

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE RASTREO DE VARIAS POBLACIONES DE *Meloidogyne hapla* (NEMATA: HETERODERIDAE) ENCONTRADAS EN COSTA RICA^{1/*}

Róger López **

ABSTRACT

Scanning electron microscopy of some populations of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* (Nemata: Heteroderidae) found in Costa Rica. The morphology of females, males and second-stage juveniles (J₂) of six populations of *M. hapla* from different localities in Costa Rica, was studied with the help of the scanning electron microscope. In females the labial disc is rectangular, with the rounded or oval prestoma surrounded by six inner labial sensilla on its center, and fused to the asymmetrical medial lips to form the cephalic cap. The lateral lips are triangular, rounded or not distinguishable. Perineal patterns are rounded, oval or dorso-ventrally compressed, with a rounded, trapezoidal or almost non-existing low dorsal arch. Striae are fine, continuous, smooth or slightly wavy, closely spaced. In some specimens the dorsal and ventral striae extend laterally to form wings on one or both sides. In males the cephalic region is smooth and has a single annule; the rounded or oval labial disc is fused to the medial lips, has straight or slightly rounded lateral edges, and a slit-like stoma on its center, sunken inside the rectangular or oval prestoma. The later is surrounded by six inner labial sensilla. In some specimens trapezoidal lateral lips are present. In J₂ the cephalic region is smooth and has a single annule. The labial disc can be rounded or rectangular and has straight or slightly rounded lateral edges. A rounded prestoma, surrounded by six inner labial sensilla, is located on its center. The labial disc is fused to the medial lips and they form the dumbbell-shaped head cap. The small lateral lips may be triangular or rounded. In a few specimens the cephalic sensilla appear as elongate depressions near the edges of the medial lips.

INTRODUCCION

Meloidogyne hapla Chitwood, 1949 es una de las más importantes especies de este género de nematodos fitoparásitos que ha sido encontrada e identificada en Costa Rica (López y Salazar, 1978; 1984). Su distribución geográfica conocida

incluye principalmente la Cordillera Volcánica Central, el Valle del Guarco y la porción norte de la Cordillera de Talamanca, aunque recientemente fue hallada en un área montañosa localizada entre Ciudad Neilly y Agua Buena, cerca de la frontera con Panamá (R. López, datos sin publicar). Esta especie tiene una amplia gama de hospedantes que incluye varios cultivos (Taylor y Sasser, 1978), a los que frecuentemente les causa daños de importancia económica (Franklin, 1979).

En trabajos previos se ha enfatizado la necesidad de buscar características morfológicas diagnósticas, que permitan una identificación precisa y confiable de las especies de este género que

1/ Recibido para publicación el 7 de diciembre de 1990.
* Parte del proyecto 312-86-110 de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.
** Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

atacan cultivos en Costa Rica, así como las cualidades y ventajas que tiene el microscopio electrónico de rastreo (MER) para llevar a cabo este tipo de estudios (López y Salazar, 1989; 1990). La identificación específica es necesaria para la aplicación adecuada de tácticas para el manejo de estos nematodos. En este trabajo se presenta la información más relevante obtenida durante la caracterización de varias poblaciones costarricenses de *M. hapla* con el MER.

MATERIALES Y METODOS

Seis poblaciones de *M. hapla*, colectadas en diferentes hospedantes y localidades de Costa Rica (Cuadro 1) fueron utilizadas en este estudio. Estas poblaciones fueron mantenidas y reproducidas bajo condiciones de invernadero en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), excepto la población colectada en Fraijanes, que fue procesada tal y como venía del campo. Hembras, machos y segundos estados juveniles (J_2) de cada una de estas poblaciones fueron procesados para su observación y estudio al MER de acuerdo con técnicas descritas previamente (López y Salazar, 1990). Igual que en casos anteriores, la terminología propuesta por varios autores (Eisenback y Hirschmann, 1979; 1980; Eisenback *et al.*, 1980) fue utilizada para la descripción de la morfología.

