

OBSERVACIONES SOBRE LA MORFOLOGIA DE *Meloidogyne incognita* CON EL MICROSCOPIO ELECTRONICO DE RASTREO^{1/}*

Róger López **
Luis Salazar **
Justo Azofeifa **

ABSTRACT

Observations on the morphology of *Meloidogyne incognita* with the scanning electron microscope. The morphology of females, males and second-stage juveniles (J₂) of sixteen populations of the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*, was studied with the help of the scanning electron microscope. In females the labial disc is rectangular, has two bumps on its ventral side, a rounded or hexagonal prestoma surrounded by six inner labial sensilla on its center, and is fused to the medial lips, or separated by a striae. The medial lips often bear a small indentation on its center; in a few specimens each medial lip also has two cephalic sensilla as small, rounded depressions on the cuticle. The cephalic cap, formed by the labial disc and the medial lips, is dumbbell-shaped. Lateral lips are prominent and fused to the cephalic region, which has a single annule. The perineal patterns are pyriform, with a trapezoidal and high dorsal arch. They are formed by relatively thick, smooth, slightly wavy or zigzag striae. In some specimens a few striae fork near the lateral lines, but distinct lateral incisions are not present. In males the large, rounded labial disc is raised over the crescentic medial lips, and has an oval or hexagonal prestoma surrounded by six inner labial sensilla on its center. In some males there is a central cavity while it is absent in others. Trapezoidal lateral lips are present in some males, also. The cephalic region can be smooth or have from one to three incomplete annulations located at different levels. The J₂ have a rounded labial disc fused to the medial lips to form a dumbbell-shaped cephalic cap. The oval or rounded prestoma is surrounded by six inner labial sensilla and located on the center of the labial disc. Lateral lips are small and can be triangular or rounded. The cephalic region bears from one to three incomplete strations located at different levels.

INTRODUCCION

Los nematodos formadores de nódulos radiculares *Meloidogyne* spp. (Nemata: Heteroderidae) son los de mayor importancia económica en la agricultura costarricense. Dentro de las especies presentes en el país destaca *M. incognita* (Chitwood, 1949; Kofoid y White, 1919) por ser predominante en

muchos cultivos, tener una amplia distribución geográfica y causar cuantiosas pérdidas (López, 1984; López y Azofeifa, 1981; Perlaza *et al.*, 1979). Lo anterior, aunado a sus altas densidades poblacionales, frecuentemente justifican la aplicación de tácticas de combate para su manejo. Algunas de esas tácticas, como la rotación de cultivos, la siembra de cultivares resistentes y el uso de antagonistas biológicos, requieren una identificación precisa de la especie de nematodo a combatir para que su aplicación sea exitosa (Taylor y Sasser, 1978). El microscopio electrónico de rastreo (MER), por su gran profundidad de campo, poder de magnificación y versatilidad de movimientos de la plataforma en que son puestos los

1/ Recibido para publicación el 24 de enero de 1991.
* 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.

especímenes para su observación, se ha convertido en una notable herramienta para el estudio de la morfología de estos parásitos (Hirschmann, 1983). Los estudios con el MER han permitido encontrar características morfológicas que facilitan la identificación de especies de este género (Eisenback y Hirschmann, 1979; 1980; Eisenback *et al.*, 1980).

Basados en estos hechos y ante la carencia de información local sobre el tema, se consideró pertinente llevar a cabo un estudio morfológico de varias poblaciones de *M. incognita*, colectadas en diferentes huéspedes y localidades de Costa Rica, con el fin de definir características que permitan su identificación en forma precisa y confiable.

MATERIALES Y METODOS

Dieciséis poblaciones de *M. incognita*, colectadas en diferentes huéspedes y localidades de Costa Rica (Cuadro 1) fueron estudiadas con el MER. Estas poblaciones fueron, en su mayoría, mantenidas y reproducidas en tomate (*Lycopersicon esculentum*) bajo condiciones de invernadero. Hembras, machos y segundos estados juveniles (J_2) de estas poblaciones fueron procesadas y estudiadas con el MER, de acuerdo con técnicas descritas en un trabajo previo (López y Salazar, 1990). La terminología propuesta por varios autores (Eisenback y Hirschmann, 1979; 1980; Eisenback *et al.*, 1980) fue utilizada para describir la morfología de los especímenes estudiados.

