

IDENTIFICACION DE ESPECIES DEL NEMATODO DE QUISTE DE LA PAPA
Globodera spp., (Mulvey y Stone, 1976),
POR MEDIO DE LA CROMOGENESIS DE LAS HEMBRAS. 1

AUTORES ERIC CANDANEDO LAY *
 ROBERTO RODRIGUEZ **
 RICAUTER RODRIGUEZ ***
 FRANKLIN ATENCIO ****

Se intentó determinar la (s) especies del Nemátodo de quiste de la papa, Globodera spp., presentes en una finca de la comunidad de Cerro Punta, distrito de Bugaba, Provincia de Chiriquí, República de Panamá. Se realizaron observaciones de la secuencia de la coloración de las hembras del nemátodo, adheridas a las raíces de las plantas de papa, sembradas en suelo naturalmente infestado con el parásito. Se usaron las variedades Alpha y Red Pontiac. Los resultados indican la posible existencia de más de una raza de G. rostochiensis y bajos niveles de población de G. pallida.

El nemátodo de quiste de la papa, Globodera spp., constituye uno de los factores principales en la reducción significativa de los rendimientos del cultivo y en sus altos costos de producción, dada la necesidad que tiene el productor de aplicar nematicidas en un intento por mantener bajas las poblaciones del nemátodo.

- 1 Tesis de la Facultad de Agronomía, para optar el grado de Licenciado en Ing. Agronómica. Centro Regional Universitario, David, Chiriquí.
- * M.S.C., Nematólogo, Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (I.D.I.A.P.).
- ** Ing. Agrónomo, Especialista en el Cultivo de la papa, Campo Experimental, Cerro Punta, Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (I.D.I.A.P.).
- *** Estudiante graduando, Facultad de Agronomía, Centro Regional Universitario de David, Chiriquí.
- **** Agrónomo, Campo Experimental de Cerro Punta, Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (I.D.I.A.P.).

Desde 1967, cuando se descubrió su presencia en los campos de papa, hasta la fecha, se han realizado investigaciones encaminadas a lograr un combate efectivo de esta plaga.

Estas incluyen la evaluación de nematocidas, evaluación de variedades de papa para detectar resistencia o tolerancia al nemátodo, el control integrado y el uso de clones diferenciales de papa en intento por determinar la especie del nemátodo presente en Panamá.

Hasta 1977 se tenía evidencia de que en el área de Cerro Punta predominaba la raza A de *Globodera rostochiensis*. Sin embargo, en investigaciones con clones diferenciales realizadas ese año, se encontró alguna evidencia que indica la posibilidad de una nueva raza (Tarté y Rodríguez, 1978) o de la especie *Globodera pallida*.

La importancia de determinar la (s) especies del nemátodo de quiste de la papa presentes en Panamá, radica en el hecho de que cada una de ellas ejerce un efecto patogénico diferente en el cultivo y pueden actuar juntas o por separado, en un mismo campo. Actualmente, se cuenta con variedades de papa resistentes (Aminca, Ukama, Veenster, Cardinal y Amigo) y tolerantes (Alpha), a las poblaciones de *G. rostochiensis*.

De comprobarse la presencia de otra especie del nemátodo, habría que evaluar nuevas variedades con resistencia o tolerancia a ambas especies, para ser usadas en aquellos campos en que éstas se encuentren actuando juntas.