RESULTADOS

En la Figura 1 se ilustra la morfología de la porción frontal y del diseño perineal de las hembras. La región labial se caracteriza por tener un prestoma levemente ovalado (Figura 1a) o redondeado (Figuras 1b-c) en el centro del disco labial; este último tiene forma rectangular y está fusionado con los labios medios (Figuras 1a-c), los que son más anchos que el disco labial. El labio medio localizado en la porción ventral del cuerpo es de mayor tamaño que el localizado en la porción dorsal y generalmente está fusionado con los labios laterales (Figura 1a). Los pequeños labios laterales que están colocados en un nivel inferior al del disco labial, pueden ser triangulares (Figura 1a), redondeados (Figura 1b) o pueden no ser discernibles (Figura 1c). Las aberturas anfidiales están colocadas debajo de los bordes laterales del disco labial (Figuras 1a-c) y tienen la forma de rendijas

Cuadro 1. Localidades de Costa Rica y hospedantes en que fueron colectadas varias poblaciones de *Meloidogyne hapla* estudiadas con el microscopio electrónico de rastreo.

Localidad	Hospedante
El Empalme, Desamparados	<i>Dianthus caryophyllus</i>
Tapezco, Alfaro Ruiz	<i>Beta vulgaris</i>
Llano Grande, Cartago	<i>Dianthus caryophyllus</i>
División, Pérez Zeledón	<i>Eupatorium subcordatum</i>
Fraijanes, Alajuela	<i>Plantago major</i>
Poasito, Alajuela	<i>Fragaria</i> sp.

rectangulares orientadas dorsoventralmente. La región cefálica está compuesta por un solo anillo, que frecuentemente está surcado por cortas incisuras longitudinales (Figuras 1a-c). En unos pocos especímenes la región labial está parcialmente fusionada con la región cefálica (Figura 1c). Una característica prominente de los diseños perineales es que están constituidos casi exclusivamente por estrías finas, continuas, levemente onduladas, muy cercanas entre sí (Figuras 1d-i). Su forma es variable ya que pueden ser redondeados (Figuras 1e-g), ovalados (Figura 1d) o comprimidos dorsoventralmente (Figuras 1h-i). El arco dorsal puede ser trapezoidal (Figuras 1d-e), redondeado (Figuras 1f-g) o prácticamente indistinguible (Figuras 1h-i); en general, es relativamente bajo. El ano se encuentra oculto por una estría corta, curvada (Figuras 1e-f,i). Con alguna frecuencia fueron observados diseños en los que las estrías dorsales y ventrales se extendían lateralmente hasta formar alas en ambos (Figura 1h) o sólo uno de los lados (Figura 1i), al igual que diseños en los que los campos laterales eran muy marcados (Figuras 1f-h) y separaban las estrías dorsales de las ventrales.

En la Figura 2 se ilustra la morfología de la porción anterior de los machos, la que es un poco aguzada (Figuras 2a-b). En vista frontal la región labial presenta un prestoma ovalado en el centro del disco labial, orientado dorsoventralmente y rodeado por 6 sensilas labiales internas, en forma de pequeños poros redondeados que se abren dentro del mismo (Figuras 2b-f). El estoma aparece como una rendija alargada en el sentido dorsoventral, en un nivel inferior dentro del prestoma (Figuras 2c-e). El disco labial es redondeado u ovalado, está levemente elevado en su región central, tiene bordes laterales casi rectos o levemente arqueados y está fusionado con los labios medios