RESULTADOS

En la Figura 1 se ilustra la forma de la porción frontal y del diseño perineal de las hembras. La región labial presenta un prestoma ovalado (Figura 1a) o hexagonal (Figura 1b) orientado dorso-ventralmente y localizado en el centro del disco labial rectangular; este último, tiene bordes laterales rectos, 2 pequeñas protuberancias en su parte ventral (Figura 1a-c), está levemente elevado en su parte central y fusionado con los labios medios (Figura 1a,b), o separado mediante una estría (Figura 1c). Seis sensilas labiales internas, en forma de pequeños poros redondos, rodean al prestoma y abren dentro del mismo (Figura 1a,b). Las aberturas anfidales tienen forma de rendija y están colocadas debajo de los bordes laterales del

Cuadro 1. Localidades y huéspedes en que fueron colectadas 16 poblaciones de *Meloidogyne incognita* estudiadas con el microscopio electrónico de rastreo.

Localidad	Huésped
La Cuesta, Corredores	<i>Theobroma cacao</i>
Guápiles, Pococí	<i>Zingiber officinale</i>
Tapezco, Alfaro Ruiz	<i>Beta vulgaris</i>
San Isidro, Grecia	<i>Impatiens</i> sp.
San Rafael, Escazú	<i>Ficus carica</i>
Canaán, Pérez Zeledón	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>
Río Frío, Sarapiquí	<i>Musa</i> AAA
Tapantí, Paraíso	<i>Eryngium goetidum</i>
Esterillos, Parrita	<i>Uniola pittieri</i>
Matapalo, Quepos	<i>Uniola pittieri</i>
Cariari, Pococí	<i>Discorea alata</i>
Juntas de Pacuar, Pérez Zel.	<i>Saccharum officinarum</i>
Ujarrás, Paraíso	<i>Impatiens</i> sp.
Estrada, Matina	<i>Musa</i> AAB
Gamalotillo, Puriscal	<i>Nicotiana tabacum</i>
Westfalia, Limón	malezas no identificadas

disco labial. Los labios medios son más anchos que el disco labial y en conjunto con éste, forman el casco cefálico con forma de corbatín. Sus bordes laterales son redondeados y con frecuencia uno o ambos presentan una leve indentación en su porción media, que los divide en 2 (Figura 1a,b). En unos pocos especímenes fueron discernibles sensilas cefálicas, en forma de pequeñas depresiones redondeadas cerca de los bordes (Figura 1c). Los labios laterales son prominentes y están fusionados con la región cefálica; ésta tiene un solo anillo, surcado por cortas incisuras longitudinales (Figura 1a-c). Los diseños perineales generalmente tienen forma de pera (Figura 1d-g) o pueden ser redondeados (Figura 1h,i), tienen un arco dorsal alto y trapezoidal y están formados por estrías relativamente gruesas, lisas, levemente onduladas o en forma de zig zag (Figura 1d-i). En algunos especímenes las estrías se interrumpen o reducen en grosor cerca de los campos laterales, aunque sin formar verdaderas incisuras laterales; esta situación se puede presentar en uno o en ambos lados del diseño (Figura 1d-f). Además, algunos presentan estrías cortas, que se extienden lateralmente a partir de los bordes de la abertura vulval, la que tiene forma de rendija alargada, orientada transversalmente en el centro del diseño.

