

Nematodos fitoparásitos asociados al cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) en Costa Rica*— ROGER LOPEZ CH.**

A B S T R A C T

Two-hundred and eight soil samples were analyzed for plant-parasitic nematodes associated with the tobacco crop in Costa Rica. Sampled areas were the Atenas, San Ramón, Palmares and Naranjo counties, province of Alajuela, the Puriscal and Pérez Zeledón counties, province of San José, and the Aguirre and Parrita counties, province of Puntarenas; where air cured, burley and flue-cured tobaccos are grown. Thirteen genera were identified, of which the most frequently found were *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Tylenchus*, *Macrosposithonia*, *Tylenchorhynchus* and *Pratylenchus*, present in 73,3, 71,1, 36,0, 26,4, 24,5 and 22,1% of the total number of samples. Population densities of *Meloidogyne* were the highest in all sampled counties.

Introducción

EL TABACO (*Nicotiana tabacum* L.) es una planta muy susceptible al ataque de nematodos fitoparásitos, los que a menudo le causan daños de gran importancia económica. Numerosos géneros y especies de nematodos han sido encontrados en asociación con este cultivo en Perú (13), El Salvador (1), Trinidad (11), E.E.U.U. (9) y otros países (8), pero en Costa Rica, aparte de la mención de los géneros *Meloidogyne*, Goeldi, 1887, *Helicotylenchus* Steiner, 1945 y *Pratylenchus* Filipjev, 1934 (7), la información referente a la nematofauna asociada con el cultivo era prácticamente inexistente; esta carencia de información motivó la presente investigación, que tuvo como objetivos determinar los géneros, y las especies en los casos en que fuera posible hacerlo, de nematodos fitoparásitos asociados al tabaco en Costa Rica, así como sus densidades poblacionales.

Materiales y métodos

Durante los meses de enero a marzo de 1978 se muestreó un total de 208 fincas dedicadas al cultivo del tabaco, situadas en los cantones de Atenas, Naranjo, San Ramón y Palmares de la provincia de Alajuela (zona A), los cantones de Puriscal (zona B) y Pérez Zeledón (zona C) de la provincia de San José, y los cantones de Aguirre y Parrita de la provincia de Puntarenas (zona D).

En las zonas A y B el tipo de tabaco cultivado es dominado "de sol", mientras que en las zonas C y D los tipos cultivados son el "burley" y el "estufado" (Tabaco horneado o rubio). (Fig. 1).

En cada finca se tomó una muestra compuesta de suelo, proveniente de la rizosfera de plantas de tabaco en cinco a ocho sitios escogidos al azar dentro de cada plantación. En algunos pocos casos se colectaron raíces con nódulos radicales. Las muestras, previa identificación, fueron trasladadas al laboratorio, donde se homogenizaron y cuartearon hasta obtener submuestras de

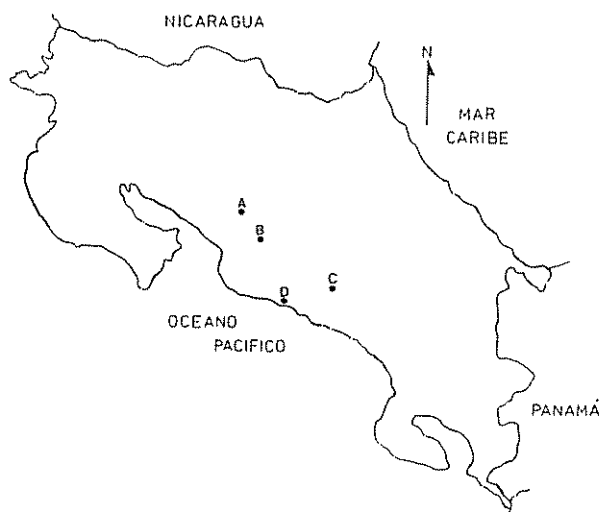


Fig. 1 Mapa de Costa Rica que muestra la ubicación relativa de las zonas tabacaleras muestreadas.

* Recibido para la publicación el 11 de setiembre de 1978.

