

EFFECTO DE LA DENSIDAD INICIAL DEL INOCULO SOBRE LA PATOGENICIDAD DE *Meloidogyne salasi* EN TRES CULTIVARES DE ARROZ ¹ /*

Carlos Luis Sancho **

Luis Salazar **

Róger López **

ABSTRACT

Effect of the initial population density on the pathogenicity of *Meloidogyne salasi* on three rice cultivars. The effects of the initial inoculum density (0, 333, 666, and 999 eggs/100 ml soil) on the pathogenicity of *Meloidogyne salasi* on three ('CR-1113', 'CICA-7', 'CR-5272') rice cultivars was evaluated under greenhouse conditions. The inoculum density caused a descending lineal effect on the stem diameter, the width of the central leaf and plant height, while it caused the opposite effect upon root weight. The inoculum density also caused a cubic effect on the root-knot index and the density of second stage juvenile (J_2) recovered from the rhizosphere of the plants. There were significant differences among cultivars in stem diameter, width of the central leaf, root weight and density of J_2 recovered from their rhizosphere, but not in plant height, leaf weight and root-knot index. Cultivars 'CR-5272' and 'CICA-7' seem to be more susceptible than 'CR-1113' to the attack of *M. salasi*. Inoculated plants showed leaf chlorosis, stunting, lack of vigor, foliar necrosis and little tillering. The root-knots caused by *M. salasi* occurred on roots tips mostly, preventing the roots from growing and promoting the appearance of secondary roots on the convex side of the knots. Root necrosis was caused by high initial inoculum density.

INTRODUCCION

Varias especies de nematodos del género *Meloidogyne* Goeldi, 1887 atacan al cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) especialmente bajo condiciones de secano; entre ellas se ha mencionado a *M. incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949; *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949; *M. exigua* Goeldi, 1887; *M. graminicola* Golden y Birch-

field, 1965; y *M. thamesi* (Chitwood in Chitwood, Specht y Havis, 1952) Goodey, 1963 (Hollis y Keoboonrueng, 1984).

Recientemente ha sido descrita una nueva especie, *M. salasi* López, 1984, que ataca el arroz en Costa Rica y Panamá. Esta especie se ha encontrado en Costa Rica en la región sureste, muy cercana a la frontera con Panamá, en la localidad de La Cuesta (Alvarado y López, 1981; Sancho y Salazar, 1985). Sus densidades poblacionales han sido usualmente altas (Alvarado y López, 1981; Sancho y Salazar, 1985), y se sospechaba que el daño causado podría ser cuantioso. Se consideró necesario realizar un estudio en que se determinara si esta especie era o no patogénica a varios cultivares de arroz, y si existía alguna relación entre la densidad inicial del inóculo y la cuantía del daño causado. Los resultados de este estudio son descritos a continuación.

1/ Recibido para publicación el 12 de febrero de 1987.

* Parte de la tesis de grado presentada por el primer autor ante la Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica.

** Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. El tercer autor es beneficiario del CONICIT.

MATERIALES Y METODOS

Se colectó una población de *M. salasi* en arroz proveniente de La Cuesta, cantón de Corredores, Puntarenas, Costa Rica. La misma fue mantenida e incrementada en arroz, cv. 'CR-1113' y 'CR-5272', bajo condiciones de invernadero en la Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica.

Para realizar la investigación se utilizó un suelo arrocero proveniente de Palmar Sur, cuyas principales características se presentan en el Cuadro 1. Se usó potes de lata de 3,78 L a los que se les agregó 3000 ml de suelo pasteurizado con vapor de agua previo a su utilización. Para extraer el inóculo de *M. salasi* se tomó raíces afectadas y se las lavó con abundante agua; luego fueron cortadas en trozos de 2-3 cm de largo y maceradas en una licuadora durante 20-30 seg. El macerado se vertió sobre un juego de tamices de 325 y 500 mallas. Los huevos extraídos fueron concentrados en un beaker; la suspensión obtenida fue aforada hasta un volumen conocido, y luego se homogenizó con un inyector de burbujas de aire.