En la Figura 2 se ilustra la morfología de la porción anterior del cuerpo de los machos, la que luce aguzada, particularmente en vista lateral

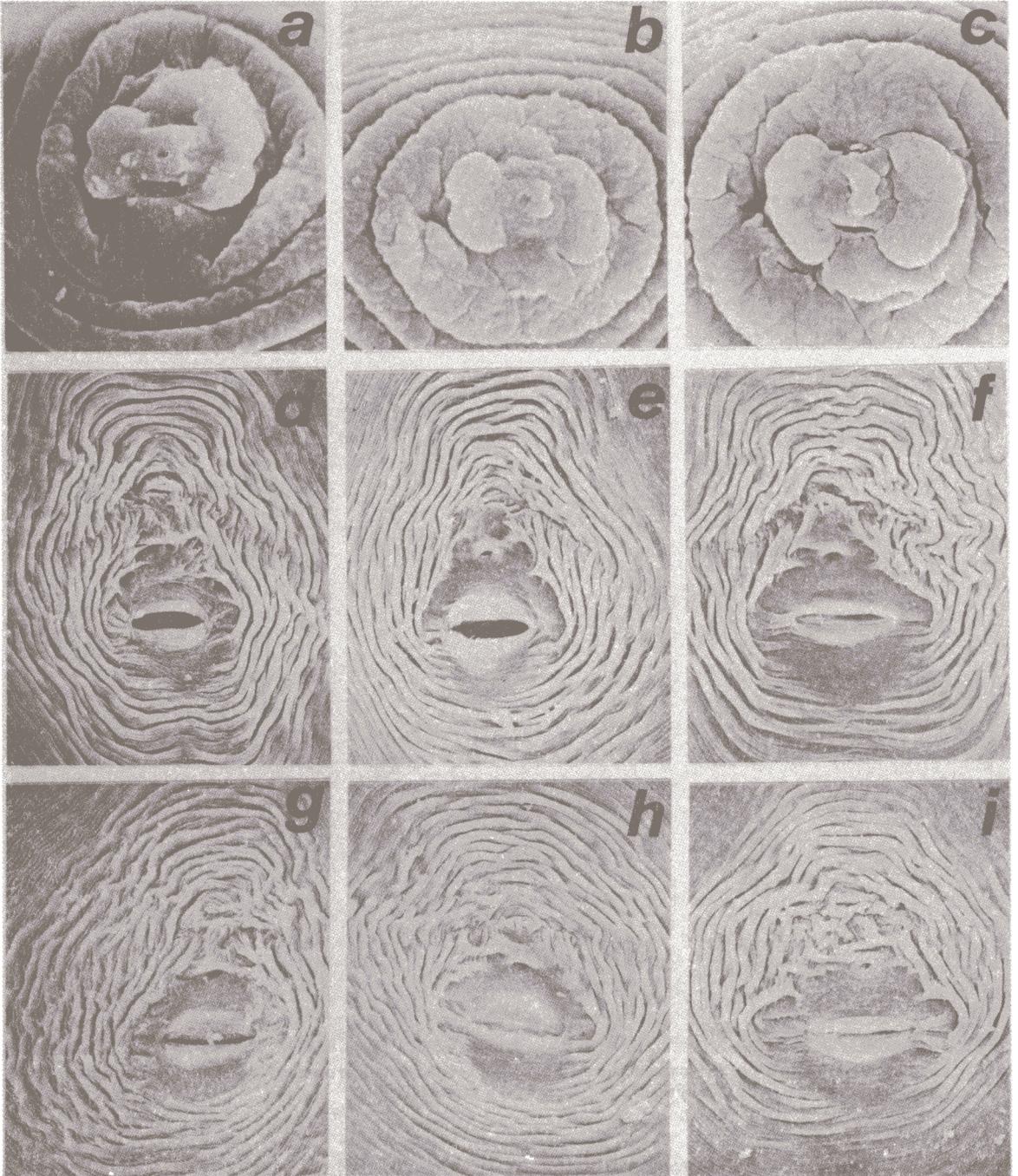


Fig. 1. Fotomicrografías de la porción frontal (a-c) y diseños perineales (d-) de hembras de *Meloidogyne incognita*, provenientes de Tapezco (a,c), Esterillos (b,e), Canaán (d), Ujarrás (j), San Isidro (g), Cariari (h) y Río Frío (i).