** Laboratorio de Nematología, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

Cuadro 1.—Frecuencia, en porcentaje, y densidades poblacionales máximas encontradas, de géneros de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo del tabaco en Costa Rica.

GENERO	Total									
	Alajuela		Puriscal		Valle de El General		Pacífico Sur		Total	
	Total de muestras por zona									
	45		52		39		72		208	
	%*	D**	%	D	%	D	%	D	%	D
Meloidogyne	88,8	8720	92,3	146	97,4	3312	36,1	511	73,3	8720
Helicotylenchus	73,3	93	57,6	26	38,4	14	87,5	75	71,1	93
Tylenchus	20,0	5	40,3	7	43,5	17	38,8	14	36,0	17
Macroposthonia	0	0	0	0	0	0	76,3	69	26,4	69
Tylenchorhynchus annulatus	0	0	0	0	0	0	70,8	38	24,5	38
Pratylenchus	20,0	8	3,8	2	33,3	8	30,5	6	22,1	8
Criconemoides	2,2	1	7,6	1	15,3	6	0	0	5,2	6
Ditylenchus	2,2	6	0	0	10,2	1	5,5	3	4,8	6
Xiphinema	2,2	4	1,9	1	5,1	1	0	0	1,9	4
Longidorus	4,4	1	0	0	0	0	0	0	0,9	1
Hemicycliophora	2,2	1	0	0	0	0	0	0	0,5	1
Heterodera	0	0	1,9	1	0	0	0	0	0,5	1
Psilenchus	0	0	1,9	1	0	0	0	0	0,5	1

* Porcentaje en relación al total de muestras examinadas por zona

** Densidad máxima encontrada, expresada en número de especímenes/100 ml de suelo.

100 ml, las que fueron procesadas por el método de cernido y centrifugación en solución azucarada (2). Los nematodos recuperados se recogieron en platillos siracusa de 20 ml de capacidad, y se identificaron y contaron bajo un microscopio de disección a 45 X. Para la determinación específica de los nematodos del género *Meloidogyne* se prepararon diseños perineales de las hembras, siguiendo el método descrito por Franklin (5) modificado por Taylor y Netscher (12). Los diseños así obtenidos se compararon con las descripciones dadas en la literatura para las diferentes especies de este género (3, 14)

Resultados

Los resultados obtenidos en cuanto a los géneros de nematodos fitoparásitos asociados al tabaco, sus densidades poblacionales máximas y su relativa frecuencia en las diversas áreas productoras se presentan en el Cuadro 1. Los géneros *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Tylenchus* Bastian, 1865 y *Pratylenchus* se encontraron en todas las zonas muestreadas; los tres primeros fueron los más comúnmente encontrados en el total de muestras, con porcentajes de frecuencia de 73,3, 71,1 y 36,0 respectivamente. El porcentaje de frecuencia de

Pratylenchus fue apenas de 22,1. Las densidades poblacionales de *Meloidogyne* fueron las más altas en todas las zonas, mientras que las de *Helicotylenchus*, *Tylenchus* y *Pratylenchus* fueron bajas.

El género *Macroposthonia* de Man, 1880, y la especie *Tylenchorhynchus annulatus* (Cassidy, 1930) Golden, 1971 (= *T. martini* Fielding, 1956) únicamente se encontraron en la zona D en densidades poblacionales relativamente bajas.

El género *Xiphinema* Cobb, 1913, representado por una especie muy similar a *X. americanum* Cobb, 1913, se encontró en las zonas A, B y C, pero sólo en forma esporádica (1,9% de frecuencia en el total de muestras), y en poblaciones muy bajas.

Los géneros *Longidorus* (Micoletzky, 1922) Thorne y Swanger, 1936 y *Hemicycliophora* de Man, 1921 se encontraron únicamente en la zona A, y con una densidad de apenas 1 espécimen/100 ml de suelo; una situación similar se presentó con los géneros *Psilenchus* de Man, 1921 y *Heterodera* Schmidt, 1871, aunque en este caso ambos fueron detectados únicamente en la zona B. En el caso de *Heterodera* no fue posible recuperar quistes, por lo que no se pudo saber con certeza si el género presente era *Heterodera* o *Globodera*. El género *Ditylenchus* se encontró en densidades muy bajas

en las zonas A, C y D, mientras que el género *Criconemoides* no se encontró en la zona D, pero sí en las otras zonas. Al igual que en otros casos, las densidades de este género fueron muy bajas.