Cuadro 1. Principales características químicas y físicas del suelo de Palmar Sur utilizado en la evaluación de densidades crecientes de inóculo de *Meloidogyne salasi* en tres cultivares de arroz.

Característica	Cantidad
N	0,19 %
P	16 ppm
K	0,6 meq/100 g
Ca	1,08 meq/100 g
Mg	0,98 meq/100 g
Al	0,28 meq/100 g
pH en H ₂ O	6,0
pH en KCl	4,8
Arena	17,84 %
Arcilla	58,16 %
Limo	24,00 %
Nombre textural	Arcilloso
Materia orgánica	6,1 %

Se estimó la densidad de huevos presentes en tres alícuotas de 1 ml cada una. Se evaluó el efecto de tres densidades iniciales de inóculo: 333, 666 y 999 huevos/100 ml de suelo, sobre el crecimiento de los cultivares de arroz 'CR-1113', 'CR-5272' y 'CICA-7'. Además, en cada caso se dejaron plantas testigo, sin inocular. Para esto se usó un arreglo factorial 3x4 colocado en un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones. Los huevos fueron distribuidos sobre la superficie del suelo con ayuda de una pipeta, y luego se incorporaron unos pocos milímetros dentro del mismo, inmediatamente antes de la siembra. En cada pote se utilizó 10 semillas pregerminadas de cada cultivar. Al momento de la siembra se fertilizó con una dosis de 100 kg/ha de la fórmula 10-30-10, y 22 días después con 80 kg/ha de urea. Las plantas fueron mantenidas en el invernadero durante tres meses con una temperatura diurna promedio de 32,5° C. Al finalizar este período se determinó la altura de 4 plantas/pote, el diámetro de 8 plantas/pote, el ancho de la hoja central más joven, completamente abierta, en 8 plantas/pote, el peso fresco de todos los tallos y hojas en cada pote y el peso fresco de todas las raíces. Además se hizo una evaluación del índice de nódulos radicales en todas las plantas de cada pote, utilizando para esto una escala donde: 0 = 0; 1=1-25; 2=26-50; 3=51-75 y 4=76-100% de las raíces con nódulos. También se obtuvo un estimado de la tasa de reproducción del nematodo. Se extrajo los huevos presentes en 10 g de raíces, en igual forma que la utilizada para extraer el inóculo inicial y la tasa de reproducción fue calculada al dividir la cantidad de huevos recuperados por sistema radical entre la cantidad inoculada al inicio del experimento. Posteriormente a estas evaluaciones el suelo de cada pote fue homogeneizado y cuarteado hasta obtener una submuestra de 100 ml, que fue procesada por el método de centrifugación-flotación modificado por Alvarado y López (1981). Se procedió al recuento de segundos estadios juveniles (J₂) presentes en cada tratamiento.

RESULTADOS

Se encontró un efecto lineal negativo de la densidad de inóculo sobre el diámetro de los tallos, el ancho de la hoja central y la altura de las plantas, definido por las ecuaciones $\bar{Y} = 3,97 - 0,11 P_1$; $\bar{Y} = 1,13 - 0,0185 P_1$ y $\bar{Y} = 76,78 - 1,75 P_1$, respectivamente.

Cuadro 2. Valores promedio de diámetro de tallos, ancho de hoja central y altura de plantas de tres cultivares de arroz, inoculados con densidades crecientes de *Meloidogyne salasi*.

Número de huevos / 100 ml de suelo	Diámetro de tallos (mm)				Ancho de hoja central (cm)				Altura de plantas (cm)			
	CR		CR	Promedio	CR		CR	Promedio	CR		CR	Promedio
	1113	CICA-7	5272		1113	CICA-7	5272		1113	CICA-7	5272	Promedio
0	4,7b*	4,5ab	4,1ab	4,4b**	1,1a	1,3a	1,2a	1,2a**	79,2a*	84,0a	81,7a	82bc**
333	4,2ab	3,9ab	3,8ab	4,0b	1,1a	1,2a	1,1a	1,2a	80,5a	74,1a	84,4a	78ab
666	4,3ab	4,0ab	3,2ab	3,9b	1,0a	1,2a	1,0a	1,1a	79,7a	70,4a	72,0a	74ab
999	4,0ab	4,0ab	3,0a	3,7a	1,0a	1,2a	1,1a	1,1a	76,3a	65,5a	65,5a	68a
Promedio de cultivares***	4,3B	4,0B	3,5A		1,1A	1,1A	1,3B		78,9A	75,6A	75,9A	
C.V.	18,3%				8,8%				12,4%			

* Promedio de cinco repeticiones. Promedios de cada densidad en cada cultivar seguidos por una misma letra no difieren significativamente entre sí (Duncan, P = 0,05).