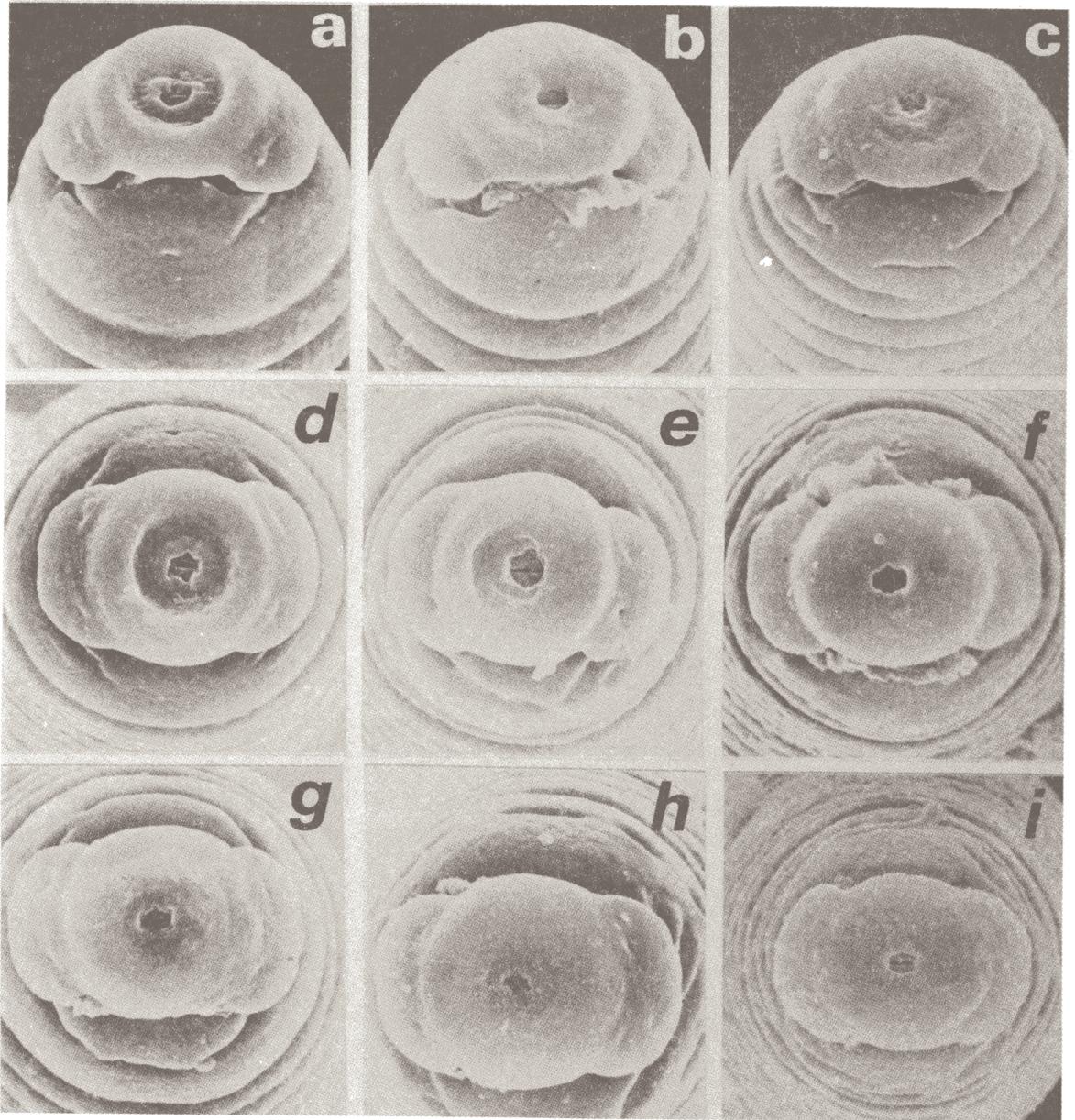


Fig. 2. Fotomicrografías de la porción anterior (a-c vista lateral; d-i vista frontal) de machos de *Meloidogyne incognita*, provenientes de Canaán (a,c,d,g), Río Frío (b,e,f), Tapezco (h) y Tapantí (i).

