

Microscopía Electrónica de Rastreo de Varias Poblaciones del Nematodo Nodulador del Cafeto *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae)¹

R. López*, L. Salazar*

ABSTRACT

The morphology of females, males and second-stage juveniles (J2) of five populations of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua*, from different regions of Costa Rica, was studied with a scanning electron microscope. In females, the labial disc is small and rounded, with the prestoma surrounded by inner labial sensilla on its center, and can be fused with the medial lips; the latter, along with the labial disc, form a dumbbell-shaped structure. The perineal patterns are oval or rounded, and have coarse, unbroken striae, often interrupted on the lateral sides of the perineal pattern, corresponding to the lateral fields. In males, the cephalic region is smooth and has a single annule; the labial disc is elongated, with straight lateral edges, and has the stoma on its center, sunken inside the prestoma; the latter is surrounded by six inner labial sensilla. The medial lips are wider than the labial disc and can be divided by an indentation; the lateral lips are trapezoidal and very prominent. In J2, the labial disc and the medial lips form a dumbbell-shaped structure; the lateral lips can be arched or triangular. The cephalic region is smooth and has a single annule.

INTRODUCCION

El género *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Nemata: Heteroderidae) es, sin duda alguna, el más importante entre los nematodos fitoparásitos que atacan las plantas cultivadas en Costa Rica e incluye, hasta el momento, unas 71 especies (5, 14, 18), aunque hay discrepancias acerca de la validez de algunas de ellas. En Costa Rica, se ha identificado a *M. incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. hapla* Chitwood, 1949, *M. exigua* Goeldi, 1887, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 y *M. salasi* López, 1984

¹ Recibido para publicación el 3 de agosto de 1989. Parte del proyecto 312-86-110 de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica

* Laboratorio de Nematología. Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. El primer autor es miembro del Programa Financiero de apoyo a investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT). Los autores agradecen la financiación dada por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y la ayuda técnica del señor Justo Azofeifa y la señora Suria Sánchez.

COMPENDIO

Con la ayuda del microscopio electrónico de rastreo se realizó un estudio morfológico de hembras, machos y segundos estados juveniles (J2) de cinco poblaciones del nematodo nodulador del cafeto, *Meloidogyne exigua*, provenientes de diversas localidades de Costa Rica. En las hembras, el disco labial es redondeado y pequeño; tiene el prestoma en su centro, rodeado de sensilas labiales internas y puede o no estar fusionado con los labios medios; éstos son más anchos que el disco labial y junto con él forman una estructura similar a un corbatín; los diseños perineales son ovalados o redondeados, tienen estriás gruesas, continuas, a menudo fusionadas entre sí; la vulva está hundida en el centro del diseño; en las porciones laterales de éste, a menudo se presenta una interrupción de las estriás la cual corresponde a los campos laterales. En los machos, la región cefálica es lisa y tiene un solo anillo; el disco labial es elongado, con bordes laterales rectos y tiene en su centro el estoma, hundido dentro del prestoma; éste está rodeado por seis sensilas labiales internas; los labios medios son más anchos que el disco labial, tienen dos sensilas cefálicas cada uno y pueden estar divididos en dos por una indentación que varía en profundidad; los labios laterales son trapezoidales y muy evidentes. En los J2, el disco labial y los labios medios forman una estructura con forma de corbatín; los labios laterales son arqueados o triangulares; la región cefálica es lisa y tiene un solo anillo.

(8, 17), aunque también se ha informado recientemente sobre la presencia de varias especies nuevas, las que requieren ser descritas (13). Algunas de las razones para considerar a *Meloidogyne* spp. como los nematodos fitoparásitos más importantes en Costa Rica son: 1) la gama de huéspedes dentro de los cultivos agrícolas en nuestro país la cual incluye prácticamente todas las hortalizas, además del cafeto, banano, maíz, caña de azúcar, arroz, piña, plátano, tabaco, melocotón, marañón, mango, aguacate, papaya, cacao, numerosos ornamentales de flores y de follaje, y especias, entre otros (6, 10, 12, R. López y L. Salazar, datos sin publicar); 2) los severos efectos patogénicos producidos por estos nematodos en muchos cultivos y el efecto devastador que puede tener su interacción con otros agentes causales de enfermedades (15, 16); 3) la amplia distribución geográfica de estos nematodos en el territorio nacional, a tal punto que, por ejemplo, *M. incognita* ha sido encontrada en Los Chiles, cerca de la frontera norte y en La Cuesta, cerca de la frontera sur; también, ha sido