Se determinó, en los pocos casos en que fue posible hacerlo (14 en total), que la especie presente de *Meloidogyne* era *M. incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949, la que fue detectada en las cuatro zonas y en los tres tipos de tabaco muestreados.

Discusión

La fauna nematológica asociada con el cultivo de tabaco en Costa Rica no difiere sustancialmente de la encontrada en otros países (1, 8, 9, 11, 13), aunque se podría destacar la ausencia de géneros tales como *Rotylenchus*, *Trichodorus* y *Rotylenchulus*, los que han sido encontrados en suelos tabacaleros en El Salvador (1). Por otra parte, y de acuerdo con algunos autores (8, 9), los géneros considerados más importantes en este cultivo son *Meloidogyne* y *Pratylenchus*, los que fueron encontrados en las cuatro zonas muestreadas. Es probable que el género *Meloidogyne*, aparentemente la especie *M. incognita*, sea responsable de daños de importancia económica en todas las zonas, como ha sido demostrado en Puriscal (7); la patogenicidad de estos nematodos en este cultivo ha sido comprobada en otros países (8, 9), mientras que su frecuencia y densidades fueron altas en las zonas costarricenses; en unas pocas ocasiones, y bajo condiciones de campo en el cantón de Pérez Zeledón, se ha encontrado a *M. incognita* en asocio con ataques de *Alternaria* sp., *Pseudonomas solanacearum* E. F. Smith y *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* Tucker, patógenos estos con los que se ha comprobado interacción esta especie. Los daños causados en casos como estos son mayores que los que causaría cada patógeno separadamente (8). Estas observaciones parecieran indicar que el género *Meloidogyne* es, probablemente, el más importante bajo condiciones locales, lo que concuerda con lo encontrado en otros países (8, 9).

En el caso de *Pratylenchus* es posible que su baja frecuencia y densidad se deban al tipo de muestra con que se trabajó, ya que estos nematodos son típicos endoparásitos que a menudo completan su ciclo de vida dentro de las raíces (4), por lo que a veces es difícil detectarlos en el suelo.

En cuanto al género *Helicotylenchus*, algunos autores (10) consideran que estos nematodos son patógenos débiles, que deben estar presentes en altas densidades para causar daños; en nuestro caso se encontró una alta frecuencia, pero las densidades poblacionales fueron bajas, lo que pareciera restarles importancia; algo similar sucedió con el género *Tylenchus*.

Los otros géneros encontrados tuvieron frecuencias y densidades relativamente bajas, por lo que, en apariencia, es poco probable que causen daños al cultivo. Es interesante anotar que el género *Macrosphosthonia* y la especie *Tylenchorhynchus annulatus* se encontraron únicamente en los cantones de Parrita y Aguirre, en

suelos donde tradicionalmente se ha cultivado arroz; de acuerdo con González (6), estos nematodos han sido recuperados de la rizosfera del arroz en esta área, en poblaciones usualmente mayores que las encontradas en el caso del tabaco, lo que pareciera indicar que estos nematodos son, primordialmente, parásitos del arroz, y que bajo ciertas condiciones sobreviven en estos suelos cuando se cultiva el tabaco.

Resumen

Se analizó, cualitativa y cuantitativamente, un total de 208 muestras de suelo provenientes de fincas dedicadas al cultivo de tabaco estufado, burley y de sol en los cantones de Atenas, Naranjo, Palmares y San Ramón, provincia de Alajuela, Puriscal y Pérez Zeledón, provincia de San José, y Aguirre y Parrita, provincia de Puntarenas, en Costa Rica. Se identificaron 13 géneros de nematodos fitoparásitos asociados con este cultivo, de los cuales los más frecuentemente encontrados fueron *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Tylenchus*, *Macrosphosthonia*, *Tylenchorhynchus* y *Pratylenchus*, presentes en el 73,3, 71,1, 36,0, 26,4, 24,5 y 22,1% del total de muestras analizadas. Las densidades poblacionales de *Meloidogyne* fueron las más altas en todos los cantones muestreados.