(Figura 2a-c). En vista frontal la región labial se caracteriza por tener un gran disco labial, redondeado y elevado sobre los labios medios (Figura 2). En algunos machos la parte central del disco labial está hundida y forma una cavidad redondeada, de diámetro variable (Figura 2a,d,e), aunque frecuentemente la cavidad es muy leve o no es discernible

(Figura 2b,c,f-i). El prestoma es ovalado (Figura 2a-d,f,g,i) o hexagonal (Figura 2e,h), está orientado dorso-ventralmente y rodeado por 6 sensilas labiales internas en forma de poros redondeados que abren en su interior. El estoma aparece con una rendija hundida, orientada dorso-ventralmente dentro del prestoma; los labios medios son hemisféricos,

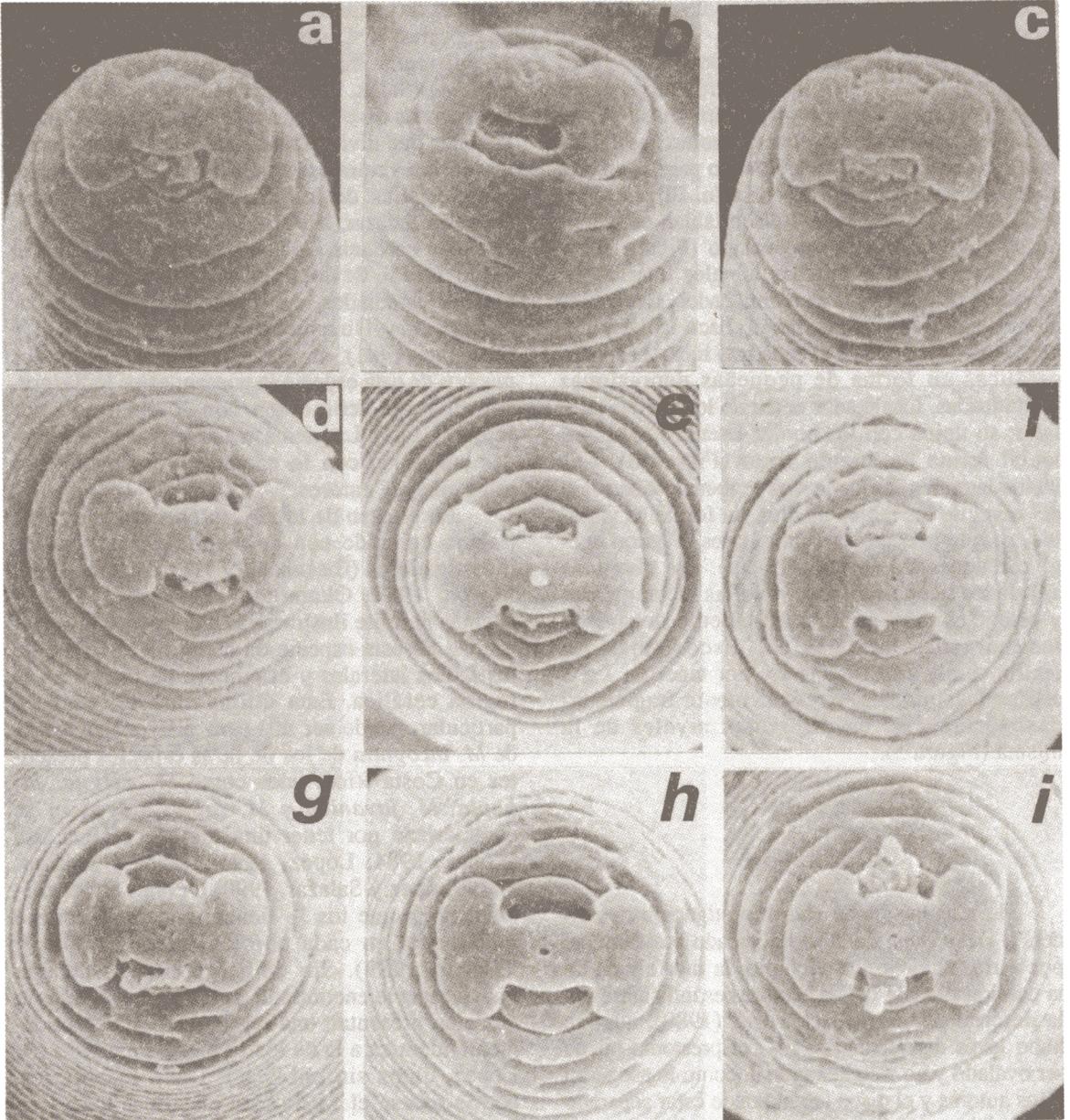


Fig. 3. Fotomicrografías de la región anterior (a-c vista lateral; d-i vista frontal) de segundos estados juveniles de *Meloidogyne incognita*, provenientes de La Cuesta (a,d), Guápiles (b,h), Tapezco (c,e), San Isidro (f), San Rafael (g) y Canaán (i).

tienen un tamaño menor que el disco labial, con el que están fusionados y forman el casco cefálico; este último es de un diámetro levemente inferior al de la región cefálica (Figura 2). En algunos machos son discernibles labios laterales, de forma trapezoidal y delimitados por cortas anulaciones que se proyectan oblicuamente sobre la región

