

# MELOIDOGYNE SALASI (NEMATODA: MELOIDOGYNIDAE) EN ARROZ EN VENEZUELA

Antonio Medina<sup>1</sup>, Renato Crozzoli<sup>2</sup>, Guillermo Perichi<sup>2</sup> y Damelis Jáuregui<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad nacional Experimental Rómulo Gallegos, Decanato de Agronomía, San Juan de los Morros, estado Guárico. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, <sup>2</sup>Instituto de Zoología Agrícola, <sup>3</sup>Instituto de Botánica Agrícola, Maracay, estado Aragua.

Recibido: 14 de enero de 2011

Aceptado: 31 de octubre de 2011

## RESÚMEN

Medina A., Crozzoli, R., Perichi G. y Jáuregui, D. 2011. *Meloidogyne salasi* (Nematoda: Meloidogynidae) en arroz en Venezuela. Fitopatol. Venez. 24:46-53.

*Meloidogyne salasi* es uno de los nematodos más importantes en el cultivo de arroz (*Oryza sativa*). Recientemente ha sido detectado en los estados Cojedes, Guárico y Portuguesa de Venezuela. En este trabajo se reportan los resultados de estudios taxonómicos, histopatológicos y de pruebas de patogenicidad. La población de *M. salasi* estudiada se corresponde morfológica y morfométricamente a la población original. La histopatología de las raíces reveló, en las agallas, la formación de células especializadas (células gigantes) en el cilindro central, disrupción del sistema vascular e hiperplasia del parénquima vascular. Fue evaluada la respuesta de las variedades de arroz Cimarrón y Fedearroz 50 al nematodo, manifestando ambas susceptibilidad; sin embargo, Fedearroz 50 mostró tolerancia a las poblaciones iniciales utilizadas.

Additional Key words: histopatología, nematodo agallador, *Oryza sativa*, patogenicidad, taxonomía

## ABSTRACT

Medina A., Crozzoli, R., Perichi G. and Jáuregui, D. 2011. *Meloidogyne salasi* (Nematoda: Meloidogynidae) on rice in Venezuela. Fitopatol. Venez. 24:46-53.

*Meloidogyne salasi* is one of the most important nematodes in rice (*Oryza sativa*) crop. Recently, it has been detected in Cojedes, Guárico and Portuguesa States of Venezuela. The results of taxonomic, histopathology and pathogenicity studies are reported. The population of *M. salasi* studied is morphologically and morphometrically similar to the original population. The histopathology of the roots at gall level revealed the formation of specialized cells (giant cells) in the stele, disruption of the vascular system, and hyperplasia of the vascular parenchyma. The evaluation of the response to the nematode of two varieties of rice, Cimarrón and Fedearroz 50, revealed that both varieties were susceptible; however, Fedearroz 50 showed tolerance at the initial populations tested.

Additional Key words: histopatology, *Oryza sativa*, pathogenicity, root-knot nematode, taxonomy

## INTRODUCCIÓN

*Meloidogyne salasi* López, 1984 es un nematodo muy importante en arroz, cultivo en el cual su patogenicidad ha sido demostrada (8). Hasta 2005 había sido señalado solamente en Costa Rica y Panamá (7,8), en ese año, Medina *et al.* (9) lo detectaron en las zonas productoras de arroz de los estados Cojedes, Guárico y Portuguesa. Actualmente es la especie más común en las raíces del cultivo, siendo mayor su incidencia a la siembra y en la fase previa a la cosecha, cuando se retira el agua. En las etapas de mayor humedad del cultivo, entre los 30 y 90 días, las poblaciones son bajas, coincidiendo con que, periodos de inundación prolongados, pueden llegar a controlar parcialmente al nematodo (9). En arroz de secano los daños son muy graves, produciéndose reducciones de rendimiento (7,10).

Medina *et al.* (10) señalaron la presencia de este nematodo en el 22, 29 y 62% de las muestras de raíces provenientes de arroz y encontraron poblaciones de hasta 1040, 8760 y 26480 nematodos/10 de raíces, en los estados Cojedes, Guárico y Portuguesa, respectivamente.

