

INTERACCION ENTRE *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* EN ARVEJA.^{1*}

Carlos Padilla, Róger López y Edgar Vargas**

ABSTRACT

Interaction between *Meloidogyne* spp. and *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* on pea. The interaction between *Meloidogyne* spp. (*M. incognita* + *M. hapla*) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* on pea, cv. Little Marvel, was evaluated under greenhouse conditions. Both pathogens were inoculated either alone or in different combinations at planting time and/or three weeks later. The concomitant inoculation of the nematodes and the fungus at planting caused the death of the plants 45 days later. The inoculation of *Meloidogyne* spp. at planting caused a severe stunting of the plants, whereas that of *F. oxysporum* alone, at planting or three weeks later, caused no detrimental effects on the plants.

INTRODUCCION

Uno de los logros más significativos de la nematología ha sido el haber podido demostrar las interacciones que se establecen entre los nematodos fitoparásitos y otros patógenos como hongos, bacterias y virus cuando atacan ciertos cultivos (9, 11). Apparently, estas situaciones son comunes en tabaco (3, 12), tomate (2, 7, 14), frijol de costa (17), clavel (13) y arveja (5, 11) entre otros, donde se ha informado sobre interacciones entre *Meloidogyne* spp. y *Fusarium* spp. En Costa Rica se ha informado recientemente que tanto *M. incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949 y *M. hapla* Chitwood, 1949 como *F. oxysporum* f. sp. *pisi* (Van Hall) Snyder y Hansen pueden encontrarse atacando una misma planta de arveja, y que algunos nematocidas re-

ducen el número de plantas que presentan los síntomas del ataque concomitante de estos patógenos (10). Por no existir datos a nivel local que demostraran que este tipo de ataque fuera dañino para la arveja, aunque en el campo ésta parecía ser la situación, se decidió realizar el estudio que se describe a continuación.

MATERIALES Y METODOS

Bajo condiciones de invernadero se evaluaron nueve tratamientos que consistieron en la inoculación individual o combinada de *Meloidogyne* spp. y *F. oxysporum* f. sp. *pisi*, ya fuera al momento de la siembra o tres semanas después, en arveja, cv. Little Marvel. Los tratamientos evaluados fueron 1- *Meloidogyne* spp. a la siembra (MS), 2- *F. oxysporum* f. sp. *pisi* la siembra (FS), 3- *Meloidogyne* spp. y *F. oxysporum* f. sp. *pisi* a la siembra (MS + FS), 4- *Meloidogyne* spp. a las tres semanas de la siembra (M3), 5- *F. oxysporum* f. sp. *pisi* a las tres semanas de la siembra (F3), 6- *F. oxysporum* f. sp. *pisi* a la siembra y *Meloidogyne* spp. tres semanas después (FS + M3), 7- *Meloidogyne* spp. a la siembra y *F. oxysporum* f. sp. *pisi* tres semanas después (MS - F3), 8- *Meloi-*

¹ Recibido para su publicación el 20 de agosto de 1979.

* Parte de una tesis de grado presentada por el primer autor a la Escuela de Fitotecnia de la Universidad de Costa Rica.

** Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

dogyne spp. y *F. oxysporum* f. sp. *pisi* tres semanas después de la siembra (M3 - F3) y 9- testigo, sin inocular (T).

El inóculo de *Meloidogyne* spp. (una mezcla de 91% de *M. incognita* y 9% de *M. hapla*) se obtuvo de raíces de lechuga fuertemente atacadas, y que fueron colectadas en San Luis de Santo Domingo de Heredia; se recogieron masas de huevos y fueron inoculadas en tomate, cv. Rutgers, donde se mantuvo e incrementó el inóculo por dos meses. Al cabo de este período se procesaron las raíces por el método descrito por Hussey y Barker (6) con una solución de hipoclorito de sodio al 1%. En todos los casos se inoculó una densidad equivalente a 20.000 huevos/planta.