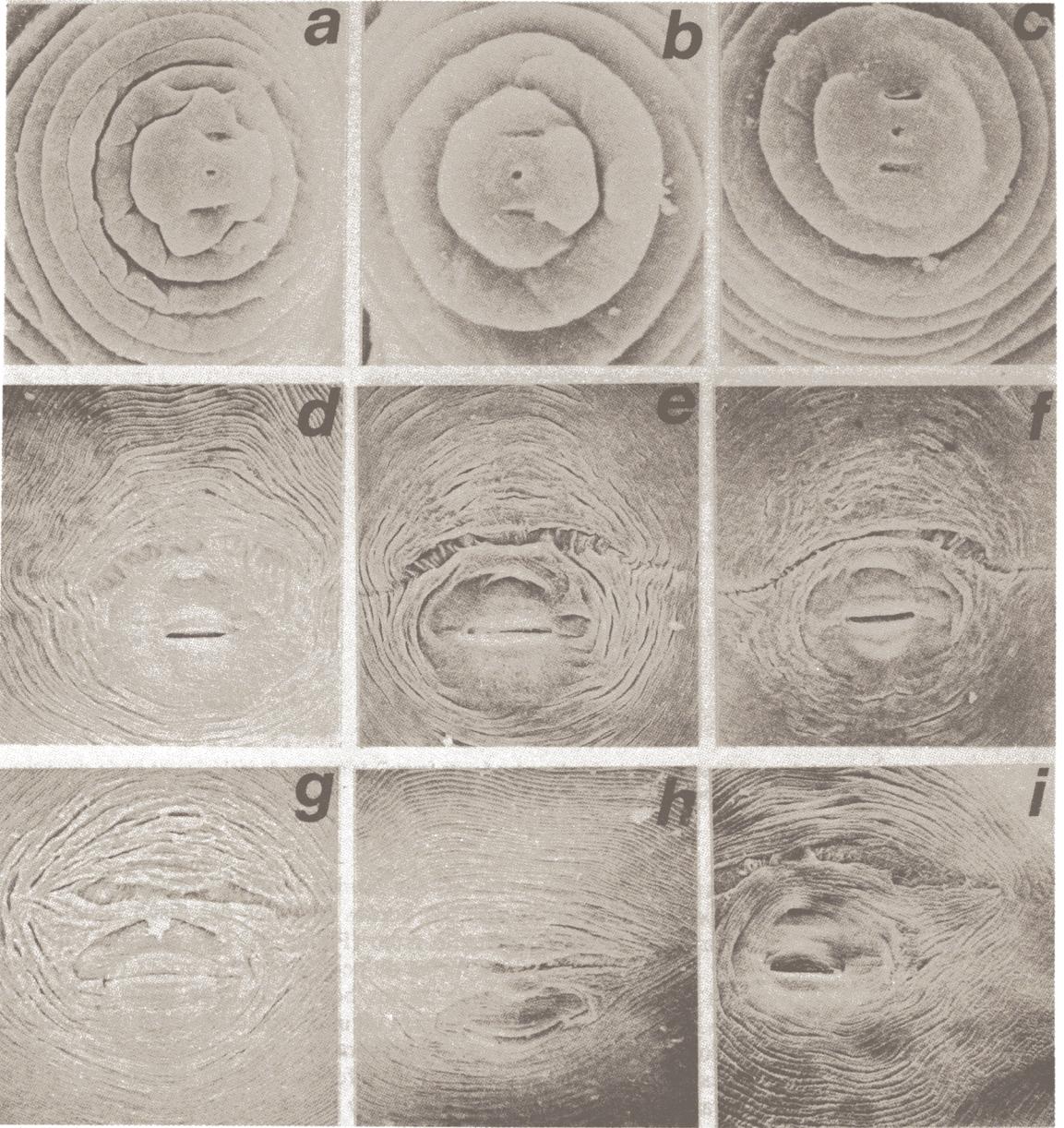


Fig. 1. Fotomicrografías de la porción frontal (a-c) y de diseños perineales (d-i) de hembras de *Meloidogyne hapla*, provenientes de Llano Grande (a,d), Fraijanes (b,i), El Empalme (c,g,h) y Poasito (e,f).

(Figuras 2b-f); éstos son de igual diámetro o levemente más anchos que el disco labial, tienen sus bordes redondeados y, en conjunto con el disco labial, forman el casco cefálico (Figuras 2b-f); éste último es de menor tamaño que la región cefálica, la que es lisa y está formada por un solo anillo. En pocos especímenes fue factible obser-

var labios laterales trapezoidales, los que estaban delimitados por estrías cortas que se extendían sobre la región cefálica desde los bordes laterales de los labios medios (Figuras 2c,f). Las sensilas cefálicas son visibles en pocos individuos, en forma de angostas depresiones alargadas cerca de los bordes de los labios medios (Figuras 2d-e).