cefálica a partir de los labios medios (Figura 2a,c,d,g-i). La región cefálica puede ser lisa, con un solo anillo, o puede tener de 1 a 3 anulaciones incompletas, cortas, en diferentes niveles de la misma (Figura 2c,e,g-i). Las sensilas cefálicas son visibles en algunos ejemplares en forma de 2 depresiones redondeadas y alargadas, localizadas

cerca de la unión de cada labio medio con el disco labial (Figura 2e,g,h).

La parte anterior del cuerpo de los J_2 es aguzada (Figura 3a-c). En vista frontal la región labial se caracteriza por tener un disco labial redondeado, levemente elevado sobre los labios medios, con los que está fusionado para formar el casco labial con forma de corbatín. El prestoma, localizado en el centro del disco labial, es redondeado (Figura 3a-c,e-i) u ovalado (Figura 3d) y está rodeado por 6 sensilas labiales internas en forma de pequeños poros redondeados. Los labios medios son más anchos que el disco labial y tienen bordes redondeados; cada uno tiene 2 sensilas cefálicas en forma de pequeñas depresiones redondeadas, localizadas cerca de los bordes laterales; su unión con los bordes laterales del disco labial forma un ángulo recto (Figura 3). Los labios laterales son pequeños y apenas sobresalen del nivel de los labios medios, su forma es variable, ya que pueden ser triangulares (Figura 3a,c,g) o redondeados (Figura 3b,h,i). Las aberturas anfidiales tienen forma de rendijas rectangulares y están localizadas inmediatamente debajo de los márgenes laterales del disco labial. La región cefálica se caracteriza por tener de 1 a 3 estrías incompletas, frecuentemente fragmentadas, localizadas en diferentes niveles de la misma (Figura 3).