El inóculo de *F. oxysporum* también se obtuvo de San Luis de Santo Domingo, en plantas de arveja que estaban enfermas. Para aislar el hongo se lavaron trozos de tallo de 3 a 5 mm de longitud en agua destilada, y en una cámara de transferencias se separó la corteza de los tejidos vasculares, los que se pusieron en platos petri de 10 cm de diámetro que contenían agar-papa-dextrosa (APD) acidificado a un pH de 5,5. Estos platos se mantuvieron a 26 C durante diez días en una cámara de incubación; para purificar el cultivo se hicieron dos transferencias del hongo a otros platos petri con APD. Una vez obtenido el cultivo puro, los platos se mantuvieron por 78 días a 6 C en un refrigerador y posteriormente se incrementó el inóculo en nuevos platos petri con APD durante diez días a 26 C. El contenido de diez platos fue vertido en una licuadora, donde fue homogeneizado; el inóculo, que estaba constituido por micelio, microconidios, macroconidios y clamidósporas, fue pasado a un vaso de precipitación, donde se aforó hasta obtener un volumen de 1000 ml; para cada maceta se tomaron 40 ml de esta suspensión. La identificación del hongo se hizo con la clave simplificada de Snyder y Hansen (16).

Para la inoculación al momento de la siembra se hizo un hueco de 5 cm de diámetro y 2 cm de hondo en 1.300 ml de un suelo franco-arenoso, tipo andept, desinfectado con vapor de agua a 115 C por 6 horas, y contenido en macetas de barro tratadas con hipoclorito de sodio al 5%; en el centro del hueco se depositó el inóculo de *Meloidogyne* spp., *F. oxysporum* o ambos; una vez

hecho esto, se colocó una semilla en cada maceta y se cubrió con suelo. Para la inoculación a las tres semanas de la siembra se hizo un hueco de 2 cm de diámetro y 1 cm de profundidad, a 3 cm de la base de las plantas, y ahí se colocó el inóculo correspondiente; luego se cubrió el hueco con suelo de la misma maceta.

Se evaluó la apariencia de las plantas a los 33, 40, 47, 53 y 60 días después de la siembra, para lo que se utilizó una escala de grados donde 1 equivalía a plantas muertas, 2 a plantas amarillentas y 3 a plantas normales.

También se evaluó la altura de las plantas a los 30 y 45 y 60 días después de la siembra, y el peso de las raíces y partes aéreas a los 60 días después de la siembra. El índice de nódulos radicales causados por *Meloidogyne* spp. fue evaluado 60 días después de la siembra, para lo que se utilizó una escala de grados según el % de nódulos en donde 1 = sin nódulos; 2= 1 - 25%, 3= 26 - 50%; 4 = 51 - 75 % y 5= 76 - 100% de raíces con nódulos. En todos los tratamientos en que se inoculó *F. oxysporum* se hizo el aislamiento del hongo, de igual manera a la descrita para la obtención de su inóculo.

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con seis repeticiones y los valores promedios de cada tratamiento para cada variable evaluada, se compararon entre sí mediante la prueba de amplitud múltiple de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores promedios de la altura y la apariencia de las plantas se presentan en el Cuadro 1. En referencia a la altura, se encontró que a los 30 días todos los tratamientos en que se inoculó *Meloidogyne* spp. a la siembra, ya fuera solo o en combinación con *F. oxysporum*, tuvieron una altura significativamente menor que la de los otros tratamientos, mientras que entre estos últimos las diferencias no fueron significativas; las diferencias entre tratamientos a los 45 y 60 días después de la siembra no fueron significativas; no se incluyeron en estas dos evaluaciones los valores correspondientes a MS - FS por cuanto las plantas murieron antes de las mismas.

Cuadro 1. Altura promedio y apariencia de plantas de arveja, cv. Little Marvel, inoculadas con *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* en diferentes combinaciones y épocas.

Tratamiento*	Altura (cm)			Apariencia **				
	Días después de la inoculación			Días después de la inoculación				
	30	45	60	33	40	47	53	60
MS	22 ^{a***}	35 ^a	36 ^a	2,6 ^b	2,0 ^b	1,8 ^b	1,5 ^b	1,1 ^b
MS + FS	19 ^a	— ^{****}	— ^{****}	1,6 ^a	1,5 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a
FS	39 ^b	49 ^a	51 ^a	3,0 ^c	3,0 ^d	3,0 ^d	3,0 ^d	2,7 ^d
MS + F3	31 ^{ab}	36 ^a	38 ^a	3,0 ^c	2,5 ^c	2,3 ^c	2,1 ^b	1,5 ^c
M3 + FS	45 ^b	50 ^a	53 ^a	3,0 ^c	3,0 ^d	3,0 ^d	1,8 ^b	1,3 ^b
M3 + F3	39 ^b	50 ^a	52 ^a	3,0 ^c	3,0 ^d	3,0 ^d	2,5 ^c	2,1 ^d
M3	50 ^b	50 ^a	51 ^a	3,0 ^c	3,0 ^d	3,0 ^d	3,0 ^d	3,0 ^d
F3	40 ^b	43 ^a	45 ^a	3,0 ^c	3,0 ^d	3,0 ^d	3,0 ^d	2,8 ^{de}
T	43 ^b	49 ^a	49 ^a	3,0 ^c	3,0 ^d	3,0 ^d	3,0 ^d	3,0 ^e
C. V. (%)	36,8	37,5	47,7	8,5	10,9	8,3	23,2	30,5