colectada en ambos litorales, en áreas de playa donde llega la pleamar, v.g., Westfalia, Limón y Esterillos, Puntarenas; segundo estados juveniles (J2) similares a los de *M. javanica* han sido encontrados a la orilla del mar en Conchal, Guanacaste, mientras que otros, similares a los de *M. hapla*, han sido recuperados en materiales arenosos localizados en el cráter del volcán Irazú, a más de 3 000 msnm (R. López, datos sin publicar)

A pesar de que las especies de este género son típicos endoparásitos de las raíces (19), muy frecuentemente su presencia ha sido detectada en Costa Rica mediante la extracción de J2 del suelo (6, 7, 10); en estos casos, es difícil identificar de inmediato la especie, ya que los J2 de varias de las especies encontradas en nuestro país son similares en morfología general y en ciertas características particulares medidas con la ayuda del microscopio de luz (ML) (8); la identificación específica es considerada indispensable para aplicar medidas de combate como la rotación de cultivos, la siembra de cultivares resistentes, ciertas prácticas culturales y tácticas basadas en el uso de agentes biológicos (19). Frecuentemente, en estos casos se recurre a la siembra de plantas de tomate en el suelo infestado, su cultivo durante unos 60 días en el invernadero y luego al estudio de las hembras, los machos y los J2 aislados de sus raíces para poder identificar la especie presente; este procedimiento es tedioso y requiere demasiado tiempo y espacio, por lo que en muchas situaciones no es aplicable.

El microscopio electrónico de rastreo (MER), de relativo reciente uso en Fitonematología, se ha convertido en una formidable herramienta para el estudio de estos parásitos (4) y ha permitido encontrar diferencias morfológicas cualitativas entre J2, machos y hembras de varias especies de *Meloidogyne* (1, 2, 3); algunas de estas diferencias han sido observadas posteriormente con el ML. Ante estos antecedentes, se consideró pertinente realizar un estudio para, con la ayuda del MER, caracterizar detalladamente varias poblaciones costarricenses de estos nematodos e identificar aquellas características morfológicas diagnósticas que, eventualmente, faciliten la identificación específica, incluso con sólo la observación de J2. En este trabajo se presenta lo relacionado con el estudio de cinco poblaciones del nematodo nodulador del café, *M. exigua*, la especie de este género más frecuentemente encontrada en Costa Rica atacando este cultivo.

MATERIALES Y METODOS

Cuatro poblaciones de *M. exigua* fueron colectadas de raíces de café, provenientes de los cantones de Naranjo y Central, provincia de Alajuela, el cantón

de Turrialba, provincia de Cartago y el cantón de Coto Brus, provincia de Puntarenas; estas poblaciones fueron mantenidas y reproducidas bajo condiciones de invernadero en plantas de chile, cv. 'California Wonder', mientras que la quinta población fue obtenida también de café en el cantón de Pérez Zeledón, provincia de San José; esta población fue procesada tal y como venía del campo. Los machos fueron procesados para su observación al MER siguiendo un método descrito previamente (11), mientras que los J2 y las hembras fueron inicialmente fijados de igual manera pero luego deshidratados en alcohol y pasados por soluciones alcohólicas de acetato de amilo, según el método descrito por Jepson (5). Se observó un número mínimo de 25 especímenes, tanto de las hembras como de los machos y los J2 de cada población, en un MER Hitachi S-570 a 15 Kv de voltaje acelerador. Para la descripción de la morfología se siguió la terminología propuesta por Eisenback y Hirschmann (1, 2) y Eisenback *et al.* (3).