En Panamá su presencia fue estimada en más de 60% de las siembras de arroz y las pérdidas se ubican entre 5 y 20% (12). Sancho *et al.* (13) señalaron que poblaciones mayores a 999 huevos/100 cm<sup>3</sup> de suelo causan disminución del crecimiento, tanto de la parte aérea como de la parte radical, lo cual conlleva a una reducción considerable del

rendimiento. En muchas unidades de producción de los estados Guárico, Cojedes y Portuguesa pudieran estar causando notables reducciones de rendimiento ya que, en varias de éstas, la población de *M. salasi* sobrepasa la reportada por estos autores (10).

En Venezuela, la presencia simultánea de *M. salasi*, *Hirschmanniella* spp., *Tylenchorhynchus annulatus* (Cassidy) Golden y frecuentemente *Pratylenchus zaei* Graham, dificulta la evaluación del daño que causa cada nematodo. Estudios de control químico en parcelas infestadas simultáneamente por las primeras tres especies han demostrado que reduciendo las poblaciones de estos nematodos el rendimiento se incrementa notablemente (~ 40%). Para un control efectivo de *M. salasi* es necesario, además, eliminar las malezas, principalmente arroz negro y ciperáceas que son hospedantes alternativos excelentes para este nematodo (11). *Echinochloa colonum* (L.) Link y *Homolepis aturensis* (Kunth) Chase también han sido señaladas como hospedantes (7). La rotación de cultivos puede ser una práctica muy efectiva ya que *M. salasi* solamente se reproduce en Poaceae y Ciperaceae; sin embargo, la rotación debe venir acompañada con un buen manejo de estas malezas y eliminación de la soca.

Con la intención de conocer un poco más a esta especie se realizó un estudio taxonómico, histopatológico y se evaluó la reacción al nematodo de algunas variedades de arroz ampliamente cultivadas en Venezuela en las principales zonas productoras.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Caracterización taxonómica de *M. salasi*.** Muestras de suelo y raíces provenientes de arroz cultivado en Calabozo, estado Guárico, fueron separadas. El suelo se procesó utilizando el método de Cobb modificado; parte de las raíces se maceraron en licuadora y otras fueron seccionadas con la finalidad de extraer las hembras del nematodo (6).

Una vez obtenidos los juveniles y los machos, se fijaron en formol (2,5%) caliente (80 °C) y se almacenaron en un envase de vidrio cerrado herméticamente por una semana. Transcurrido ese lapso se montaron láminas permanentes siguiendo el método rápido de Seinhorst (6). Las hembras fueron estudiadas y medidas en glicerina.

Para caracterizar a cada estadio se realizaron mediciones y se calcularon relaciones entre algunas medidas. A cada medida o relación corresponden las siguientes abreviaturas: L=longitud del cuerpo; a=longitud del cuerpo/ancho máximo del cuerpo; b=longitud del cuerpo/longitud de la faringe; c=longitud del cuerpo/longitud de la cola; c'=longitud de la cola/ancho del cuerpo a nivel del ano; est=longitud del estilete; Pex=distancia desde el extremo anterior del nematodo al poro excretor; DEGO=distancia desde la base del estilete hasta el orificio de la glándula faríngea dorsal; EP/est=distancia de la cabeza hasta el poro excretor/longitud del estilete; espic=longitud de las espículas; gub=longitud del gubernáculo; n=número de ejemplares (3).

**Histopatología.** Para este estudio se seleccionaron raíces de arroz de 50 días de edad con agallas, se lavaron y se separaron de restos de suelo adheridos a ellas. Agallas y material sano se fijaron en una solución FAA (formalina, ácido acético, ethanol 50 %) y se embebieron en parafina. Con microtomo de rotación se cortaron secciones transversales y longitudinales de las agallas y tejido sano y se tiñeron con safranina y verde rápido según el método de Johansen (4). Se seleccionaron secciones de tejido con evidencia de lugares de alimentación de los nematodos y se compararon con tejido sano.