** Promedio de quince repeticiones. Promedios en esta misma columna seguidos por una misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con los resultados de la prueba de amplitud múltiple de Duncan, (P = 0,05).

*** Promedio de veinte repeticiones. Promedios en esta misma línea, seguidos por una misma letra mayúscula, no difieren significativamente entre sí (Duncan, P = 0,05).

Cuadro 3. Valores promedio de peso de raíz y follaje de plantas de tres cultivares de arroz inoculados con densidades crecientes de *Meloidogyne salasi*.

Número de huevos / 100 ml de suelo	Peso de raíz (g)				Peso del follaje (g)			
	CR-1113	CICA-7	CR-5272	Promedio	CR-1113	CICA-7	CR-5272	Promedio
0	27,8ab*	28,0ab	31,0bc	28,9a**	65,3c*	64,7a	30,7a	53,6a**
333	44,7d	31,9bc	33,6c	36,7b	65,9c	51,8abc	32,9ab	50,1a
666	30,8abc	35,8c	42,0d	36,2b	56,7bc	57,3bc	41,8abc	51,9a
999	53,8e	26,0a	31,2c	37,0b	67,9bc	54,0bc	31,0a	51,0a
Promedio de cultivares***	39,3C	30,4A	34,5B		63,9A	56,9A	34,1A	
C.V.	21,8%				23,5%			

* Promedio de cinco repeticiones. Promedios de cada densidad en cada cultivar seguidos por una misma letra no difieren significativamente entre sí (Duncan, P = 0,05).

** Promedio de quince repeticiones. Promedios en esta columna seguidos por una misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con los resultados de la prueba de amplitud múltiple de Duncan (P = 0,05).

*** Promedio de veinte repeticiones. Promedios en esta misma línea seguidos por una misma letra mayúscula no difieren significativamente entre sí (Duncan, P = 0,05).

Cuadro 4. Valores promedio de número de larvas recuperadas del suelo, índice de nódulos radicales y tasa de reproducción en plantas de tres cultivares de arroz inoculados con densidades crecientes de *Meloidogyne salasi*.

Número de huevos / 100 ml de suelo	Número de juveniles recuperadas del suelo				Índice de nódulos radicales				Tasa de reproducción		
	CR-1113	CICA-7	CR-5272	Promedio	CR-1113	CICA-7	CR-5272	Promedio	CR-1113	CICA-7	CR-5272
0	0a*	0a	0a	0a**	0a	0a	0a	0a**	0****	0	0
333	98cd	51bcd	171d	106c	4,4b	4,0b	4,4b	4,3b	4,3	3,5	6,3
666	22ab	51bcd	111cd	61b	3,5b	4,0b	4,4b	4,0b	1,8	2,9	2,2
999	51bcd	87cd	85bcd	74c	4,3b	4,3b	4,4b	4,3b	1,6	2,3	2,0
Promedio de 43A cultivares ***	47A	92B			3,0A	3,0A	3,3A				
C.V.	12,4 %				13,9 %						

* Promedio de cinco repeticiones. Promedios de cada densidad en cada cultivar seguidos por una misma letra no difieren significativamente entre sí (Duncan, $P = 0,05$).

** Promedio de quince observaciones. Promedios en esta columna seguidos por una misma letra, son estadísticamente iguales de acuerdo con los resultados de la prueba de amplitud múltiple de Duncan ($P = 0,05$).

*** Promedio de veinte observaciones. Promedios en esta misma línea, seguidos por una misma letra mayúscula, no difieren significativamente entre sí (Duncan, $P = 0,05$).