RESULTADOS

En la Fig. 1 se ilustra la morfología de la porción frontal del cuerpo de las hembras. El prestoma aparece en el centro del disco labial y puede tener la forma de un poro redondeado (Fig. 1d) o levemente ovalado en el plano dorso-ventral (Fig. 1f). El estoma aparece como una rendija localizada dentro del prestoma; alrededor de éste último se localizan varias sensilas labiales internas, en forma de diminutos poros redondeados (Fig. 1d). El disco labial es relativamente pequeño y redondeado; en algunos casos está separado parcial o totalmente de los labios medios por estrías (Fig. 1d, e, f.), pero, en otros, está fusionado con éstos (Fig. 1b, c), en mayor o menor grado. Los labios medios son más grandes que el disco labial y en conjunto con éste forman una estructura con forma de corbatín; sus bordes pueden ser redondeados (Fig. 1a, d, e, f), relativamente aplanados (Fig. 1b) o puntiagudos (Fig. 1c); a menudo, estos labios se fusionan con los labios laterales (Fig. 1a, b, c, d). La región cefálica está compuesta por dos o tres anillos, a menudo incompletos (Fig. 1a) y surcados por cortas incisuras longitudinales. Las aberturas anfídiales aparecen como cortas hendiduras rectangulares localizadas entre el disco labial y los labios laterales; estos últimos pueden o no estar bien diferenciados de la estructura formada por el disco labial y los labios medios.

En la Fig. 2 se ilustra la morfología del diseño perineal de las hembras. En términos generales, los diseños son ovalados (Fig. 2b, d-1) o redondeados (Fig. 2a, c) y están constituidos por estrías relativamente gruesas, continuas, con cierta frecuencia fusionadas entre sí. La vulva y el área inmediata a su alrededor están en un plano inferior al de las estrías, por lo que