**Prueba de patogenicidad.** El estudio se realizó en el umbráculo de Nematología Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, en Maracay. Se evaluó la reacción de las variedades comerciales Cimarrón y Fedearroz 50 a diferentes poblaciones iniciales de *M. salasi*.

Para la obtención del inóculo, una masa de huevos del nematodo se multiplicó en plantas de arroz var Fedearroz 50 creciendo en una mezcla de un medio artificial estéril y suelo franco tratado por solarización. A partir de esa población y siempre en arroz var Fedearroz 50, se obtuvo el inóculo suficiente para la prueba, para la cual se sembraron semillas de las vars Cimarrón y Fedearroz 50 en 280 cm<sup>3</sup> de suelo franco tratado por solarización y contenidos en envases plásticos. Diez días más tarde se colocaron 0; 2; 4; 8 y 16 huevos (hv) + juveniles de segundo estadio (J2)/cm<sup>3</sup> de sustrato en contacto con las raíces abriendo 4 orificios alrededor del tallo de las plantas, agregando una cantidad de suspensión adecuada y tapándolos posteriormente. El inóculo se obtuvo de triturar por 2 min en licuadora las raíces de arroz infestadas y pasar la suspensión por una serie de tamices (100-200-500 malla), reteniendo hv y J2 en el tamiz de 500 mallas. Cada tratamiento se repitió 4 veces y los envases se colocaron de forma aleatoria sobre mesas. Las

plantas se regaron periódicamente con la finalidad de mantener una humedad adecuada para el crecimiento y desarrollo de las mismas. Cada 15 días se realizó una aplicación de Nitrofoska a razón de 2,5 g/L de agua al suelo.

Sesenta días más tarde se realizaron evaluaciones de peso total fresco (PTF), peso aéreo fresco (PAF), peso aéreo seco (PAS), peso radical fresco (PRF), índice de agallamiento (IA) e índice de masas de huevos (IMH) utilizando una escala donde: 1=0 agallas o masas de huevos; 2=3-10 agallas o masas de huevos; 3=11-30 agallas o masas de huevos; 4=31-100 agallas o masas de huevos; 5>100 agallas o masas de huevos (14).

Para la determinación de PTF, PAF, PAS y PRF, al final del ensayo se cosechó cada una de las plantas, se pesó tanto la parte aérea como las raíces. Posteriormente la parte aérea se llevó a colocó en estufa (80 °C) hasta alcanzar peso constante. Se determinaron las poblaciones finales tanto en el suelo como en las raíces y se calculó la tasa de multiplicación, la cual viene dada por la relación Población Final/Población Inicial (Pf/Pi). Los nematodos móviles fueron extraídos de una muestra de 100 cm<sup>3</sup> de suelo procesados por el método de Cobb modificado y provenientes de los envases individuales. Para extraer hv y J2 se procedió de la misma forma descrita para la extracción del inóculo. Con los valores obtenidos se realizaron análisis de varianza y las medias se compararon entre si con la prueba de Rango Múltiple de Duncan.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Caracterización de *M. salasi* (Fig. 1).** A continuación se reportan las mediciones de los especímenes de *M. salasi* según sexo y estadio de desarrollo provenientes de una población colectada en una siembra de arroz en Calabozo, estado Guárico y se describen.

### Medidas

15 hembras: L = 588 µm ± 72,5 (464-735); a = 1,9 ± 0,4 (1,4-3,1); est = 13 µm ± 0,9 (11-14); Pex = 29 µm ± 6,9 (19-40); Longitud del cuello = 151 µm ± 19 (123-181); Ancho del cuerpo a nivel del cuello = 75 µm ± 6,7 (65-84); DEGO = 3,1 µm ± 0,6 (2,4-4,8); Distancia vulva-ano = 17 µm ± 1,9 (13-19); EP/est = 2,1±0,4 (1,5-2,6).