La presencia del nemátodo de quiste en los campos de papa en Panamá fue descubierta en 1967 y reportada por Tarté (1968). Para ese entonces, se le consideraba como perteneciente a la raza A de la especie *Heterodera rostochiensis*, designada por Wollenweber (1923). Skarbilovich (1959) dividió el género en dos sub-géneros: *Globodera* y *Heterodera*, de especies con forma de pera y limón, respectivamente. Guile (1970) informó de diferentes razas patogénicas y diferencias en la secuencia de coloración de las hembras de estas razas. Básicamente, se han identificado dos tipos de secuencia de coloración de la hembra: La que cuenta con una fase de coloración amarilla, y otra que carece de esta fase, o sea, la hembra permanece blanca o crema durante todo su ciclo de vida, hasta convertirse en quiste. Se ha demostrado que cruzamientos entre especies con y sin fase amarilla producen progenie estéril (Parrot, 1972). En adición, las diferencias morfológicas encontradas entre larvas, hembras y machos de especímenes con ambos tipos de cromogénesis a la identificación de dos especies: *H. rostochiensis*, de fase amarilla larga, y una especie nueva, de fase blanca o crema larga, la cual fue denominada *H. pallida* (Stone, 1973). En 1976 el sub-género *Globodera* fue elevado a la categoría de género separándolo del género *Heterodera* dentro del cual estaba ubicado (Mulvey y Stone, 1976). De este modo, el nemátodo de quiste de la papa y sus dos especies reconocidas (*rostochiensis* y *pallida*) pasaron a formar parte del nuevo género.

La importancia de combatir el nemátodo de quiste de la papa, radica en el daño que causa al cultivo. Según Brown (1969), por cada 20 huevos por gramo de suelo, ocurre una pérdida de 2.1 toneladas por hectárea, pero aunque las pérdidas no excedan usualmente las 25 toneladas, pueden pasar de las 40 en suelos altamente infestados, que contengan de 750 huevos por gramo de suelo. Los principales métodos de combate de esta plaga son: El combate químico, mediante el uso de nematicidas (Franco, 1968; Whitehead, 1973 y col., 1973; Tarté y Rodríguez, 1976; Trudgill y col., 1978); la siembra de variedades con tolerancia o resistencia al nemátodo y con buenas características agronómicas (Ellenby, 1952; Mai y Peterson, 1952; Dunnet, 1961; Howard y col., 1970; Canto y de Scurrah, 1977; Franco y Evans, 1978; y el control que se lleva a cabo combinando varios métodos de combate, en uno o más ciclos de cultivo, permitiendo un manejo efectivo y económico de las poblaciones del nemátodo de quiste (Jones, 1970; Nollen y Mulder, 1970; Tarté y Rodríguez, 1976, 1978).

La identificación de especies de *Globodera* spp., se lleva a cabo, principalmente, por morfometría, observando la respuesta de clones y hospederos diferenciales a la presencia del nemátodo y estudiando la cromogénesis o secuencia de los cambios de coloración por los que atraviesa el nemátodo en su desarrollo, desde hembra joven hasta que muere para convertirse en quiste. La morfometría se practica en larvas (2° estadio), en quistes (costes perineales) y en machos. Las medidas más frecuentes en larvas son el largo del estilete, la distancia comprendida entre la punta de la cabeza y el poro excretor y el largo de la cola. Otras medidas usadas son: Largo del cuerpo, distancia de la válvula del bulbo medio al poro excretor y forma de los nódulos o protuberancias del estilete. En los machos, el criterio principal es la longitud de la espícula, aunque éstos no suelen emplearse con mucha frecuencia en estudios de esta índole. En los cortes perineales de los quistes se trata de cortar la pequeña sección posterior que contiene el ano y la vulva de las hembras convertidas en quistes. La morfometría del patrón perineal incluye la forma de la fenestra (redonda u oval), la distancia de la fenestra al ano, el largo de la fenestra, la razón o cociente de Granek y el número de líneas que hay entre la fenestra y el ano (Trudgill y col., 1970; Webley, 1970; Green, 1971; Canto, 1975; Canto y Scurrah, 1975; Evans y Franco, 1977).