* F: inoculado con *F. oxysporum*; M: inoculado con *Meloidogyne* spp.; S: inoculado a la siembra; 3: inoculado tres semanas después de la siembra; T: testigo.

** Basada en un índice de apariencia donde 1: plantas muertas; 2: plantas amarillentas, y 3: plantas aparentemente normales o sanas.

*** Promedio de seis repeticiones. Promedios en una misma columna, seguidos por una misma letra, no difieren significativamente entre sí, de acuerdo con los resultados de la prueba de amplitud múltiple de Duncan (P = 0,05).

**** No se incluyeron los datos de altura de este tratamiento por cuanto las plantas murieron en esta fecha.

En cuanto a la apariencia de las plantas, 33 días después de la siembra, se encontró que MS - FS tenía un valor significativamente menor que todos los demás tratamientos; MS tuvo un valor mayor que MS - FS, pero significativamente menor que el de los demás, que tenían un mismo valor promedio. En la segunda y tercera evaluaciones se encontró que los tratamientos en que se inoculó *Meloidogyne* spp. a la siembra (MS, MS - FS y MS + F3) tuvieron valores significativamente menores que los obtenidos con los otros tratamientos, los que no presentaron diferencias significativas entre sí.

A los 53 días después de la siembra MS + FS fue significativamente diferente de los demás; MS, MS + F3 y M3 + FS fueron estadísticamente iguales, y lo mismo ocurrió con MS + F3 y M3 + F3; los cuatro tratamientos restantes constituyeron otro grupo estadístico. En la última evaluación, 60 días después de la siembra, se observó que las plantas más afectadas fueron las del tratamiento MS + FS, y fueron seguidas por MS y M3 + FS; las plantas de MS + F3 fueron estadísticamente diferentes de todas las demás; pero con una mejor condición que las antes citadas; los tratamientos M3 + F3, FS y F3 fueron estadísticamente iguales, y el último también fue igual a M3 y a T, tratamientos estos en que no se observaron plantas cloróticas.

En el Cuadro 2 se presentan los valores promedios del peso de las partes aéreas y de las raíces, así como el del índice de nódulos radicales. No hubo diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al peso de las partes aéreas y al de las raíces, pero sí en cuanto al índice de nódulos radicales; en esta variable se encontró que en aquellos casos en que se inoculó *Meloidogyne* spp. a la siembra, los índices fueron significativamente mayores que los de tratamientos en que se inocularon los nematodos tres semanas después; los tratamientos que no incluyeron la inoculación de *Meloidogyne* spp. en ninguna de las dos épocas tuvieron el valor de 1 en esta variable (equivalente a cero infección), y formando un solo grupo, estadísticamente diferente de los que sí incluían la inoculación con estos nematodos. Esta variable no se pudo evaluar en plantas del tratamiento MS + FS por cuanto éstas habían muerto antes de la fecha de evaluación.

Conviene señalar que se logró aislar a *F. oxysporum* de todas las plantas que habían sido inoculadas con este hongo, ya fuera solo o en combinación con *Meloidogyne* spp., tanto al momento de la siembra como tres semanas después de la misma.

En general, los coeficientes de variación obtenidos al evaluar las diferentes variables fueron muy altos, lo que pareciera indicar que existió una gran variabilidad genética del cultivar 'Little Marvell'. Este factor podría haber afectado los resultados obtenidos, e impedir una interpretación precisa de los mismos. A pesar de esto, se podría decir que, por ejemplo, al comparar los tratamientos en que se inoculó solamente *Meloidogyne* spp., el efecto negativo sobre el desarrollo de las plantas fue muy severo cuando la inoculación fue hecha al momento de la siembra, pero no cuando ésta fue hecha tres semanas después; esta diferencia entre tratamientos podría atribuirse a que las plantas ya habían tenido un desarrollo sustancial en el caso de la inoculación a las tres semanas, lo que no sucedió con la inoculación al momento de la siembra; además, es posible que la sensibilidad de la arveja al ataque de *Meloidogyne* spp. disminuya conforme aumenta la edad de las plantas, por lo que una inoculación tardía no afectaría mucho el desarrollo de las mismas; resultados similares han sido obtenidos por varios investigadores (1, 15, 18), y han sido atribuidos también a los factores ya citados.