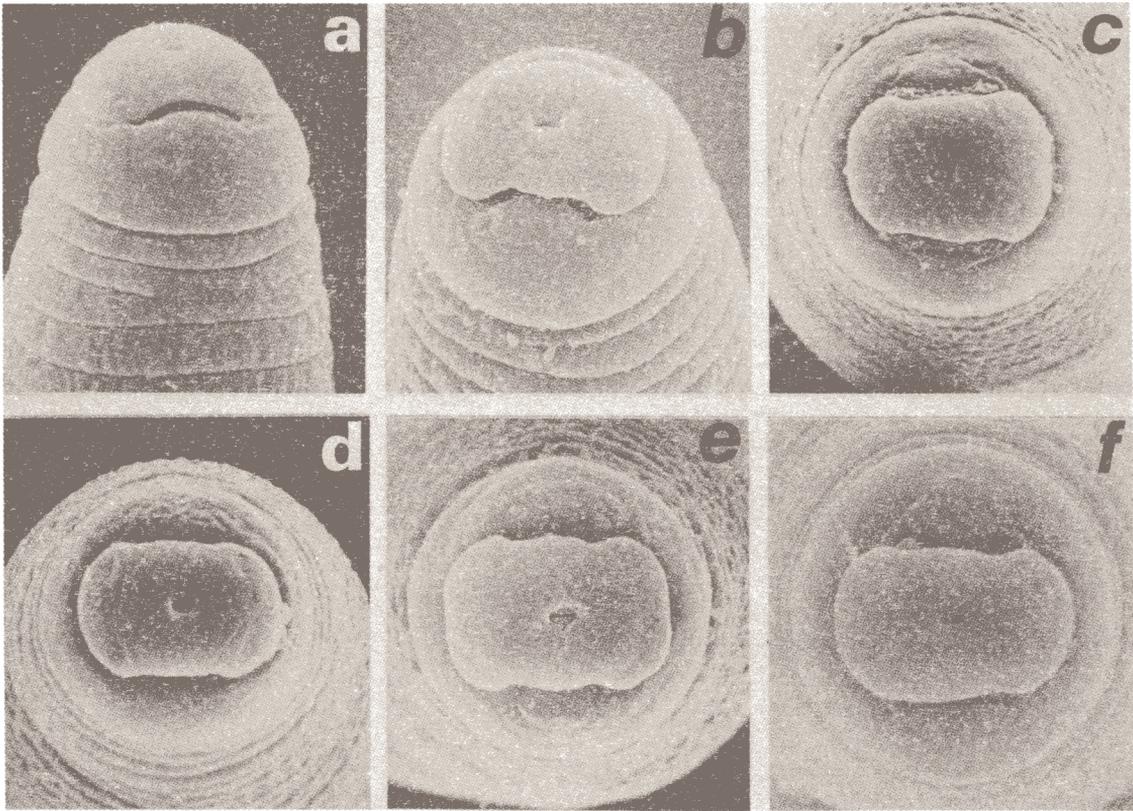


Fig. 2. Fotomicrografías de la porción anterior (a,b vista lateral; c-f vista frontal) de machos de *Meloidogyne hapla*, provenientes de Fraijanes (a,d), El Empalme (b,c), Poasito (c) y Llano Grande (f).

Las aberturas anfidiales aparecen como rendijas rectangulares, alargadas y están localizadas debajo de los bordes laterales del disco labial (Figuras 2b-f).

En la Figura 3 se ilustra la morfología de la porción anterior del cuerpo de los J_2 . La región cefálica es lisa y está formada por un solo anillo (Figura 3). El prestoma aparece como una pequeña abertura redondeada (Figuras 3a-b,d-f) o levemente ovalada (Figura 3c), localizada en el centro del disco labial. Alrededor del prestoma hay 6 sensilas labiales internas en forma de diminutos poros redondeados (Figura 3). El disco labial puede ser redondeado (Figuras 3a, e) o rectangular (Figura 3b-d,f), tiene bordes laterales rectos (Figuras 3b-d,f) o levemente redondeados (Figuras 3a,e) y está levemente elevado sobre los labios medios, con los que está fusionado (Figura 3). Los labios medios son más anchos que el disco