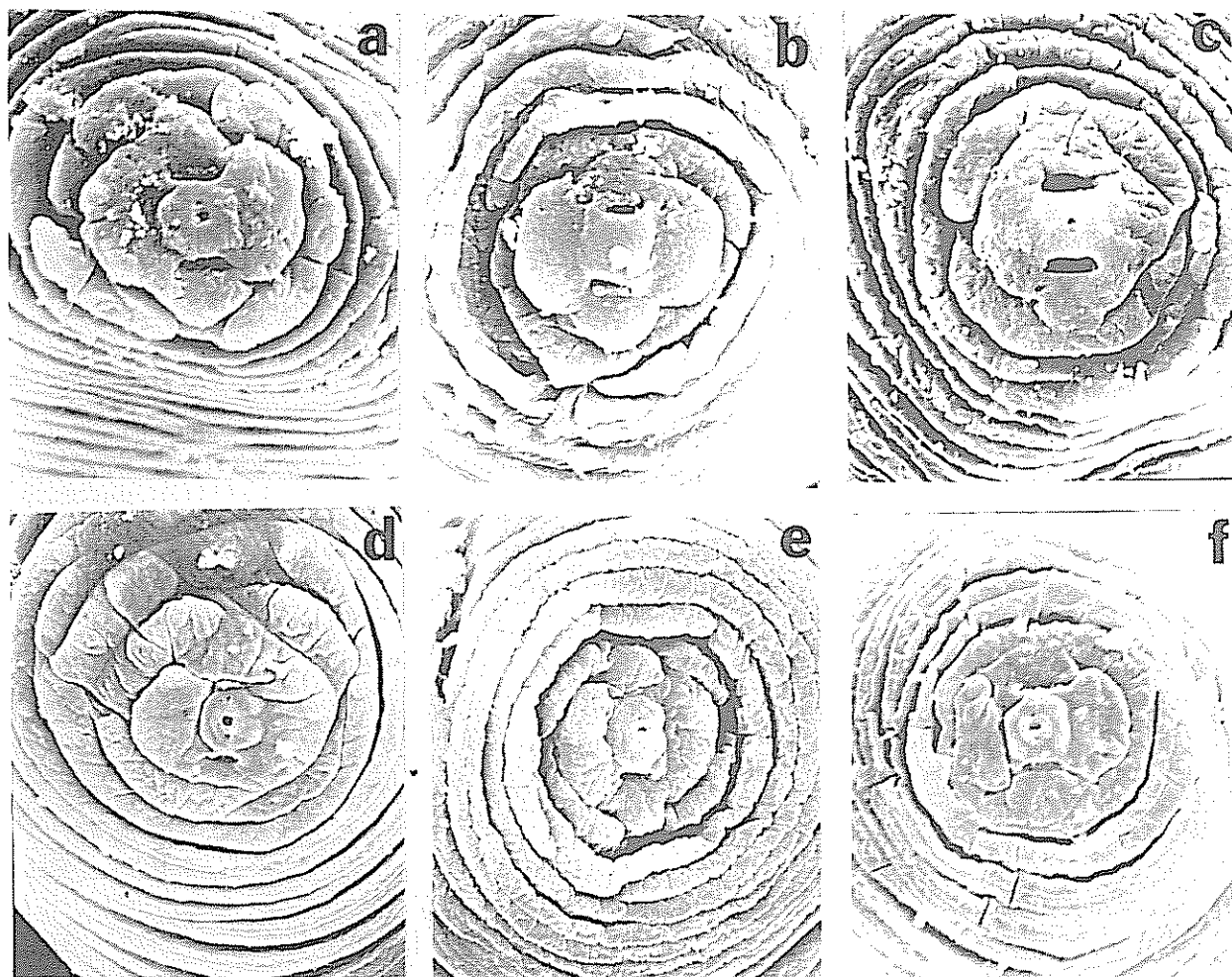


Fig 1. Fotomicrografías de la vista frontal de hembras de *Meloidogyne exigua* provenientes de a-c: Turrialba; d, e: Naranjo; f: Coto Brus.

aparecen localizadas en una área hundida en el centro del diseño. El ano es difícil de discernir. Con frecuencia, se observaron especímenes que presentaban en sus porciones laterales una interrupción en la continuidad de sus estrías, la que varía en intensidad ya que puede ser leve (Fig. 2b, c, d, g, h, j, l) o bastante marcada (Fig. 2e, i, k); esta interrupción aparentemente corresponde a los campos laterales; en algunos especímenes no se observó evidencia de esta alteración en las estrías (Fig. 2a, f).

En la Fig. 3 se ilustran algunos aspectos de la morfología de los machos. Su porción anterior es de menor diámetro que el resto del cuerpo (Fig. 3a), mientras que su extremo posterior es redondeado (Fig. 3b).

Los campos laterales se inician unos ocho a 10 anillos posterior a la región cefálica y están delimitados en ese punto por sólo dos líneas laterales; la areolación es incompleta (Fig. 3a). Los campos continúan hasta la región de la cola (Fig. 3b) y tienen la apariencia de un cordón superpuesto sobre las porciones laterales del cuerpo. La región labial de los machos en vista frontal (Fig. 3e-l) exhibe un estoma en forma de rendija, localizado en el fondo de un ovalado prestoma; externamente al prestoma y rodeándolo en un área muy cercana a sus bordes, se localizan seis sensilas labiales internas, en forma de diminutos poros redondeados. El disco labial es relativamente elongado, sus bordes laterales son prácticamente rectos y está fusionado con los labios medios; éstos son más anchos que

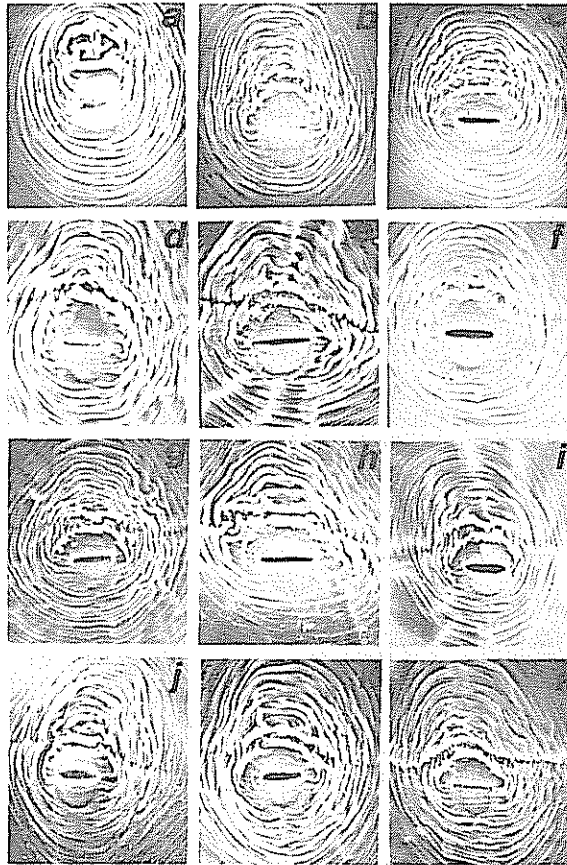


Fig. 2. Fotomicrografías de diseños perineales de *Meloidogyne exigua* provenientes de a-c: Cantón Central, Alajuela; d-g: Naranjo; h, i: Turrialba; f: Pérez Zeledón; k, l: Coto Brus.