**** No se hizo análisis estadístico para esta variable.

La densidad de inóculo tuvo un efecto lineal positivo sobre el peso de las raíces, definido por la ecuación $\bar{Y} = 34,73 + 1,18 P_1$ y un efecto cúbico sobre el número de J_2 recuperados en el suelo y el índice de nódulos radicales, según las ecuaciones $Y = 96,40 + 13,95 P_1 - 27,03 P_2 + 12,53 P_3$ y $Y = 1,89 + 0,048 P_1 - 0,262 P_2 + 0,060 P_3$, respectivamente. No hubo efecto de la densidad sobre el peso del follaje.

Los resultados obtenidos al comparar entre sí los cultivares y los de la interacción densidad de inóculo x cultivares se presentan en los Cuadros 2 a 4. Se encontró que el cultivar 'CR-5272' tuvo un ancho de la hoja central y una densidad de J_2 en el suelo alrededor de él significativamente mayor, y un diámetro de tallos significativamente menor que los otros dos cultivares. En cuanto al peso de las raíces, cada cultivar fue significativamente diferente de los otros dos. No hubo diferencia significativa entre cultivares en altura, peso del follaje e índice de nódulos radicales.

En lo concerniente al estimado del valor de la tasa de reproducción, se encontró que los mayores valores fueron obtenidos cuando se inoculó

333 huevos/100 ml de suelo en cada cultivar y disminuyeron paulatinamente conforme la densidad aumentó a 666 y 999 huevos/100 ml de suelo. El mayor valor se obtuvo al inocular el cultivar 'CR-5272' con 333 huevos/100 ml y el menor al inocular el 'CR-1113' con 999 huevos/100 ml de suelo. Al analizar la interacción densidad de inóculo x cultivares se encontró que la misma fue significativa en las variables diámetro del tallo (Cuadro 2), peso de las raíces, peso del follaje (Cuadro 3), densidad de J_2 recuperados del suelo e índice de nódulos radicales (Cuadro 4). Esta interacción no fue significativa para el ancho de la hoja central y altura de las plantas.

Se encontró además que las plantas infectadas tuvieron poco vigor. En sus hojas se observó un amarillamiento en el ápice, que avanzó por los bordes hasta la base, produciendo luego un necrosamiento que estranguló las hojas. Los tallos también se tornaron amarillentos y en casos extremos las plantas murieron. Estos síntomas fueron generales para las tres densidades de inóculo en los tres cultivares, aunque más acentuados en 'CR-5272' y 'CICA-7'. En las raíces, los nódulos causados

por *M. salasi* se localizaron generalmente en los ápices, lo que detuvo su crecimiento. Los nódulos tomaron formas caprichosas, tales como la de una letra J o un círculo. Se observó además que del lado convexo de los nódulos salió una serie de raíces secundarias. En casos de ataque muy severo se notó necrosis en los tejidos radicales.

DISCUSION

Densidad del inóculo

Las disminuciones de la altura de las plantas, el ancho de la hoja central y el diámetro de los tallos cuando aumentó la densidad de inóculo podrían explicarse mediante la hipótesis de que conforme aumentó la densidad hubo un mayor número de J_2 infectivos que invadieron las raíces y afectaron en grado creciente el desarrollo de las plantas.

El efecto de la densidad del inóculo sobre el peso de las raíces, contrario a los anteriores ya que hubo un incremento conforme aumentó la densidad, puede también ser explicado mediante la hipótesis mencionada anteriormente; a mayor densidad de inóculo el número de J_2 que invadió las raíces fue mayor y esta mayor densidad de J_2 incrementó la cantidad de nódulos o agallas formadas en las raíces como respuesta al parasitismo por *M. salasi*. El mayor número de individuos por raíz y de nódulos radicales, a su vez, causó un aumento del peso de los sistemas radicales; estos resultados coinciden con hallazgos anteriores (Padilla, *et al.*, 1980) según los cuales en ciertas ocasiones se ha encontrado un mayor peso radical en plantas inoculadas con *Meloidogyne* spp. que en plantas sin inocular.