Los estudios de la respuesta de clones u hospederos diferenciales a la presencia de *Globodera* spp., se originaron con el descubrimiento de la resistencia, aparentemente poligénica o debido a un complejo de genes mayores y menores, del diploide *solanum vernei* a *H. rostochiensis* y al descubrimiento de clones de papa resistentes a este parásito (Ellenby, 1952, 1954; Dunnet, 1960; Plaisted y col., 1962; Huijsman, 1974). Desde entonces se han desarrollado en Europa y América diferentes esquemas de clones para identificar razas o patotipos de nemátodo. Los más populares en Europa son el Británico y el Holandés así como el desarrollado por Kort y colaboradores (1977). En América, el más usado es el de Canto y de Scurrah quienes realizaron estudios de

determinación de especies, razas y variabilidad del nemátodo de quiste en los Andes (Canto, 1975; Canto y de Scurrah, 1977).

Guile (1966, 1970), fue el primero en notar que algunas hembras pasaban por la fase de coloración amarilla, y otras carecían de ésta, pero fue Stone (1973) quien reconoció como pertenecientes a una especie nueva, *H. pallida*, las que permanecían cremosas o blancas, durante su desarrollo, hasta convertirse en quiste. Otros investigadores estudiaron la cromogénesis de algunas poblaciones andinas y observaron la predominancia de *H. pallida* (*G. pallida*) sobre *H. rostochiensis* (*G. rostochiensis*), que solamente se encontró en el Sur de Perú (Canto, 1975; Canto y de Scurrah, 1976).

Estos hechos han motivado la presente investigación que tiene por objeto estudiar la secuencia de los cambios de coloración de las hembras de una población del nemátodo de quiste de la papa en Cerro Punta, con miras a determinar la presencia de una o ambas especies en la misma. Sin embargo, aunque las diferencias que existen en la cromogénesis de las hembras de *G. rostochiensis* y *G. pallida* permiten su separación, este método no debe emplearse como único criterio de identificación, sino como un indicador de su posible existencia. Estas observaciones tienen que ir, necesariamente, reforzadas por estudios morfométricos practicados en larvas y en quistes, así como por estudios con clones diferenciales.

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se realizó en un invernadero del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP) en el área de Cerro Punta, Distrito de Bugaba, Provincia de Chiriquí, a más de 1,800 msnm.

El experimento se llevó a cabo durante los meses de agosto a diciembre de 1977, con temperaturas promedio mínima de 11 y 16°C, respectivamente.

Con el propósito de identificar las especies del nemátodo de la papa *Globodera*, spp., mediante observaciones de la secuencia de cambios de coloración de las hembras, se llenaron 20 vasos plásticos transparentes, de 10 onzas, con suelo infestado naturalmente con quistes del nemátodo, proveniente de la Finca del señor Domingo Cruz Rubio, en Cerro Punta. Los vasos se dividieron en dos grupos de diez, en los cuales se sembró semilla de las variedades de papa Alpha y Red Pontiac, respectivamente. Los tubérculos se sembraron a razón de uno por vaso y tenían un tamaño que fluctuaba entre 28 y 35 milímetros de diámetro.

Los vasos fueron enterrados en arena para conservar una humedad adecuada en las muestras e impedir que la luz solar incidiera directamente sobre las raíces de las plantas. La siembra se efectuó el 29 de agosto de 1977 y un mes después habían brotado los tubérculos en la totalidad de las muestras de ambas variedades.

A los 48 días de siembra, en algunas muestras de ambas variedades, se hicieron visibles las hembras y se efectuaron observaciones de las fases de coloración, desde que se hacían visibles a simple vista, hasta que morían, convirtiéndose en quiste, para completar su ciclo de vida. En cada muestra se seleccionaron las diez primeras hembras visibles y se les marcó con un círculo a través del vaso de plástico, para facilitar su identificación en lecturas posteriores (FIGURA 1). Las mismas se efectuaron con una frecuencia de dos a tres días y en algunos casos, de cuatro a cinco días. Se llevó un registro que incluía la fecha de lectura, el número de identificación de la muestra (de 1 a 20) y el número de identificación de las hembras dentro de la muestra (1 a 10), además del color que presentaba la hembra en ese momento. Una lectura consistió en la observación de la coloración de cada una de las hembras, de las 20 muestras, que alcanzarían un total de 200, cuando todas se hicieran visibles (CUADRO 1). Las lecturas de coloración se prolongaron por 110 días, al cabo de los cuales todas las hembras se habían convertido en quiste.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de esta investigación se resumen en los CUADROS 2 hasta el 5.