Agradecimiento

El autor desea expresar su profunda gratitud a todo el personal de la Junta de Defensa del Tabaco por su colaboración en la colecta de las muestras, así como al señor Justo Azofeifa por su ayuda en el procesamiento de las mismas.

Literatura citada

1. ABREGO, I. y TARJAN, A. C. Reconocimiento de nematodos en cultivos de importancia económica en El Salvador. *Nematotrópica* 2(2): 27-29. 1972.
2. CAVENESS, F. E. y JENSEN, H. J. Modification of the centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 22(1): 87-89. 1955.
3. CHITWOOD, B. G. "Root-knot nematodes" Part. I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi 1887. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 16: 90-104. 1949.
4. CHRISTIE, J. R. Plant nematodes, their bionomics and control. Gainesville. Agricultural Experiment Station, University of Florida, 1959. 256 p.
5. FRANKLIN, M. T. Preparation of posterior cuticular patterns of *Meloidogyne* spp for identification. *Nematologica* 7: 336-337. 1962.
6. GONZALEZ, I. Nematodos fitoparásitos asociados con la rizosfera de arroz y maíz en varias zonas agrícolas de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 2 (2): (171-173) 1978.

7. LOPEZ, R. y FONSECA, J. Combate químico de nematodos fitoparásitos en tabaco de sol *Agronomía Costarricense* 2(2): 157-162. 1978
8. MILNE, D. I. Nematodes of tobacco. In J. M. Webster (Ed) *Economic Nematology*. New York and London Academic Press 1972. pp 159-186.
9. NUSBAUM, C. J. Nematodes of tobacco and their control. In J. Abad-Ramos *et al.* (Eds) *Proceedings of the Symposium on Tropical Nematology* Agricultural Experiment Station, University of Puerto Rico 1969 pp 58-67.
10. PINOCHET, J., RASKI, D. J. y JONES, N. O. Effects of *Helicotylenchus pseudorobustus* on Thompson seedless grape. *Plant Disease Reporter* 60: 528-529. 1976
11. SING, N. D. Preliminary investigations on the parasitic nematodes associated with tobacco in Trinidad. *Nematológica* 4(1): 11-16. 1974
12. TAYLOR, D. P. y NEISCHER, C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica* 20: 268-269. 1974
13. VARGAS, F. O. Nematodos atacando el tabaco en Perú. *Nematológica* 1(1): 29 (Abstr). 1971.
14. WHITEHEAD, A. G. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. *Transactions of the Zoological Society of London* 31: 263-401. 1968.

Notas y Comentarios

Premio Nobel 1978 de Medicina y Biología

El Premio Nobel 1978 de medicina y biología le dá un toque de respetabilidad al asunto todavía controversial de la ingeniería genética (Cf. *Turrialba* 24: 347, 1974). No es que Daniel Nathans, Hamilton Smith y Werner Arber sean los pioneros de esta nueva ciencia. Más bien, ellos proveyeron a los ingenieros genéticos con una herramienta esencial: enzimas con las cuales se cortan los genes en una forma precisa.

La manipulación de los genes depende en gran parte de la capacidad de obtener genes o fragmentos de genes que pueden ser insertados entonces en alguna clase de hospedante experimental. Sucede que la mayoría de las bacterias con tienen enzimas que cortan hilos de DNA en lugares específicos. Con una selección de más de 100 de las llamadas enzimas de restricción para escoger, los ingenieros genetistas pueden ahora cortar y pegar trozos de DNA con considerable predeterminación.