15 machos: L = 1069 µm ± 99,4 (858-1200); a = 44 ± 3,5 (36,5-48,6); b = 7,2 ± 1 (5,8-9,4); c = 100 ± 13,3 (77-124); c' = 0,7 ± 0,1 (0,6-0,8); est = 15 µm ± 0,9 (13-17); DEGO = 4 µm ± 1 (3,5-6); Pex = 96,4 µm ± 10 (78-116); espic = 22 µm ± 2,6 (18-26); gub = 7 µm ± 1 (6-9).

15 juveniles de segundo estadio: L = 418 µm ± 29,3 (367-461); a = 27 ± 1,8 (24,6-31); b = 4,1 ± 0,4 (3,2-5,1); c = 7 ± 0,5 (6-8); c' = 6,3 ± 0,9 (4,8-7,8); est = 11 µm ± 1,4 (9-13); DEGO = 3 µm ± 0,5 (2,5-4); Pex = 66 µm ± 4,4 (57-78).

### Descripción

**Hembra.** Cuerpo redondeado, presencia de un cuello desplazado hacia la porción ventral del mismo. Protuberancias basales del estilete prominentes y redondeadas. Patrón perineal ovalado, alto, con pocas estrías continuas, lisas y separadas. La vulva conformada por una abertura transversal, lisa y con muy pocas líneas saliendo de sus lados. Fasmidios pequeños, cercanos a la región perineal. No hay evidencia de líneas longitudinales.