Cuando se inoculó solo *F. oxysporum*, ya fuera a la siembra o tres semanas después, los resultados obtenidos fueron muy similares a los del testigo, lo que pareciera indicar que la inoculación de solo este hongo no afecta mucho el desarrollo de las plantas de arveja del cultivar utilizado, las cuales aparentemente son resistentes al ataque de esta forma de *F. oxysporum*.

Al comparar entre sí, y con relación al testigo, los resultados obtenidos con la inoculación conjunta de *Meloidogyne* spp. y *F. oxysporum* en las diversas combinaciones y épocas evaluadas, se observó que la inoculación concomitante de ambos patógenos a la siembra produjo los mayores daños a las plantas, ya que causó la muerte de todas ellas 47 días después de la siembra. Estos resultados sugieren que los nematodos rompieron la resis-

Cuadro 2. Valores promedios del peso de las partes aéreas, de las raíces y del índice de nódulos radicales de plantas de arveja, cv. Little Marvel, inoculadas con *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, en diferentes combinaciones y épocas.

Tratamientos *	Peso (g)		Índice de nódulos radicales **
	partes aéreas	raíces	
MS	4,7 ^{a***}	4,0 ^a	5,0 ^c
MS + FS	— ^{****}	—	—
FS	27,3 ^a	5,7 ^a	1,0 ^a
MS + F3	12,0 ^a	7,7 ^a	5,0 ^c
M3 + FS	11,1 ^a	2,4 ^a	3,0 ^b
M3 + F3	22,0 ^a	5,3 ^a	3,0 ^b
M3	22,5 ^a	6,8 ^a	3,0 ^b
F3	18,9 ^a	3,9 ^a	1,0 ^a
T	18,0 ^a	2,6 ^a	1,0 ^a
C. V. (%)	86,0	123,9	0,0

* F: inoculado con *F. oxysporum*; M: inoculado con *Meloidogyne* spp.; S: inoculado a la siembra; 3: inoculado a las tres semanas de la siembra; T: testigo.

** Basado en una escala donde 1: sin nódulos; 2: 1–25%; 3: 26–50%; 4: 51–75% y 5: 76–100% de raíces con nódulos.

*** Promedio de seis repeticiones. Promedios en una misma columna, seguidos por una misma letra, no difieren significativamente entre sí, de acuerdo con los resultados de la prueba de amplitud múltiple de Duncan (P = 0,05).

**** No se incluyeron los valores de este tratamiento por cuanto las plantas murieron antes de la evaluación.

tencia del cultivar 'Little Marvel' al ataque de *F. oxysporum* y dan evidencia de que esta interacción puede ser de gran importancia económica bajo condiciones de campo, aún en cultivares resistentes a la marchitez causada por *F. oxysporum*; también da mayor importancia al combate de los nematodos formadores de nódulos radicales, no solo para disminuir las pérdidas directas causadas por ellos, sino también para evitar el daño de *F. oxysporum*.

Algunos autores (4, 8, 11, 12, 13) han observado, en estudios similares a éste, que el mayor daño a las plantas se produce cuando los nematodos son inoculados varias semanas antes que el hongo, lo cual, según ellos, permite que los nematodos alteren la fisiología de las plantas hasta tal punto que estas se tornen más susceptibles al ataque del hongo, o incluso hacen que pierdan la resistencia al mismo. Las anteriores observaciones no concuerdan con lo encontrado en esa inves-

tigación, pero es importante mencionar de nuevo la gran variabilidad genética del cultivar utilizado en este trabajo, lo que podría haber afectado los resultados obtenidos.

Otros autores (7, 12) han mencionado que el otro papel que juegan los nematodos en complejos de este tipo es el de actuar como agentes que permiten la penetración de ciertos patógenos en los tejidos de sus hospedantes; en nuestro caso esta explicación parece no ser aplicable por cuanto se logró aislar el hongo de plantas que no habían sido inoculadas con los nematodos, pero si con *F. oxysporum*, lo que demuestra que el hongo si fue capaz, por si solo, de penetrar en el hospedante, aunque posteriormente no le causara mucho daño.