el disco labial y tienen los bordes casi rectos o levemente redondeados. En varios especímenes se pudo observar en cada labio medio dos sensilas cefálicas, en forma de diminutas depresiones redondeadas (Fig. 3e, i, j, k). Los labios medios a menudo están divididos en dos porciones por una pequeña indentación o muesca (Fig. 3e, f, g, h, i, k, l). Los labios laterales tienen forma trapezoidal, se extienden sobre la región cefálica y están delimitados por estrías cortas que se inician cerca de los bordes laterales de los labios medios (Fig. 3a, c-l). La región cefálica es lisa y está formada por un solo anillo; las aberturas anfidiales se localizan entre el disco labial y los labios laterales, debajo del primero, y tienen la forma de una rendija rectangular (Fig. 3a, c-l).

En la Fig. 4 se ilustra la forma de la región cefálica y labial de los J2. La región cefálica es lisa y está formada por un solo anillo. En la región labial, el prestoma es redondo (Fig. 4d, g, h, i, j); está rodeado externamente de seis pequeñas sensilas labiales internas en forma de poros redondeados y se localiza en el centro

del disco labial; este último está levemente levantado sobre los labios medios y sus bordes laterales son casi rectos. Los labios medios son más anchos que el disco labial y tienen sus bordes redondeados; en algunos especímenes se pudieron observar dos sensilas cefálicas en forma de depresiones redondeadas, localizadas en cada labio medio. El disco labial y los labios medios forman una estructura en forma de corbatín. Los labios laterales normalmente están localizados en un plano inferior al de la estructura en forma de corbatín, aunque también pueden estar fusionados a ella (Fig. 4c), y se extienden sobre la región cefálica. Ambos labios pueden tener una forma arqueada (Fig. 4a, b, f, g) o triangular (Fig. 4e, h, j, k, l), o pueden ser uno arqueado y el otro triangular (Fig. 4c, d) o de forma irregular (Fig. 4i); estos labios están delimitados por estrías que se originan en los bordes laterales de los labios medios. Las aberturas anfidiales aparecen como cortas rendijas rectangulares entre los bordes del disco labial y los labios laterales.

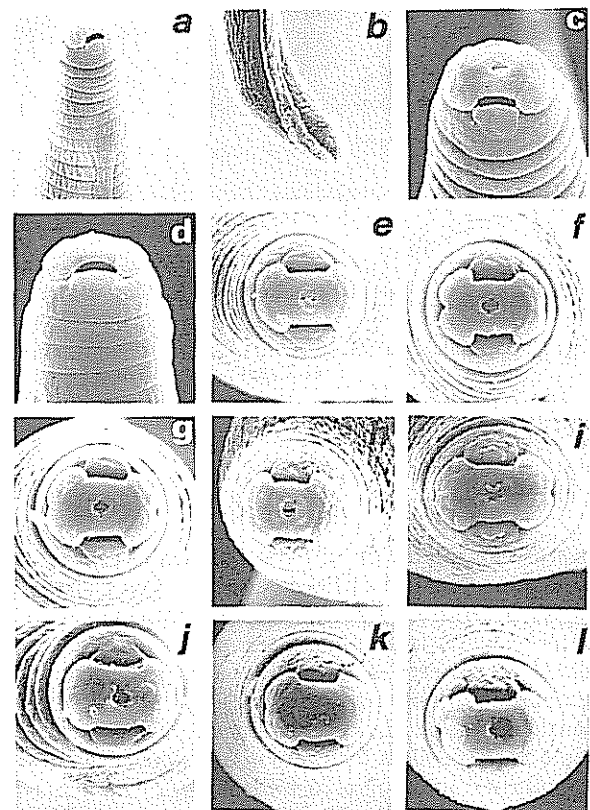


Fig. 3. Fotomicrografías de la porción anterior (a), la cola (b), la región cefálica (lateral) (c, d) y la vista frontal (e-l) de machos de *Meloidogyne exigua* provenientes de a, c-g: Naranjo; b, i, j: Coto Brus; h: Turrialba; k, l: Cantón Central, Alajuela.