Por otra parte, no se encontró una buena razón para explicar el efecto cúbico de la densidad de inóculo sobre la densidad de J_2 recuperados en el suelo alrededor de las plantas. Fue evidente que el comportamiento de los cultivares fue diferente con respecto a esta variable, lo que podría haber causado resultados que al ser promediados produjeran un efecto cúbico estadísticamente significativo. Conviene aclarar que el mayor número de J_2 fue recuperado en suelos inoculados con la menor densidad de inóculo, lo que se podría deber a que con la baja densidad se produjo una alta tasa de reproducción de *M. salasi*, ya que posiblemente hubo una menor competencia por espacio y alimento. Resultados similares han sido informados por Rao e Israel (1972) quienes trabajaron con densidades crecientes de *M. graminicola* en arroz.

Una situación muy similar a la descrita anteriormente se presentó en el caso del índice de nódulos radicales, es decir, no se encontró una razón clara para explicar el efecto cúbico de la densidad de inóculo sobre esta variable y se observó que el comportamiento individual de los cultivares con respecto a la misma fue diferente. Es posible que el haber evaluado esta variable con base en el porcentaje de raíces con nódulos y no en el número de nódulos/sistema radical, haya hecho difícil cuantificar de manera real el efecto de la densidad de inóculo sobre la misma.

El estimado de la tasa de reproducción produjo los resultados esperados; conforme aumentó la densidad de inóculo, disminuyó el valor de la tasa de reproducción. Este resultado puede ser atribuido a que a mayores densidades de inóculo hubo una mayor competencia por el espacio y el alimento, que, eventualmente, causó una disminución en la tasa de reproducción. Resultados similares han sido encontrados con *M. graminicola* (Rao e Israel, 1972).

Cultivares

El comportamiento de los cultivares fue diferente en la mayoría de los casos, lo que podría ser la causa de que en varias oportunidades la interacción densidad de inóculo x cultivar fuera significativa. Estas diferencias en el comportamiento de los cultivares se pueden explicar aduciendo que la constitución genética de los mismos fue la responsable de estas variaciones. En este sentido, los resultados obtenidos inducen a concluir que el cultivar 'CR-5272' fue el más susceptible al ataque de *M. salasi*, ya que de su rizosfera se recuperó la mayor densidad de J_2 y, en promedio, tuvo el mayor valor del estimado de la tasa de producción. Este cultivar y el 'CICA-7' fueron a su vez los que tuvieron un menor peso del sistema radical cuando se inoculó la mayor densidad poblacional de *M. salasi*, resultado que da evidencia de que, bajo condiciones de un severo ataque, las plantas de estos cultivares se ven muy afectadas por este nematodo y su desarrollo radical es drásticamente reducido; es decir, estos cultivares son intolerantes a su ataque. El cultivar 'CR-1113' pareciera no ser tan intolerante como los dos anteriores, además de que, en promedio, la densidad de J_2 recuperados de su rizosfera y el estimado de la tasa de reproducción fueron inferiores a los obtenidos con los otros.

En plantas parasitadas por *M. salasi* se observó que los primeros síntomas foliares tales como amarillamiento del ápice se hicieron evidentes cuando las plantas sobrepasaron los 30 días de edad y se acentuaron conforme pasó el tiempo, hasta llegar a producir necrosis. Algo similar fue observado por Roy (1973) en plantas de arroz parasitadas por *M. graminicola*. El enanismo, la falta de vigor, el estrangulamiento de las hojas, la clorosis del tallo y en casos extremos la muerte de las plantas, son también síntomas comúnmente observados por varios autores en plantas de arroz parasitadas por nematodos formadores de nódulos radicales (Babatola, 1980; Dickerson, 1966; Sledge, 1962; Tullis, 1934).