Finalmente, se encontró que en plantas que fueron inoculadas con *Meloidogyne* spp. tanto a la siembra como tres semanas después, los pesos de las raíces fueron mayores que en los otros trata-

mientos, lo que podría atribuirse a que las raíces en estos casos tenían nódulos causados por la acción de los nematodos, lo que pudo causar el incremento en el peso radical.

RESUMEN

Se evaluó la interacción entre *Meloidogyne* spp. (*M. incognita* + *M. hapla*) y *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* en arveja, cv. Little Marvel. Ambos patógenos fueron inoculados solos o en diferentes combinaciones a la siembra o en ambas ocasiones tres semanas después. La inoculación concomitante de ambos patógenos a la siembra causó la muerte de las plantas 47 días después de la misma. La inoculación de *Meloidogyne* spp. a la siembra causó un achaparramiento severo, mientras que la del hongo solo no causó efecto negativo alguno en las plantas.

LITERATURA CITADA

1. BERGESON, G. B. Evaluation of factors contributing to the pathogenicity of *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology* 58: 49-53. 1968.
2. COHN, E. y MING, G. Nematodes and resistance to *Fusarium* wilt in tomatoes. *Hassadeh* 40: 1347-1349. 1960.
3. COLBRAN, R. E. Studies of plant and soil nematodes. Queensland host records of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). *The Queensland Journal of Agricultural Science* 15: 101-131; 1958.
4. COOPER, W. E. y BRODIE, B. A comparison of *Fusarium* wilt indices of cotton varieties with root-knot and sting nematodes as predisposing agents. *Phytopathology* 53: 1077-1080. 1963.
5. DAVIS, R. A. y JENKINS, W. Effects of *Meloidogyne* spp. and *Tylenchorhynchus claytoni* on pea wilt incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race I. *Phytopathology* 53: 745. 1963.
6. HUSSEY, R. S. y BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025-1028. 1973.
7. JENKINS, W. y COUREN, B. The effect of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita acrita* and *M. hapla* on *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease Reporter* 41: 182-186. 1957.
8. JONES, J. P., OVERMAN, A. J. y CRIEL, P. Failure of root-knot nematode to affect *Fusarium* wilt resistance of tomato. *Phytopathology* 66: 1339-1341. 1976.
9. MAI, W. F. Introduction. In B. M. Zuckerman, W. F. Mai y R. A. Rhode, (eds.). *Plant parasitic nematodes*, Vol. I. New York, Academic Press. 1971. pp. 1-8.
10. PADILLA, C. y LOPEZ, R. Evaluación de nematocidas granulados para el combate de *Meloidogyne* spp. en arveja (*Pisum sativum* L.). *Agronomía Costarricense* 3 (2): 89-98. 1979.
11. POWELL, N. T. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. *Annual Review of Phytopathology* 9: 253-272. 1971.
12. POWELL, N. T. y NUSBAUM, C. J. The black shank-root-knot complex in fluecured tobacco. *Phytopathology* 50: 899-905. 1960.
13. SCHINDLER, A., STUART, R. y SEMENIUK, P. A. Synergistic *Fusarium*-nematode interaction in carnations. *Phytopathology* 51: 143-146. 1961.
14. SIDEU, C. y WEBSTER, J. Genetics of resistance in the tomato to root-knot nematode-wilt-fungus complex. *The Journal of Heredity* 65: 153-156. 1974.
15. SINGH, N. D. Effect of inoculum level and plant age on pathogenicity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to tomato and lettuce. *Plant Disease Reporter* 59: 905-908. 1975.
16. SNYDER, W. C. y HANSEN, H. N. Key to *Fusarium* species. University of California, Department of Plant Pathology. Berkeley, California. Mimeografiado. 1959. 1 p.
17. THOMASON, L., ERWIN, D. y GARBER, M. The relationship of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*, to *Fusarium* wilt of cowpea. *Phytopathology* 49: 602-606. 1959.
18. WONG, T. y MAI, W. F. Pathogenicity of *Meloidogyne hapla* to lettuce as affected by inoculum level, plant age at inoculation and temperature. *Journal of Nematology* 5 (2): 126-129. 1973.