labial, sus bordes son redondeados y su unión con los bordes laterales del disco labial es en ángulo recto (Figura 3). Dos sensilas cefálicas en forma de pequeñas depresiones redondeadas cerca de los bordes de cada labio medio son visibles en algunos especímenes (Figuras 3d-e). Los labios laterales son pequeños y están situados en un nivel inferior al de los labios medios y el disco labial; su forma es variable, ya que pueden ser triangulares (Figuras 3a-c), rectangulares (Figura 3d) o redondeados (Figuras 3d-e). En algunos casos uno puede ser triangular y el otro redondeado (Figura 3e). Generalmente, los labios laterales sobresalen de los márgenes de los labios medios y se extienden sobre la región cefálica. Las aberturas anfidiales tienen forma de rendijas rectangulares y están localizadas debajo de los márgenes laterales del disco labial. El disco labial y los labios medios forman el casco cefálico, que tiene forma de corbatín (Figura 3).

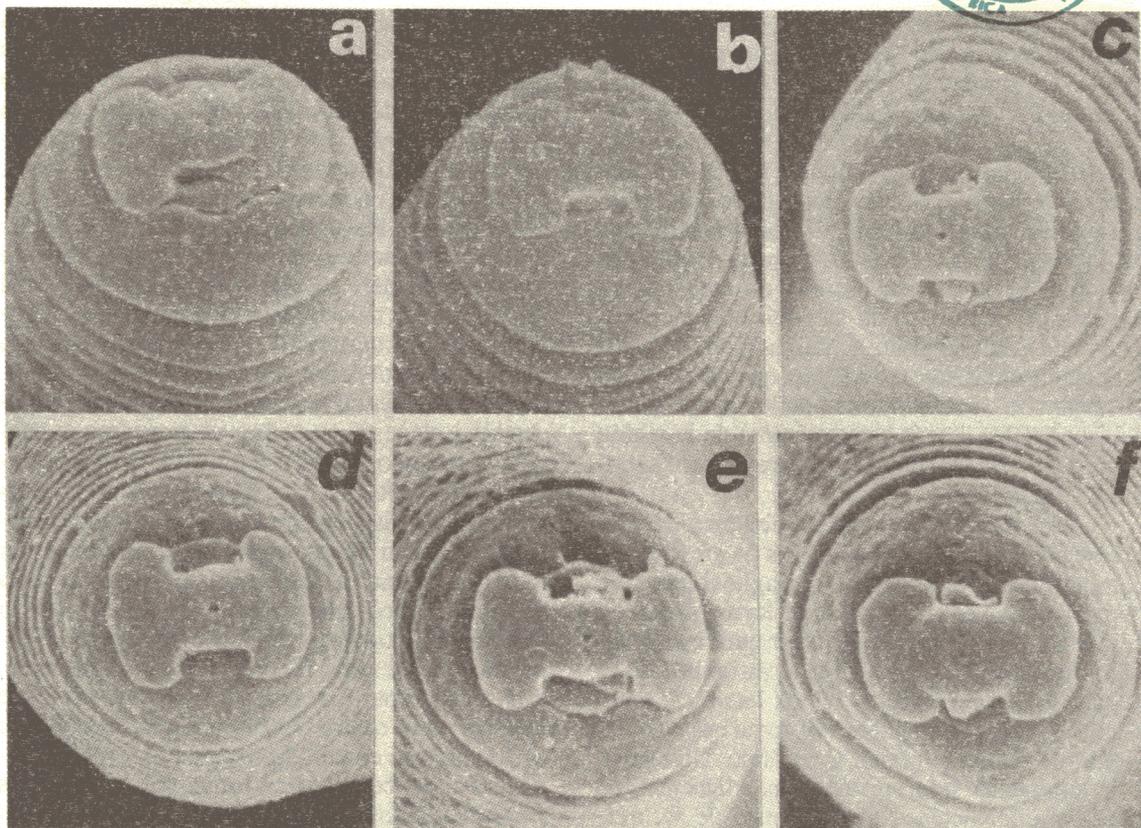


Fig. 3. Fotomicrográficas de la región anterior (a,b vista lateral; c-f vista frontal) de segundos estados juveniles de *Meloidogyne hapla*, provenientes de Tapezco (a,e), Llano Grande (b,d) y División (c,f).