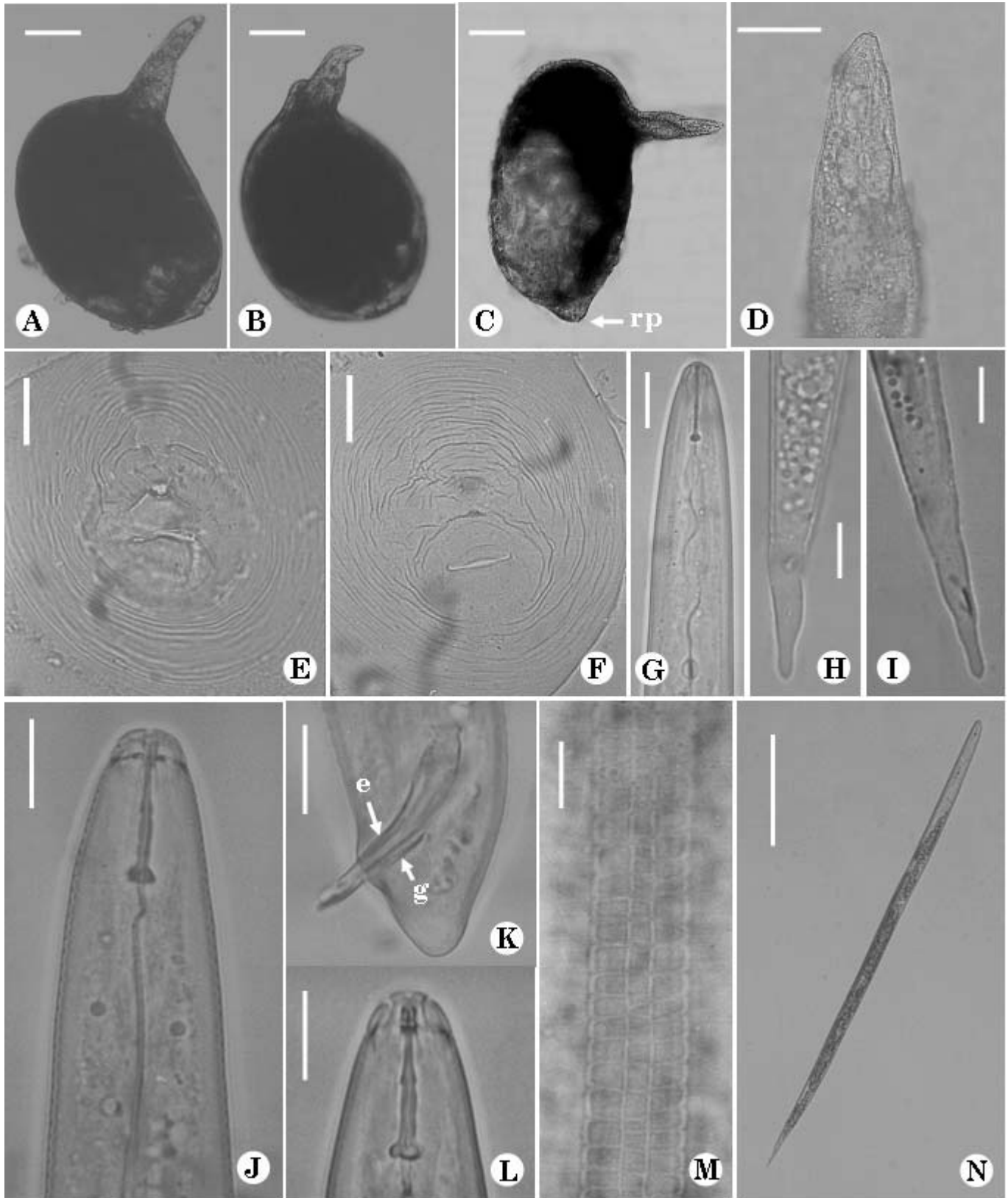


Fig. 2. *Meloidogyne salasi*. Hembra. A,B,C: Cuerpo entero (rp=región perineal); D: región anterior; E,F: Patrones perineales. Juvenil de segundo estadio. G: Región anterior; H,I: Cola; N: Cuerpo entero. Macho. J: Parte anterior; L: Región cefálica; K: Extremo posterior (e=espículas, g=gubernáculo); M: Campos laterales con aerolación (Barras en A,B,C,N = 100  $\mu$ m; en D = 50  $\mu$ m, en E,F = 20  $\mu$ m; en G,H,I,J,K,L,M = 10  $\mu$ m).

**Macho.** Región labial ligeramente contrastada y estrechándose hacia la parte superior. Presencia de 4 líneas longitudinales con campos completamente aerolados; en la mitad del cuerpo pueden observarse 5-6 líneas longitudinales interrumpidas. Estilete robusto, cono agudo y ligeramente más largo que el cilindro, protuberancias basales redondeadas. Terminación de la cola redondeada. Espículas largas y arqueadas, gubernáculo simple. Fasmídios ubicados en la cola.

**Juvenil de segundo estadio.** Cuerpo casi recto. Región labial ligeramente contrastada. Presencia de 4 líneas longitudinales con campos laterales completamente aerolados. Estilete débil con protuberancias basales redondeadas. Cola larga con terminación puntiaguda.

Las características morfológicas y morfométricas de la población venezolana estudiada se corresponden con la población original descrita por López (7).

**Histopatología.** En las plantas afectadas se pueden observar agallas en la puntas de las raíces jóvenes, enrollamiento y destrucción de las mismas (Fig. 2A-B). Las secciones de raíces revelaron hipertrofia e hiperplasia, desorganización y ruptura de los elementos xilemáticos y del resto. Los nematodos se alimentan de células gigantes (2-6 por espécimen) usualmente rodeando la cabeza de la hembra. Dichas células, con paredes más gruesas que las células normales, contienen citoplasma granular y numerosos núcleos y nucléolos hipertrofiados (Fig. 2D-H). Se puede apreciar también como el movimiento de los juveniles de segundo estadio en la zona cortical causa ruptura de las células produciendo cavidades (Fig. 2H). Los cambios anatómicos inducidos por *M. salasi* en este experimento son similares a los que inducen las especies de *Meloidogyne* en sus hospedantes (2). Al igual que lo señaló Heald (5) en pasto Bermuda infestado por *Meloidogyne graminis* (Sledge & Golden) Whitehead el nematodo se ubica en el tejido adyacente al sistema vascular y solamente la cabeza y parte anterior del cuello se extienden dentro del tejido vascular.