DISCUSION

Los hallazgos de esta investigación coinciden, a *grosso modo*, con lo informado previamente por varios autores. Por ejemplo, la morfología de la porción anterior de las hembras es muy similar a la descrita por Eisenback *et al.* (1980), aunque hubo leves discrepancias, v.g., el prestoma puede ser ovalado y no sólo hexagonal, como lo aseguran estos autores y el disco labial puede estar separado de los labios medios por una estría. En cuanto a los diseños perineales, su forma general y ciertas peculiaridades coinciden con lo informado previamente por varios autores, tanto para poblaciones costarricenses de esta especie (Hidalgo y López, 1980; López, 1984; Salazar y López, 1980) como para otras de diferente origen geográfico (Jepson, 1987; Mulvey *et al.*, 1975; Whitehead, 1968). Es conveniente mencionar que la interrupción de estrías en el área correspondiente a los campos

laterales ha causado confusión en la identificación de especies; en Costa Rica algunas poblaciones de *M. incognita* han sido identificadas como *M. javanica* (Salas, 1975), cuando en realidad lo que exhiben sus diseños perineales no son las 2 líneas laterales que dividen claramente las estrías dorsales de las ventrales; esta última es la principal característica de los diseños de *M. javanica* (López y Salazar, 1990).

La carencia de una cavidad central en el disco labial de muchos de los especímenes machos estudiados, contradice lo informado por Eisenback y Hirschmann' (1980) y Yaegashi y Okamoto (1981), en el sentido de que todos los machos de esta especie la poseen; estos hallazgos, sin embargo, coinciden con lo ilustrado por Jepson (1987). Las demás características observadas coinciden con lo anotado previamente por estos mismos autores.

En el caso de los J_2 , lo observado en este trabajo coincide con lo encontrado por varios investigadores (Eisenback y Hirschmann, 1980; Jepson, 1987; Okamoto y Yaegashi, 1981) y además permite ilustrar más claramente la variabilidad de esta especie en cuanto a la forma de los labios laterales y el número de estrías en la región cefálica. Esta última característica en particular, puede ser útil para diferenciar los J_2 de *M. incognita* de los de otras especies presentes en Costa Rica, tales como *M. exigua*, *M. hapla*, *M. javanica* y *M. salasi*, cuyos J_2 se caracterizan por tener una región cefálica lisa (López, 1984; López, 1991; López y Salazar, 1989; López y Salazar, 1990) o como *M. arabicida*, en la que los J_2 tienen una estría corta e incompleta en cada porción lateral (López y Salazar, 1989). Sin embargo, los J_2 de una nueva especie encontrada en Guanacaste, aún no descrita, presentan una región cefálica prácticamente idéntica a la de los J_2 de *M. incognita* (R. López, datos sin publicar). Dado lo anterior, podría usarse el MER para clasificar los J_2 en "grupos" de especies, v.g., aquellas en las que los J_2 tienen una región cefálica lisa *versus* las que tienen J_2 con estrías incompletas en uno o varios niveles de la misma. Lo anterior ayudaría a identificar diferentes poblaciones de estos nematodos y evitaría confusiones, al permitir una separación inicial para luego, con base en otros criterios morfológicos, precisar de una manera confiable la o las especies presentes en estas poblaciones.



RESUMEN

Con el microscopio electrónico de rastreo (MER) se estudió la morfología de 16 poblaciones costarricenses de *Meloidogyne incognita*. En las hembras el disco labial es rectangular, tiene 2 protuberancias en su lado ventral, un prestoma hexagonal o redondeado rodeado por 6 sensilas labiales internas en su centro y está fusionado con los labios medios o separado por una estría. Los labios medios a menudo tienen una pequeña muesca en su parte central. En unos pocos especímenes fueron observadas 2 sensilas cefálicas en forma de pequeñas depresiones redondeadas en cada labio medio. El casco cefálico, formado por el disco labial y los labios medios, tiene forma de corbatín. Los labios laterales son prominentes y están fusionados con la región cefálica, la que tiene un solo anillo. Los diseños perineales son piriformes, tienen un arco dorsal trapezoidal alto y están constituidos por estrías relativamente gruesas, lisas y ligeramente onduladas o en zig zag. En algunos ejemplares las estrías se reducen en grosor o interrumpen cerca de los campos laterales pero sin que haya incisuras laterales verdaderas. En los machos el disco labial es grande y redondeado, y tiene un prestoma ovalado o hexagonal en su centro, rodeado por 6 sensilas labiales internas. En algunos especímenes hay una cavidad en el centro del disco labial pero en la mayoría está ausente. Algunos machos presentan labios laterales trapezoidales. La región cefálica puede ser lisa o tener de 1 a 3 anulaciones incompletas en diferentes niveles de la misma. Los segundos estados juveniles (J_2) tienen un disco labial redondeado, fusionado con los labios medios y junto con éstos forman el casco cefálico con forma de corbatín. El prestoma es ovalado o redondeado y está rodeado por 6 sensilas labiales internas en el centro del disco labial. Los labios laterales son pequeños y pueden tener forma triangular o redondeada. La región cefálica tiene de 1 a 3 estrías incompletas, frecuentemente fragmentadas, en diferentes niveles de la misma.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen la ayuda técnica del Lic. Hernán Vilchez, el Lic. Miguel Quesada, las facilidades dadas por la Unidad de Microscopía electrónica y la financiación de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