DISCUSION

En general, la morfología de las poblaciones de *M. hapla* estudiadas coincide, con unas pocas excepciones, con lo informado anteriormente por otros autores. Por ejemplo, en el caso de las hembras la forma de la región frontal es similar a lo informado por Eisenback *et al.* (1980), excepto que los labios laterales no siempre fueron triangulares como lo informaron estos autores, e incluso en algunos especímenes no eran discernibles (Figura 1c). Por otra parte, la morfología y otras características del diseño perineal también coincidieron con lo anotado por varios autores (Chitwood, 1949; Eisenback *et al.*, 1980; López y Salazar, 1978; López, 1984; Mulvey *et al.*, 1975). Es interesante mencionar que las puntuaciones, visibles al microscopio de luz, no lo fueron con el MER, lo que coincide con lo anotado por Mulvey *et al.*, (1975) y Eisenback *et al.*, (1980), que el denominado arco dorsal "cuadrado"

(Eisenback *et al.*, 1980) es mejor descrito por el término trapezoidal (Figuras 1d,e), como en el presente trabajo, y que hubo una gran variabilidad en cuanto a la forma del diseño perineal, tanto dentro de una misma población como dentro de poblaciones de diferente origen geográfico.

En referencia a los machos, lo encontrado en esta investigación coincide bastante con lo ilustrado por varios autores (Eisenback y Hirschmann, 1980; Jepson, 1987; Yaegashi y Okamoto, 1981), incluyendo el hecho de que algunos machos tienen labios laterales (Figuras 2c,f) y otros no y en las peculiaridades del campo lateral, las que si bien no fueron ilustradas en este trabajo, fueron observadas y fotografiadas; en este último caso sus características coinciden con lo anotado por Eisenback y Hirschmann (1980) y Whitehead (1968).

Con respecto a los J₂, los hallazgos de este trabajo son coincidentes en gran parte con lo con lo anotado e ilustrado por varios autores

(Eisenback y Hirschmann, 1979a; 1979b; Okamoto y Yaegashi, 1981), aunque es de notar que en las poblaciones costarricenses estudiadas la forma de los labios laterales fue variable pero no incluyó su desaparición, como lo encontrado por Eisenback y Hirschmann (1979b) en una población canadiense. Tampoco fueron observadas variaciones en la forma de los labios medios en las poblaciones costarricenses, como las encontradas por estos autores en esta misma población. En el caso de la población japonesa estudiada por Okamoto y Yaegashi (1981), sus fotomicrografías son tan oscuras que no permiten observar con certeza la forma de los labios laterales, aunque las demás características de la región anterior son prácticamente idénticas a las ilustradas en este trabajo.

Uno de los objetivos particulares de esta investigación fue determinar si los J_2 presentaban características morfológicas diagnósticas, que permitieran su identificación en forma precisa y confiable. Es conveniente recalcar que en este trabajo fue encontrada una gran variabilidad en cuanto a la forma de los labios laterales, tanto dentro de una misma población como entre poblaciones de diferente origen geográfico. Una situación similar ha sido informada previamente con relación a poblaciones costarricenses de *M. exigua* (López y Salazar, 1989) y *M. javanica* (Salazar y López, 1980). La situación se complica aún más si se considera la morfología de la región anterior de J_2 pertenecientes a otras especies del género presentes en Costa Rica pero que aún no han sido descritas (R. López, datos sin publicar). Dados los anteriores hechos, se concluye que es prácticamente imposible identificar a *M. hapla* y otras especies de este género presentes en Costa Rica con sólo estudiar la morfología de los J_2 .

RESUMEN

La morfología de hembras, machos y segundos estados juveniles (J_2) de 6 poblaciones de *Meloidogyne hapla*, colectadas en diferentes localidades de Costa Rica, fue estudiada con la ayuda del microscopio electrónico de rastreo. En todos los casos coincide con la literatura anterior. En las hembras el disco labial es rectangular, tiene el prestoma ovalado o redondeado en su centro, rodeado por 6 sensilas labiales internas y está fusionado con los asimétricos labios medios para