Si bien la morfología general de las regiones cefálica y labial de los J2 es similar a lo ilustrado por Eisenback y Hirschmann (1) y por Jepson (5), la variación en la forma de los labios laterales no había sido observadas por estos autores. Eisenback y Hirschmann (1) ilustran un J2 que tiene los labios laterales arqueados, mientras que Jepson (5) presenta una fotomicrografía muy oscura de un J2 de *M. exigua* en que pareciera que los labios laterales también son arqueados. En este estudio se encontraron especímenes con labios laterales arqueados o triangulares y algunos en que un labio lateral es arqueado y otro triangular, pertenecientes a una misma población y a poblaciones de diferente origen geográfico. Lo anterior sugiere que esta variación es común en poblaciones costarricenses de *M. exigua* y que no son particulares a alguna de sus poblaciones. Conviene anotar que esta variación en la forma de los labios laterales puede complicar la posibilidad de identificar con certeza esta especie con sólo ver los J2, sin tener que estudiar la morfología de las hembras y la de los machos.

Los J2 de otras especies de *Meloidogyne* presentes en Costa Rica tienen labios laterales similares en forma a los dos tipos encontrados en *M. exigua* (R. López, L. Salazar, datos sin publicar), por lo que el objetivo de identificar la especie con sólo estudiar la morfología de los J2, pareciera difícil de alcanzar.

DISCUSION

Algunos de los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con lo informado previamente para esta especie; así, en lo concerniente a las hembras, podría decirse que las características exhibidas por éstas, en su porción frontal, coinciden con lo informado por López (9) en su estudio de otras poblaciones costarricenses de *M. exigua*. También, hay gran coincidencia entre lo encontrado en esta investigación en cuanto a las características del diseño perineal y lo informado por este autor (9). Sin embargo, en esta investigación se encontró que la expresión de los campos laterales en los diseños perineales puede presentar una gran variación, tanto en hembras pertenecientes a una misma población como en hembras de poblaciones con diferente origen geográfico. Podría concluirse entonces que esta variación es de la especie y no de alguna población en particular; hembras de *M. exigua* con una marcada interrupción de estrías en las regiones laterales del diseño perineal han sido encontradas en un bosque virgen del cantón de Pérez Zeledón, lo que

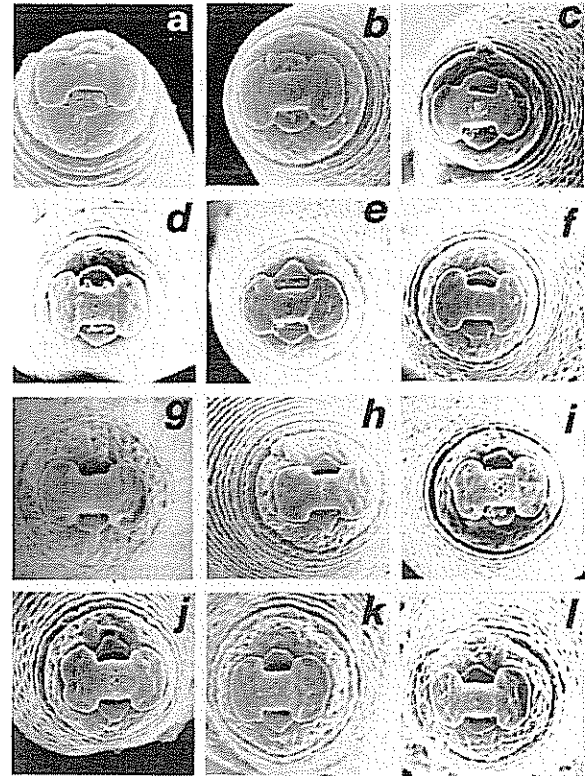


Fig. 4. Fotomicrografías de vistas lateral-frontal (a) y frontales (b-l) de segundos estados juveniles de *Meloidogyne exigua*, provenientes de a-e: Pérez Zeledón; f: Naranjo; g, h: Cantón Central, Alajuela; i, j: Coto Brus; k, l: Turrialba

sugiere que esta variación morfológica está presente en poblaciones silvestres (R. López, datos sin publicar).