LITERATURA CITADA

- EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1979. 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. 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.
- HIDALGO, L.; LOPEZ, R. 1980. Caracterización morfométrica de cuatro poblaciones de *Meloidogyne incognita* de Costa Rica. *Turrialba* 30 (2): 129-135.
- HIRSCHMANN, H. 1983. Scanning electron microscopy as a tool in nematode taxonomy. In *Concepts in nematode systematics*. A. R. Stone, H. M. Platt y L. F. Khalil, eds. Academic Press, New York. p. 95-111.
- JEPSON, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Commonwealth Agricultural Bureau International, U.K., Cambrian News Ltd., Aberystwyth, U.K. 265 p.
- LOPEZ, R. 1984. *Meloidogyne salasi* sp. n. (Nematoda: Meloidogynidae), a new parasite of rice (*Oryza sativa* L.) from Costa Rica and Panama. *Turrialba* 34 (3): 27-286.
- LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica. *Turrialba* 34 (4): 445-458.
- LOPEZ, R. 1991. Microscopía electrónica de rastreo de algunas poblaciones de *Meloidogyne hapla* (Nemata: Heteroderidae) encontradas en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 15: (en prensa).
- LOPEZ, R.; AZOFEIFA, J. 1981. Reconocimiento de nematodos fitoparásitos asociados con hortalizas en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 5 (1/2): 29-35.
- LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1989. Microscopía electrónica de rastreo de varias poblaciones del nematodo nodulador del café *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae). *Turrialba* 39 (3): 293-304.
- LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1989. *Meloidogyne arabicida* sp. n. (Nemata: Heteroderidae) nativo de Costa Rica: un nuevo y severo patógeno del café. *Turrialba* 39 (3): 313-323.

- LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1990. Microscopía electrónica de rastreo de varias poblaciones de *Meloidogyne javanica* (Nemata: Heteroderidae). *Agronomía Costarricense* 14 (1):45-54.
- MULVEY, R.H.; JHONSON, 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* 3 (4): 370-373.
- OKAMOTO, K.; YAEGASHI, T. 1981. Observations of six *Meloidogyne* species by scanning electron microscopy. 1. En face views of second stage larvae. *Japanese Journal of Nematology* 10: 35-42 (en japonés).
- PERLAZA, F.; LOPEZ, R.; VARGAS, E. 1979. Combate químico de *Meloidogyne* spp. y *Alternaria* sp. en zanahoria (*Daucus carota* L.). *Turrialba* 29 (4): 263-267.
- SALAS, L.A. 1975. La aparente tendencia a una distribución geográfica de algunas especies de nematodos fitoparásitos en Costa Rica. *Fitopatología* 10: 69 (Abstr.).
- 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). Department of Plant Pathology, North Carolina State University and United States Agency For International Development. Raleigh, North Carolina. North Carolina State University Graphics, 111p.
- 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. En face views of males. *Japanese Journal of Nematology* 10: 43-51 (en japonés).