**Prueba de patogenicidad.** La acción del nematodo afectó significativamente ( $p < 0,05$ ) el PTF y el PAF de la var Cimarrón a partir de una población inicial de 4 hv+

J2/cm<sup>3</sup> de suelo. El PAS y PRF no fueron afectados significativamente por la acción del nematodo. Se aprecia una mayor reducción de las variables agronómicas a medida que aumenta la población inicial, efecto ya evidenciado por Sancho *et al.* (13). El mayor IA con un valor de 3 fue alcanzado en las plantas inoculadas con 8 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo, valor significativamente superior al alcanzado por las plantas inoculadas con 2 y 4 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo y pero no con respecto a las plantas inoculadas con 16 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo. Con respecto al IMH, el mayor fue alcanzado en las plantas inoculadas con 8 y 16 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo con un valor de 2,5, significativamente superior al IMH alcanzado en las plantas inoculadas con 2 y 4 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo. La mayor población final, con 27375 hv+J2/planta, fue alcanzada por *M. salasi* en las plantas inoculadas con 8 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo, significativamente superior a las poblaciones alcanzadas en las plantas inoculadas con 2 y 4 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo, pero no con respecto a las inoculadas con 16 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo. La mayor TM, con 11,4, fue alcanzada en las plantas inoculadas con 8 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo, valor significativamente superior al resto de las TM (Cuadro 1).

En “Fedearroz 50”, ninguna variable agronómica medida fue afectada significativamente por el nematodo con ningún nivel de inóculo. Sin embargo, el nematodo se reprodujo y mostró los mayores IA e IMH en las plantas significativamente superiores con respecto a los alcanzados en las plantas inoculadas con 2 y 4 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo. La mayor población final y significativamente superior al resto, con 31685 hv+J2/planta, fue alcanzada con la población inicial de 16 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo, en cambio, la mayor TM fue alcanzada en las plantas inoculadas con 2 hv+J2/cm<sup>3</sup> de suelo (Cuadro 1).

De acuerdo a estos resultados, la patogenicidad del nematodo en el cultivo quedó demostrada y, en general, los daños aumentaron al aumentar el nivel de inóculo. Si comparamos el comportamiento agronómico de las dos variedades, podemos observar que “Cimarrón” es menos tolerante que “Fedearroz 50”; ya que en esta última ninguna variable medida fue afectada significativamente por la acción de *M. salasi* a las poblaciones iniciales probadas. Sin embargo, ambas mostraron susceptibilidad al nematodo al permitir su reproducción, según el esquema propuesto

Cuadro 1. Población inicial (Pi), población final (Pf) y tasa de multiplicación (TM) de *Meloidogyne salasi*, índice de agallamiento (IA), índice de masas de huevos (IMH) inducidas por el nematodo y peso total fresco (PTF), peso aéreo fresco (PAF), peso radical fresco (PRF) y peso aéreo seco (PAS) de las plantas de las dos variedades de arroz inoculadas con diferentes Pi (hv=huevos; J2=juveniles de segundo estadio).

Variedad	Pi (hv+J2/cm <sup>3</sup> de suelo)	PTF (g)	PAF (g)	PRF (g)	PAS (g)	IA (1-5)	IMH (1-5)	Pf (hv+J2/planta)	TM (Pf/Pi)
Cimarrón	0	13,5 a <sup>(1)</sup>	6,6 a	6,9	2,3				
	2	10,5 ab	5,1 ab	5,4	1,8	1,5 c	1,3 b	3615 b	6,0 b
	4	10,0 b	4,5 b	5,5	2,0	1,8 bc	1,5 b	6865 b	5,7 b
	8	10,0 b	4,7 b	5,3	1,9	3,0 a	2,5 a	27375 a	11,4 a
	16	8,4 b	3,9 c	4,5	1,4	2,5 ab	2,5 a	24250 a	5,0 b
Fedearroz 50	0	11,4	4,8	6,6	1,7				
	2	8,7	3,8	4,9	1,2	1,3 b	1,0 b	9366 b	15,5 a
	4	8,9	3,9	5,0	1,5	1,5 b	1,3 b	12595 b	10,5 b
	8	7,8	3,7	4,1	1,5	2,0 a	2,0 a	14380 b	6,0 c
	16	8,5	4,1	4,5	1,6	2,3 a	1,8 a	31685 a	6,6 c

<sup>(1)</sup>Los valores señalados con la misma letra minúscula no presentan diferencias significativas entre si, según la Prueba de Rango Múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ).