En el CUADRO 2 se observa que de un total de 186 hembras que llegaron a quiste, el 96.2 por ciento pasaron por la fase de coloración amarilla, y el 3.8 por ciento carecieron de ella.

Según trabajos previos, las hembras con fase amarilla, pertenecen a la especie *G. rostochiensis*, mientras las que carecen de ella, son de la especie *G. pallida* (Škarbilovich, 1959; Guile, 1966; Green, 1971; Canto, 1975; Canto y de Scurrah, 1976). También se observa que en ambas variedades se produjeron hembras con y sin fase amarilla. En la muestra n°16, con la variedad Red Pontiac, no se observó la aparición de hembras adheridas a las raíces, a lo largo del experimento. Esto pudo deberse a que no habían larvas o quistes viables en el suelo de esa muestra. Algo similar ocurrió anteriormente en quistes de Cerro Punta, que contenían huevos vacíos, debido a que las larvas del segundo estadio habían eclosionado y abandonado los quistes, al encontrar condiciones ambientales favorables.

A las hembras 4, 7, 9, y 10 de las muestras 4, 18, 17, y 19, respectivamente, no se les pudo seguir la secuencia de coloración porque se desprendieron de las raíces antes de completar su ciclo de vida.

El CUADRO 3 revela que el número de días que cada hembra tomó para completar su ciclo de vida y convertirse en quiste, fue muy variable dentro de las variedades, no así, entre las variedades. En la variedad Alpha este período varió de 10 a 63 días, concentrándose la mayoría de las hembras (58.6%), en el rango de 17 a 31 días a quiste. En la variedad Red Pontiac, fluctuó entre 5 y 61 días, aunque la mayoría de las hembras (57.5%) se convirtieron en quiste entre los 19 a 38 días. Por otro lado, el pro-

medio de días a quiste fue de 30.5 y 31.3. en Alpha y Red Pontiac, respectivamente.

Se observó que los días de duración de las diferentes fases de coloración de las hembras, también variaron dentro de las variedades, pero no entre éstas (las fases blancas, cremas y amarillas fueron de corta, mediana y larga duración).

En el CUADRO 4, aparecen las hembras con fase amarilla de corta duración (1-2 días). Con excepción de la hembra no.9 de la muestra no.4, con 61 días a quiste, el resto de las hembras tardaron entre 12 y 19 días para convertirse en quiste.

Como la identificación de las fases de coloración de las hembras fue cualitativa, es posible que una o más de las que se observaron en el CUADRO 4 carezcan, en realidad, de la fase amarilla.

El CUADRO 5, muestra las hembras que carecieron de la fase amarilla.

Se observa que estas hembras se reprodujeron en ambas variedades. La hembra no.5 de la muestra no.4, tuvo una fase blanca corta y una fase crema predominante, con un total de 47 días a quiste. La hembra no.4 de la muestra no.12, por el contrario, tuvo una fase blanca predominante y una fase crema corta, con un total de 33 días a quiste. Estas siete hembras pueden ser clasificadas como posibles pertenecientes a la especie *G. pallida*. Anteriormente, Tarté y Rodríguez (1976), encontraron reproducción del nemátodo de quiste en Cerro Punta en *Solanum Kurtzianum* y en *S. tuberosum* spp., andígena. Es sabido que la raza A del nemátodo, predominante en Cerro Punta, debe presentar una reacción negativa en *S. Kurtzianum*. Por otro lado, según el esquema de clasificación de Canto y de Scurrah (1977), todas las razas de *G. pallida*, excepto la P₂A, presentan una reacción positiva en *S. Kurtzianum* y *S. tuberosum* spp., andígena. De acuerdo a Kort y colaboradores (1977), los tres patotipos de *G. pallida* (Pa₁, Pa₂ y Pa₃) se reproducen en *S. Kurtzianum* y *S. tuberosum* spp. andígena.