Al mismo tiempo que son una parte clave del bagaje de herramientas del ingeniero genetista, las enzimas de restricción permiten a los genetistas analizar la estructura del material genético: el cortar experimentalmente el DNA en una manera conocida con precisión es el primer paso para descubrir cómo se armó en primer lugar. Probablemente el más fascinante descubrimiento hecho usando esta enzimas es el hecho que en vez de existir como unidades intactas solas, los genes de los organismos más elevados están a menudo fragmentados en varias partes de un cromosoma.

Los biólogos tuvieron indicios, indirectamente, de la existencia de las enzimas de restricción hace 25 años cuando Giovanni Bertani dio cuenta de un fenómeno que llamó "variación controlada del hospedante" (más tarde se le denominó "restricción"). Bertani notó que un bacteriófago que ocupaba una cepa hospedante era generalmente incapaz de infectar una segunda cepa. Había algo que prevenía que el bacteriófago tuviera éxito en el nuevo hospedante. Hasta una docena de biólogos, incluyendo a Salvador Luria, investigaron el fenómeno durante casi 10 años, hasta que Werner Arber y su colega Daisy Dussieux consiguieron colocar todo el asunto en el marco molecular en 1962.

Ese año, Arber y Dussieux publicaron dos artículos, ambos en el *Journal of Molecular Biology*, en los que dieron cuenta que las bacterias contienen enzimas cuya misión era destruir el DNA invasor. Sucede que hay dos tipos de enzimas de restricción: aquellas que atacan el DNA extraño ca-

si al azar (tipo 1), y aquellas que cortan el DNA en sitios específicos conforme una secuencia (tipo 2)

Hasta fines de los novecientos sesenta los investigadores estaban familiarizados solamente con la enzima de tipo 1, y no fue hasta que Hamilton Smith se tropezó con la especificidad del tipo 2 que se dio cuenta del potencial de las enzimas de restricción. Estaba estudiando la bacteria *Haemophilus influenzae*, y de ella aisló una enzima, *Hind* (II y III). En 1970 publicó dos artículos, cada uno con un diferente colega en el *Journal of Molecular Biology* en los cuales describió el aislamiento y purificación de la enzima *Hind*. El hecho de que esta fue la primera enzima de restricción que se descubrió que siempre se dedica a la misma secuencia del DNA, hace este informe un importante punto de referencia en la nueva era de la genética, una era en la que la ingeniería genética juega un papel importante.

Un colega de Smith en el Departamento de Biología de la Universidad de Johns Hopkins, Daniel Nathans, estaba en esa época interesado en analizar la estructura genética del SV-40, un virus que infecta a ciertos primates. Cuando vio lo que Smith había descubierto, inmediatamente reconoció el potencial de la enzima para diseccionar el material genético del virus. En menos de dos años había publicado el primer artículo en *Nature New Biology* que describía el análisis de un virus con el empleo de enzimas de restricción.

Distinción otorgada en Chile a Ernesto Cásseres

El Colegio de Ingenieros Agrónomos de Chile acordó distinguir al Dr. Ernesto Cásseres, funcionario del IICA, con la calidad de Miembro Honorario de la Orden, en consideración a sus relevantes méritos profesionales y al permanente espíritu de colaboración volcado desde los importantes cargos que ocupa en nuestro país, hacia los profesionales chilenos, en especial los ingenieros agrónomos.

Ernesto Cásseres actualmente coordina la enseñanza agrícola superior en Chile, dentro de un convenio de ese país con el IICA. Su especialidad de horticultor le ha llevado a publicar libros sobre hortalizas y frutales que han servido de textos de enseñanza en América Latina. Durante doce años fue secretario de la Región Tropical de la American Society of Horticultural Science, en donde su labor entusiasta y tesonera mantuvo viva la agrupación, organizando las reuniones anuales, y editando los respectivos anales e informativos.

La entrega del galardón se realizó el 14 de diciembre en la ceremonia de entrega de los Premios Anuales que el Colegio otorga a colegas que se han destacado en el desempeño profesional, así como también a los que cumplen 50 años de titulados. El acto tuvo lugar en el Salón Filarmónico del Teatro Municipal de Santiago de Chile.