUMEN

En la zona papera norte de Cartago se estudió por medio de muestreos de suelo-raíz y tubérculos, la identificación y densidades poblacionales de los nemátodos asociados al cultivo de la papa. Se obtuvo 285 muestras de suelo de 57 fincas y 110 muestras de raíces de 22 fincas en el transcurso de los años 1972 a 1977.

La investigación reveló la existencia de 18 plantaciones con quistes del nemátodo dorado (*Globodera rostochiensis*) en los suelos durante el período 1972-1974. Sin embargo de 1975 a 1977 no se pudo encontrar más lotes contaminados con este nemátodo. Se estima que la ausencia de patogenicidad actual puede resultar de la interacción de factores aún desconocidos que se presentan bajo las condiciones ambientales costarricenses; no obstante, se exponen algunos de ellos que podrían estar actuando en la latencia embrionaria y por ende en la frecuencia de aparición de los quistes.

Respecto a otros nemátodos fitoparásitos, en muestreos de suelo *Helicotylenchus* sp obtuvo la mayor población promedio y nemátodos de varios géneros de la subfamilia Tylenchinae mostraron la mayor frecuencia. En muestreos de raíz la población promedio mayor fue la de *Pratylenchus* sp, y la mayor frecuencia fue para *Ditylenchus* sp. La mayoría de las poblaciones del nemátodo del género *Ditylenchus* correspondieron a la especie *D. dipsasi*, aunque también se encontró la especie *D. destructor*.

Ensayos de invernadero en los cuales se inculó diferentes poblaciones de quistes de *rostochiensis* en plantas cultivadas en suelo estéril y sin esterilizar demostraron que el nemátodo dorado no causó daño a la planta; tampoco hubo desarrollo larval ni se formaron quistes en las raíces. El estudio de los quistes reveló estados embrionarios incipientes, pero nunca el primer estado larval.

Una comparación entre quistes de *G. rostochiensis* traídos de Panamá con quistes obtenidos en Costa Rica reveló que ambos difieren en color, número de huevos y actividad del estado larval en ellos.

LITERATURA CITADA

1. BRODIC, B.B. y MAI, W. F. Nematode control strategy. Report of the Planning Conference on Nematode Control Strategy. International Potato Center. Lima, Perú. 1974, pp 43-44.
2. CAVENESS, F. E. y JENSEN, H. J. Modification of the centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. Proceedings of the Helminth Society Washington. 22: 87-89. 1955.
3. COSTA RICA, MINISTERIO DE TRANSPORTES. Mapa del Valle Central. Mapa especial. Instituto Geográfico Nacional, San José, Costa Rica. 1966. 1 p.
4. CHRISTIE, J. R. Plant nematodes, their bionomics and control. Agricultural Experiment Station. University of Florida. 1959. 86 p.
5. FENWINCK, D. W. y OOSTENBRINK, M. Extraction of *Heterodera* cysts from dried soil with the modified Fenwinck can. In A Manual for Practical Work in Nematology. International Postgraduate Nematology Course. Wageningen, The Netherlands. 1971, pp 25-27.
6. FRANKLIN, M. T. y GOODEY, J. B. A cotton blue-lactophenol technique for mounting plant-parasitic nematodes. Journal Helminthology 23: 175-178. 1949.
7. GOLDEN, A. M. y ELLINGTON, D. M. Redescription of *Heterodera rostochiensis* (Nematoda: Heteroderidae) with a key and notes on closely related species. Proceedings of the Helminth Society of Washington 39 (1): 64. 1972.
8. HARRISON, M. B. Evidence of the mode of action of a systemic nematocide. Journal of Nematology 3 (4): 311-312. 1971.
9. JENKINS, W. R. y TAYLOR, D. P. Plant nematology. Reinhold Publishing Corporation, USA. 1967. 270 p.
10. JIMENEZ, M. F. Método rápido para la construcción de cámaras para conteo de nemátodos. Nematotrópica 2 (1): 19-20. 1972.

11. Algunos aspectos del nemátodo dorado. El caso de Panamá y sus implicaciones para Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica. Bol. No. 25. 1969.
12. KORT, J. Patotypes of nematodes. International Post graduate Nematology Course, 8th. Wageningen, The Netherlands. 1972. 8p.
13. LEHMAN, P. S. Hatching responses of *Heterodera glycines* to hydrogen ion concentrations and inorganic ions. Journal of Nematology 1 (1): 14-15. 1969.
14. MJUGE, S. G. Historical development of nematology in Russia. Journal of Nematology 9 (1): 1-6. 1977.
15. RAMIREZ, A. Consideraciones sobre la patogenicidad del nemátodo dorado. In Resúmenes II Congreso Agronómico Nacional. San José, Costa Rica, Vol 1, p. 38. 1976.
16. ————— y BIANCHINI, P. El nemátodo dorado (*Heterodera rostochienis*, Woll.) en Costa Rica. Mimeografiado, Ministerio de Agricultura y Ganadería. 1973. 35 p.
17. SHEPHERD, A. M. Extraction and estimation of *Heterodera*. In J. F. Southey ed. Laboratory Methods for work with Plant and Soil Nematodes. Technical Bulletin 2. London. 1970, pp 23-33.
18. SOCIETY OF NEMATOLOGIST. Committee on crop losses. Estimated crop losses due to plant-parasitic nematodes in the United States. Supplement to the Journal of Nematology. Special Publication No. 1, 1971, sp.
19. SPEARS, J. F. The golden nematode handbook. United States Department of Agriculture Government Printing Office. Agriculture Handbook No. 353. 1968. 81 p.
20. STONE, A. R. *Heterodera pallida* n. sp. (Nematoda: *Heteroderidae*), a second species of potato cyst nematode. Nematológica 18 (4): 591-606. 1972.
21. TARTE, R. First record of the occurrence of *Heterodera rostochiensis* in Panamá. Plant Disease Reporter 58 (8): 587. 1968.
22. ————— y RODRIGUEZ, R. Evaluación del daño ocasionado por el nemátodo *Heterodera rostochiensis* Woll, al cultivo de la papa con énfasis en el desarrollo de un sistema integrado de control. Mimeografiado, Universidad de Panamá. 1976, pp 5-6.
23. TAYLOR, A. L. y LOEGERING, W. Q. Nematodes associated with root lesions in abaca. Turrialba 3 (1): 8-13. 1953.
24. THORNE, G. Principles of nematology. Mc. Graw-Hill, New York. USA. 1961. 553 p.
25. VAN BERKUM, J. A. Introduction to nematology. International Course on Plant Protection, Ist. Lecture notes. Wageningen, The Netherlands. 1972. 6 p.
26. VIVES, L. Tabulación para uso agrícola de los datos climáticos de Costa Rica Programa 8, Investigaciones Agrometeorológico, Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía, San José, Costa Rica, 1971. 222 p.
27. WINSLOW, R. D. y WILLIS, R. J. Nematodes diseases of potatoes. In: J. M. Webster ed Economic Nematology Academic Press, New York. 1972. pp 17-48.