De acuerdo con los resultados obtenidos la patogenicidad de *M. salasi* en arroz quedó demostrada, y se pudo establecer que, en términos generales, conforme aumentó la densidad inicial de su inóculo su efecto sobre el crecimiento de las plantas fue más severo. También se encontró que la reacción de los tres cultivares de arroz al ataque de esta especie varió individualmente, y que el cultivar 'CR-5272' pareciera ser el más susceptible e intolerante, mientras que el 'CR-1113' pareciera ser el menos susceptible y más tolerante. Es posible, sin embargo, que las diferencias detectadas entre cultivares no tengan gran importancia en la práctica, ya que aún en el caso del cultivar 'CR-1113' las pérdidas podrían ser cuantiosas, sobre todo con densidades iniciales de inóculo relativamente altas.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la densidad inicial (0, 333, 666 y 999 huevos/100 ml de suelo) de inóculo de *Meloidogyne salasi* sobre el crecimiento de los cultivares de arroz 'CR-1113', 'CICA-7' y 'CR-5272' bajo condiciones de invernadero. La densidad de inóculo produjo un efecto lineal descendente sobre el diámetro del tallo, el ancho de la hoja central y la altura de las plantas; una situación inversa a la anterior se presentó con respecto al peso de las raíces debido al aumento producido por la masa de agallas. La densidad de inóculo también produjo efectos cúbicos significativos sobre el índice de nódulos radicales y la densidad de segundos estadios juveniles (J_2) recuperados de la rizosfera de las plantas. Hubo diferencias significativas entre cultivares en el diámetro del tallo, ancho de la hoja central, peso de las raíces y densidad de J_2 recuperados de su rizosfera, no así en cuanto a la altura de las plantas, peso del follaje e índice de nódulos radicales. Los cultivares 'CR-5272' y

'CICA-7' parecieran ser más susceptibles al ataque de *M. salasi* que 'CR-1113'.

En las plantas inoculadas se presentaron síntomas como clorosis de las hojas, achaparramiento, falta de vigor, necrosis foliar y poca formación de macollas, lo que demuestra la patogenicidad de *M. salasi* en arroz. Los nódulos formados por el ataque se localizaron en los ápices de las raíces, lo que impidió su posterior elongación y promovió la formación de raíces secundarias que salieron del lado convexo de los nódulos. Con altas densidades de inóculo se produjo necrosis en las raíces.

LITERATURA CITADA

- ALVARADO, M.; LOPEZ, R. 1981. Extracción de nematodos fitoparásitos asociados al arroz, cv. 'C.R. 1113', mediante modificaciones de las técnicas de centrifugación-flotación y embudo de Baermann modificado. *Agronomía Costarricense* 5(1/2):7-13.
- BABATOLA, J.D. 1980. Reactions of some rice cultivars to the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Nematropica* 10(1):5-9.
- DICKERSON, D.J. 1966. Some observations on *Hypspopryne graminis* in Kansas. *Plant Disease Reporter* 50 (6):396-398.
- HOLLIS JUNIOR, J.P.; KEOBOONRUENG, S. 1984. Nematodes parasites of rice. In *plant and insect nematodes*. Ed. by W.R. Nickle. New York, Marcel Dekker, Inc. p. 95-146.
- LOPEZ, R. 1984. *Meloidogyne salasi* sp. n. (Nematoda: Meloidogynidae), a new parasite of rice (*Oryza sativa* L.) from Costa Rica and Panamá. *Turrialba* 34(3): 275-286.
- PADILLA, C.; LOPEZ, R.; VARGAS, E. 1980. Interacción entre *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi en arveja. *Agronomía Costarricense* 4(1):55-60.
- RAO, Y.S.; ISRAEL, P. 1972. Influence of inoculum density on the final population of rootknot nematode (*Meloidogyne graminicola*) in rice. *Indian Journal of Nematology* 2(1): 72-76.
- ROY, A.K. 1973. Reaction of some rice cultivars to the attack of *Meloidogyne graminicola*. *Indian Journal of Nematology* 3(1): 72-73.
- SANCHO, L.C.; SALAZAR, L. 1985. Nematodos parásitos del arroz (*Oryza sativa*) en el sureste de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 9(2):161-163.
- SLEDGE, E.B. 1962. Preliminary report on a *Meloidogyne* sp. parasite of grass in Florida. *Plant Disease Reporter* 46(1):52-54.
- TULLIS, E.G. 1934. The root-knot nematode on rice. *Phytopathology* 24(8): 938-942.