formar el casco cefálico. Los labios laterales son triangulares, redondeados o están ausentes. Los diseños perineales son redondeados, ovalados o comprimidos dorsoventralmente y tienen un bajo arco dorsal, que puede ser redondeado, trapezoidal o casi indistinguible; las estrías son finas, continuas, lisas o levemente onduladas, muy cercanas entre sí. En algunos especímenes las estrías dorsales y ventrales se extienden lateralmente hasta formar alas en uno o en ambos lados del diseño. En los machos la región cefálica es lisa y tiene un solo anillo. El redondeado u ovalado disco labial está fusionado con los labios medios, tiene bordes laterales rectos o ligeramente redondeados y tiene en su centro un prestoma rectangular u ovalado, con el estoma en forma de rendija hundida dentro de éste. El prestoma está rodeado por 6 sensilas labiales internas. Algunos especímenes tienen labios laterales trapezoidales. En los J_2 la región cefálica es lisa y tiene un solo anillo. El disco labial puede ser redondeado o rectangular y tiene bordes laterales rectos o levemente redondeados. El prestoma es redondeado, está rodeado por 6 sensilas labiales internas y se localiza en el centro del disco labial; este último está fusionado con los labios medios y juntos forman el casco cefálico con forma de corbatín. Los pequeños labios laterales pueden ser triangulares o redondeados. Es prácticamente imposible identificar *M. hapla* con sólo estudiar la morfología de los J_2 .

AGRADECIMIENTO

El autor agradece la ayuda técnica del Sr. Justo Azofeifa, el Lic. Hernán Vélchez, el Sr. Miguel Quesada y la financiación de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

LITERATURA CITADA

- CHITWOOD, B.G. 1949. Root-knot nematodes. I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 16:90-104.
- EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1979a. Morphological comparison of second-stage juveniles of *Meloidogyne* species (root-knot nematodes) by scanning electron microscopy. Scanning Electron Microscopy III:223-230.

- EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1979b. Morphological comparison of second-stage juveniles of six populations of *Meloidogyne hapla* by SEM. *Journal of Nematology* 11(1):15-16.
- EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* males by scanning electron microscopy. *Journal of Nematology* 12(1):23-32.
- EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. *Journal of Nematology* 12(4):300-313.
- FRANKLIN, M.T. 1979. Economic importance of *Meloidogyne* in temperate climates. In *Root-knot nematodes (Meloidogyne species): systematics, biology and control*. Ed. by F. Lamberti and C.E. Taylor. New York, Academic Press. p. 331-339.
- JERSON, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Aberystwyth, U.K., Commonwealth Agricultural Bureau International, Cambrian News. 265 p.
- LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica. *Turrialba* 34(4):445-458.
- LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1978. Morfometría y algunos hospedantes de *Meloidogyne hapla* en la Cordillera Volcánica Central de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 2(1):29-38.
- LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1989. Microscopía electrónica de rastreo de varias poblaciones del nematodo nodulador del café *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae). *Turrialba* 39(3):299-304.
- LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1990. Microscopía electrónica de rastreo de varias poblaciones de *Meloidogyne javanica* (Nemata: Heteroderidae). *Agronomía Costarricense* 14(2).
- MULVEY, R.H.; JOHNSON, P.W.; TOWNSHEND, J.L.; POTTER, J.W. 1975. Morphology of the perineal pattern of the root-knot nematodes *Meloidogyne hapla* and *M. incognita*. *Canadian Journal of Zoology* 53(4):370-373.
- OKAMOTO, K.; YAEGASHI, T. 1981. Observations of six *Meloidogyne* species by scanning electron microscopy. 1. In face views of second stage larvae. *Japanese Journal of Nematology* 10:35-42 (en japonés).
- SALAZAR, L.; LOPEZ, R. 1980. Caracterización morfológica y ámbito de hospedantes diferenciales de diez poblaciones de *Meloidogyne* spp. de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 4(1):21-31.
- TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh, North Carolina, North Carolina State University Graphics, Department of Plant Pathology. 111 p.
- WHITEHEAD, A.G. 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. *Transactions of the Zoological Society of London* 31:263-401.
- YAEGASHI, T.; OKAMOTO, K. 1981. Observations of six *Meloidogyne* species by scanning electron microscopy. 2. In face views of males. *Japanese Journal of Nematology* 10:43-51 (en japonés).