En cuanto a los machos, los hallazgos de esta investigación también coinciden con los de López (9); la morfología de la porción frontal de los machos estudiados es prácticamente idéntica a lo informado por este autor, así como las demás características de la cola y de los campos laterales. Conviene recalcar eso sí que, en una misma población, se encontraron especímenes en que la muesca que divide los labios medios es muy marcada y otros en que es leve o inexistente; dada la presencia de estas variantes en poblaciones de diferente origen geográfico, pareciera que la misma es de la especie y no de una población particular, lo que contradice lo postulado previamente (9).

LITERATURA CITADA

1. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1979. Morphological comparison of second-stage juveniles of several *Meloidogyne* species (root-knot nematodes) by scanning electron microscopy. *Scanning Electron Microscopy* (EE.UU.) 3:223-230.
2. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* males by scanning electron microscopy. *Journal of Nematology* (EE.UU.) 12(1):23-32.
3. EISENBACK, J.D.; HIRSCHMANN, H.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1980. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. *Journal of Nematology* (EE.UU.) 12(4):300-313.
4. HIRSCHMANN, H. 1983. Scanning electron microscopy as a tool in nematode taxonomy. In *Concepts in nematode systematics*. Ed. by A.R. Stone, H.M. Platt, L.F. Khalil. New York, Academic Press. p. 95-111.
5. JEPSON, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Aberystwyth, United Kingdom, Cambrian News. 265 p.
6. LOPEZ, R. 1978. Nematodos fitoparásitos asociados al Cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) en Costa Rica. *Turrialba* (C.R.) 28(4):279-282.
7. LOPEZ, R. 1980. Determinación de los nematodos fitoparásitos asociados al plátano (*Musa acuminata* M. *balbisiana*, AAB) en Río Frío. *Agronomía Costarricense* (C.R.) 4(2):143-147.
8. LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica. *Turrialba* (C.R.) 34(4):445-458.
9. LOPEZ, R. 1984. Observaciones sobre la morfología de *Meloidogyne exigua* con el microscopio electrónico de rastreo. *Nematropica* (EE.UU.) 15(1):27-36.
10. LOPEZ, R.; AZOFEIFA, J. 1981. Reconocimiento de nematodos fitoparásitos asociados con hortalizas en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* (C.R.) 5(1-2):29-35.
11. LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1987. Nematodos asociados al arroz (*Oryza sativa* L.) en Costa Rica. III. Microscopia electrónica de rastreo de *Meloidogyne salasi* y *Tylenchorhynchus annulatus*. *Turrialba* (EE.UU.) 37(1):77-87.
12. LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1988. Nuevos huéspedes de *Meloidogyne javanica* (Nemata: Heteroderidae) en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* (C.R.) 12(2) (En prensa).
13. LOPEZ, R.; SALAZAR, R. 1988. Microscopia electrónica de rastreo de algunos *Meloidogyne* spp. encontrados en Costa Rica. In *Congreso Anual de Nematología* (20., San José, C.R.). Resúmenes. San José, C.R. Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos. p. 47.
14. LUC, M.; MAGGENTI, A.R.; FORTUNER, R. 1988. A reappraisal of *Tylenchina* (Nemata). 9. The family Heteroderidae Fili'ev & Schuurmans Stekhoven, 1941. *Revue de Nematologie* (Francia) 11(12):159-176.
15. PADILLA, C.; LOPEZ, R.; VARGAS, E. 1980. Interacción entre *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* en arveja. *Agronomía Costarricense* (C.R.) 4(1):55-60.
16. PERLAZA, F.; LOPEZ, R.; VARGAS, E. 1979. Combate químico de *Meloidogyne* spp. y *Alternaria* sp. en zanahoria (*Daucus carota* L.) *Turrialba* (C.R.) 29(4):263-267.
17. SALAZAR, L. 1980. Variaciones morfométricas y respuestas de nueve hospedantes diferenciales a tres poblaciones de *Meloidogyne javanica* de Costa Rica. *Turrialba* (C.R.) 30(3):344-351.
18. TAYLOR, A.L. 1987. Identification and estimation of root-knot nematode species in mixed populations. s.l. Florida, Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. Bulletin no. 12. 73 p.
19. TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh, North Carolina State University Graphics, Department of Plant Pathology. 111 p.