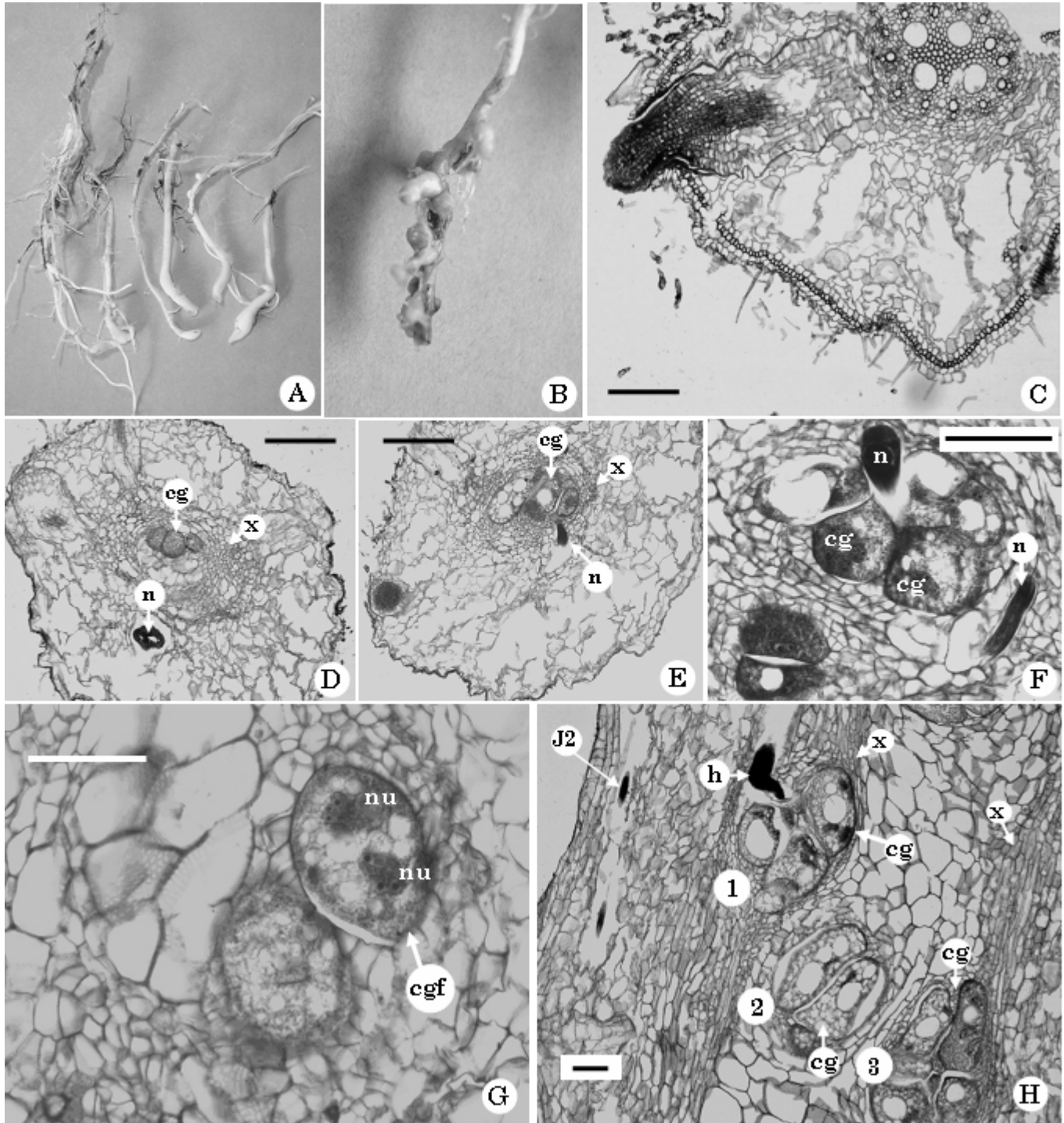


Fig. 2. Raíces de plantas de arroz infectadas por *Meloidogyne salasi*. A: Agallas terminales; B: Raíces absorbentes reducidas a pequeños muñones; C: Sección transversal de una raíz no infectada, nótese el sistema vascular sano; D, E, F: secciones transversales de raíces infectadas mostrando a las hembras del nematodo (n) y células gigantes (cg) multinucleadas, elementos xilemáticos anormales y comprimidos; G: Célula gigante en formación (cgf), se observan dos grupos de núcleos (nu); H: Sección longitudinal de una raíz donde se observa una hembra del nematodo (h), tres lugares de alimentación (1,2,3) conformados por células gigantes (cg), elementos xilemáticos distorsionados y comprimidos y un juvenil de segundo estadio (J2) en la región cortical, nótese la cavidad alrededor de su cuerpo (Barras en C,D,E = 100  $\mu$ m; en F,G,H = 50  $\mu$ m).

por Cook (1). No obstante, la información debe completarse realizando ensayos con mayores niveles poblacionales iniciales debido a que el comportamiento de estas y otras variedades puede ser diferente frente a diferentes presiones de inóculo, aunado a que en campo se han encontrado frecuentemente poblaciones aún mayores a las utilizadas en esta prueba (10).

### LITERATURA CITADA

1. Cook, R. 1974. Nature and inheritance of nematode resistance in cereals. *J. Nematol.* 6:165-174.
2. Crozzoli, R., Cati, F. y Vovlas, N. 1994. Respuesta de diez selecciones de batata al nematodo *Meloidogyne incognita*. *Fitopatol. Venez.* 7:50-54.
3. Crozzoli, R., Lamberti, F., Greco, N. y Rivas, D. 1998. Nematodos fitoparasíticos asociados con los cítricos en Venezuela. *Nematol. medit.* 26:31-58.