Según estas consideraciones, es posible que en los campos de papa de Cerro Punta se encuentra más de una raza o patotipo de la especie *B. rostochiensis*, además de la especie *G. pallida*, a niveles poblacionales muy bajos.

ABSTRACT

An attempt was made to determine the potato cyst nematode species, *Globodera* spp., in a farm of the community of Cerro Punta district of Bugaba, Chiriquí province. It was realized by observations of the chromogenesis, or color changes, of the nematode females feeding on the roots of potato plants, planted in cyst naturally infested soil. Alpha and Red Pontiac varieties were used in this trial. Data indicate the

HF13-7

possible existence of more than one lines pathotype of *G. ros-*
tochiensis and low population levels of *G. pallida*.

BIBLIOGRAFIA

- BROWN, E.B. Assessment of the damage caused to potatoes by potato cyst eelworm, *Heterodera rostochiensis* Woll. *Annals of Applied Biology*. 63:493-502. 1969.
- CANTO, M. Variabilidad del Nemátodo del Quiste de la Papa, en la Zona Andina. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Nacional Agraria La Molina. 1975. 277 p.
- CANTO, M. y SCURRAH María M. de. Variability of potato cyst nematode (*Heterodera* spp) in the Andean region. *Nematropica* 5:20 (Abstr.), 1975.
- y Identificación de especies del nemátodo de quiste de la papa en poblaciones andinas según la secuencia de color de la hembra. *Nematropica* 6(1):1-9 1976.
- y Races of the potato cyst nematode in the potato cyst nematode in the andean region and a new system of classification. *Nematologica* 23:340-349. 1977
- DUNNETT, J.M. Potato breeders strains of root eelworms *H. rostochiensis* (Woll). *Nematologica Supplement* 2:8494. 1969
- Inheritance of resistance to potato root eelworm in a breeding line stemming from *Solanum Multidisssectum* Hawkes. Report of the Scottish Plant Breeding Station, 1961 pp. 39-46.
- ELLENBY, C. Resistance to the potato eelworm *Heterodera rostochiensis*, Woll. *Nature* 174:1016. 1952.
- Tuber forming species and varieties of the genus *Solanum* tested for resistance to the potato root eelworm, *Heterodera rostochiensis*, Wollenweber. *Euphytica* 3:195-202. 1954.
- EVANS, K. y FRANCO, J. Morphological variation in some populations of potato cyst nematodes from Europe and South America. *Nematologica* 23:417-430. 1977.
- FRANCO P.J. Control químico del nemátodo dorado, *Heterodera rostochiensis* Woll, en el cultivo de la papa. *Investigaciones Agropecuarias del Perú* 1(2):48-56. 1968.
- y EVANS K. Multiplication of some South American and European populations of potato cyst nematodes on potatoes possessing the resistance genes H₁, H₂, and H₃. *Plant Pathology* 27:1-6. 1978.