4. Di Vito, M., Crozzoli, R. and Vovlas, N. 2000. Pathogenicity of *Meloidogyne exigua* on coffee (*Coffea arabica* L.) in pots. *Nematropica* 30:55-61.
5. Heald, C.M. 1969. Pathogenicity and histopathology of *Meloidogyne* infecting "Tifdwarf" Bermudagrass roots. *J. Nematol.* 1:31-34.
6. S'Jacob, J. and van Bezooijen, J. 1971. A manual for practical work in nematology. Wageningen Agricultural University, The Netherland. Pp. 11-17.
7. López, R. 1984. *Meloidogyne salasi* sp.n. (Nematoda: Meloidogynidae), a new parasite of rice (*Oryza sativa* L.) from Costa Rica and Panamá. *Turrialba* 34:275-286.
8. López, R. 1991. Primer hallazgo de *Meloidogyne salasi* en arroz en la provincia de Guanacaste. *Agronomía Costarricense* 15:189-191.
9. Medina, A., Crozzoli, R. y Perichi, G. 2005. *Meloidogyne salasi* (Nematoda: Meloidogynidae) asociado con el cultivo del arroz en Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 18:66 (Resumen).
10. Medina, A., Crozzoli, R. y Perichi, G. 2009. Nematodos fitoparásitos asociados a los arrozales en Venezuela. *Nematol. medit.* 37:59-66.
11. Medina, A., Crozzoli, R. y Perichi, G. 2009. Control químico de nematodos fitoparásitos en arroz, *Oryza sativa*, en el estado Guárico, Venezuela. *Nematol. medit.* 37: 175-180.
12. Pinochet, J. 1985. Control de problemas de nematodos en Panamá desde una perspectiva de manejo integrado de plagas. *Nematropica* 15:121.
13. Sancho, C.L., Salazar, L. y López, R. 1985. Efecto de la densidad inicial del inóculo sobre la patogenicidad de *Meloidogyne salasi* en tres cultivares de arroz. *Agronomía Costarricense* 11:233-238.
14. Taylor, A.L. and Sasser, J.N. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). North Carolina State University Graphics, Raleigh, USA. 105 pp.