- GREEN, C.D. The morphology of the terminal area of the round-cyst nematodes, s.g. *Heterodera rostochiensis* and species. *Nematologica* 17:34-46. 1971.
- GUILLE, C.J. Cyst chromogenesis in potato cyst eelworm pathotypes. *Plant pathology* 15:125-128. 1966.
- _____ Further observations on cyst colour changes in potato cyst eelworm pathotypes. *Plant Pathology* 19:1-6. 1970.
- HOWARD H.W. COLE, CS. Further sources of resistance to *Heterodera* Y FULLER, J.M. *rostochiensis* Woll, in the antigena potatoes. *Euphytica* 19:210-216. 1970.
- HUIJSMAN, C.A. Host-plants for *heterodera rostochiensis* Woll. and the breeding for resistance. *EPPO Bulletin* 4:501-509. 1974.
- JONES F.G.W. Integrated control of the potato cyst-nematode. *Proceedings of the 5th. British Insecticides and Fungicides Conference.* (1969) 3:646-656+ 1970.
- KORT J.; ROSS H. RUMPENHORST, An international scheme for identifying and classify pathotypes H.J., Y STONE, A.R. of potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematologica* 23:333-339. 1977.
- MAI, W.F. Y Resistance of *S. balsii* and *cucrense* to the golden nematode *Heterodera rostochiensis*. *Science* PETERSON L.V. 116:224-225. 1952.
- MULVEY, R.H. Y Description of *Punctodera matadorensis* n. ge., n. STONE A.R. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from Saskatchewan with lists of species and generic diagnoses of *Globodera* (n. rank), *heterodera*, and *Sarisodera*. *Canadian Journal of Zoology* 54:772-785. 1976.
- NOLLEN H.M. Y A practical method for economic control of potato MULDER, A. cyst-nematode (*heterodera rostochiensis*). *Proceedings of the 5th. British Insecticides and Fungicides Conference* (1969) 3:671-674. 1970.
- PARROT DIANA M. Mating of *heterodera rostochiensis* pathotypes. *Annals of Applied Biology.* 71:271-273. 1972.

- PLAISTED R.L. HARRISON, M.L. Y PETERSON L.C. A genetic model to describe inheritance of resistance to the golden nematode *H. rostochiensis* Woll. found in *S. vernei*. American Potato Journal 39:418-435. 1962.
- SKARBILOVICH T.S. On the structure of the systematics of nematodes order Tylenchida Thorne, 1949. Acta Parasitologica Pol. 7:117-132. 1959.
- STONE, A.R. *Heterodera pallida* n.s.p. (Nematoda-Heteroderidae): A second species of potato cyst nematode. Nematologica 18:591-606. 1973.
- TARTE, R. First record of the occurrence of heterodera rostochiensis in Panamá. Plant Disease Reporter 52(8): 587-588. 1968.
- 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. En Investigaciones Agropecuarias 1974-1975. Facultad de Agronomía, Univ. de Panamá. 1976. pp.285-339.
- Y El nemátodo dorado de la papa, heterodera rostochiensis: nuevos datos sobre el control integrado y evidencia de la aparición de una nueva raza en Cerro Punta. En investigaciones Agropecuarias 1976-1977. Facultad de Agronomía, Univ. de Panamá. 1978. pp. 407-419.
- TRUDGILL D.L.; MACKINTOSH G.M. OSBORNE P. Y STEWART R.M. Control of potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) by nematicides and a resistant potato cultivar at four sites in Scotland. Annals Of applied Biology 88:393-399. 1978.
- PARROT DIANA M. Morphometrics of males and larvae of ten heterodera rostochiensis populations and the influence of resistant hosts. Nematologica 16:410-416. 1970.
- Y STONE A.R. A morphometric study of the three pathotypes of the potato cyst eelworm (*Heterodera rostochiensis*) recognized in Great Britain. Nematologica 16:107-112. 1970.
- WHITEHEAD A.G. Control of cyst nematodes (*Heterodera* spp) by organophosphates, oximecarbamates and soil fumigants. Annals Applied Biology 75:439-453. 1973.

TITE D.J. FRASER J.L. Control of potato cyst nematode,
Y FRENCH E.M. *heterodera rostochiensis*, in three soils by
small amounts of aldicarb, Du Pont 1410 Or
Nemacur applied to the soil at planting time.
Annals of Applied Biology 74:113-118. 1973.

WOLLWENWEBER H.W. Krankheiten und Beschadigungen der Karto-
ffel. Arbeiten Forschungsinstitutes fur
Kartoffelban.