

## **Detección de hongos parásitos de huevos de *Meloidogyne* en cultivos hortícolas.**

Santoro, I, Sorribas, F. J.\* , Ornat, C., Sabater, M\*, Verdejo-Lucas, S.

Departamento de Protección Vegetal. IRTA. Crta. de Cabrils s/n. 08348 Cabrils  
Barcelona

\*Departamento de Agronomía. ESAB. Comte d'Urgel 08036 Barcelona.

### **RESUMEN**

El principal género de nematodos fitoparásitos que limita la producción hortícola a nivel mundial es *Meloidogyne*. El control del nematodo se realiza principalmente mediante la desinfestación del suelo y el uso de nematicidas. El bromuro de metilo es la materia activa utilizada más frecuentemente. Sin embargo, la prohibición del uso de este plaguicida por su impacto medioambiental negativo obliga a diseñar nuevas estrategias de control. Se realizó un muestreo para aislar e identificar hongos parásitos de huevos de *Meloidogyne* en cultivos hortícolas de las provincias de Barcelona (22 parcelas) y Almería (35 parcelas). Los hongos identificados pertenecían a los géneros *Fusarium* (14 parcelas) y *Verticillium* (4 parcelas). Estos aislados se aislaron y establecieron en cultivo puro.

## INTRODUCCIÓN.

*Meloidogyne* spp. es el principal género de nematodos fitoparásitos que limita la producción hortícola a nivel mundial. Actualmente, el control del nematodo se realiza principalmente mediante la desinfestación del suelo y el uso de nematicidas. El bromuro de metilo, la materia activa que se muestra más eficaz, se utiliza frecuentemente para el control de los nematodos en algunas zonas del país. Sin embargo, este plaguicida será retirado del mercado en un futuro próximo de acuerdo con el protocolo de Montreal. Por tanto, es necesario encontrar estrategias alternativas para el control de los nematodos.

Los enemigos naturales de los nematodos incluyen un amplio grupo de organismos entre los cuales se encuentran los hongos parásitos de huevos. Dentro de este grupo de hongos nematófagos destaca *Verticillium chlamydosporium* por su potencial como agente de control biológico de nematodos de los géneros *Heterodera* y *Meloidogyne* (Kerry, 1995). Este hongo tiene una amplia distribución mundial pero su frecuencia de aparición en España no se había determinado.

Los resultados de un muestreo realizado con el objetivo de aislar e identificar hongos parásitos de huevos de *Meloidogyne* en cultivos hortícolas se presentan en este trabajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

Se realizó un muestreo para detectar parasitismo fúngico de huevos de *Meloidogyne* en dos zonas de España que representan sistemas de producción hortícola intensiva pero con diferentes prácticas agrícolas, ciclos de cultivos y climatología. Las parcelas muestreadas estaban situadas en las provincias de Barcelona (22 parcelas) y Almería (35 parcelas). Estas parcelas se seleccionaron porque actualmente estaban infestadas por nematodos y la selección de las mismas se realizó con la colaboración de técnicos de Agrupaciones de Defensa Vegetal (Barcelona) y técnicos de Cooperativas Agrícolas (Almería). Las muestras se recolectaron justo antes de finalizar el cultivo de primavera en 1998. Cada muestra estaba constituida por raíces con agallas procedentes de 6-10 plantas tomadas al azar de cada una de las parcelas.

Para el aislamiento de los hongos parásitos de huevos, se recolectaron unas 40 masas de huevos de una submuestra de raíces infectadas con la ayuda de unas pinzas, éstas se colocaron en un tubo eppendorff y homogeneizaron en 1-2 gotas de agua con un embolo para liberar los huevos contenidos en las masas de huevos. Se añadió 1ml de agua esterilizada al eppendorff y pipetearon alícuotas de la suspensión de huevos en tres placas Petri que contenían un medio restrictivo del crecimiento fúngico (López-Llorca y Duncan, 1986). Los huevos se distribuyeron por la superficie de la placa mediante un ligero movimiento de la misma y las placas se incubaron a 25°C en la oscuridad. Al cabo de 48 horas, se observaron las placas para determinar el parasitismo de los huevos. Estos huevos parasitados se transfirieron individualmente a un medio de "corn-meal agar" (CMA), con objeto de

establecer cultivos puros de los hongos. La identificación de los aislados fungicos se realizó basándose en sus características morfológicas a partir de cultivos puros de los hongos (Barnett y Hunter, 1972, Gams, 1988).

Las especies de *Meloidogyne* que infestaban las parcelas muestreadas se identificaron morfológicamente mediante el patrón perineal de las hembras adultas (Eisenback, 1981) y su fenotipo de esterasas (Davies y Beadle, 1995).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron huevos de *Meloidogyne* parasitados por hongos en el 50% y 43% de las muestras procedentes de Barcelona y Almería, respectivamente. Las especies fungicas identificadas pertenecían a los géneros *Verticillium* y *Fusarium* y este género se detectó con mayor frecuencia que *Verticillium*. (Tabla 1). Las tres especies de *Meloidogyne* de mayor distribución mundial, *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria* se identificaron en la provincia de Barcelona, mientras que en Almería, sólo se detectó *M. incognita* (14 parcelas) y *M. javanica* (21 parcelas).

Tabla 1. Detección de hongos parásitos de huevos de *Meloidogyne* en cultivos hortícolas de las provincias de Barcelona y Almería.

Provincia	Parcelas muestreadas	Superficie (ha)	Especies de <i>Meloidogyne</i> *	Parasitismo de huevos (%)	Nº. aislados <i>Verticillium</i>	Nº. aislados <i>Fusarium</i>
Barcelona	22	6,4	Mi, Mj, Ma	50	3	8
Almería	35	21	Mi, Mj	43	1	6

\**M. incognita*, *M. Javanica*, *M. arenaria*.

El origen de los aislados de los hongos nematófagos aislados de los huevos de *Meloidogyne* se indica en la Tabla 2. Los aislados de *Verticillium* procedentes de Barcelona pertenecían a la especie *V. chlamydosporium* y se detectaron en cultivos al aire libre.

Un resultado interesante de este trabajo fue el aislamiento de 14 aislados de *Fusarium* de huevos de *Meloidogyne*. Este hongo ha sido descrito previamente como enemigo natural de nematodos fitoparásitos y de otros hongos fitopatógenos. Sin embargo, antes de determinar el potencial de estos aislados como agentes de control biológico de nematodos habría que descartar en primer lugar su patogenicidad para la planta.

Las parcelas muestreadas en este estudio eran representativas de la agricultura intensiva que se realiza en muchas zonas del Mediterráneo. En estos sistemas productivos, los suelos están muy alterados como consecuencia del uso frecuente de productos fitosanitarios (Caballero, 1996) y por la intensividad con que se realizan los cultivos (Puiggròs Jové, 1998). Ambas circunstancias explicarían la baja incidencia de las especies de *Verticillium* en las zonas muestreadas. Por otra parte, el hallazgo de *V. chlamydosporium* en estas parcelas indica que el hongo está adaptado a las condiciones locales y estos aislados podrían ser buenos candidatos para ser desarrollados como agentes de control biológico de *Meloidogyne*.

Tabla 2. Origen de las aislados de *Verticillium* y *Fusarium* aisladas de huevos de *Meloidogyne*.

Hongo	Código	<i>Meloidogyne</i>	Cultivo	Tipo de cultivo	Provincia
Verticillium	AL-V-30	<i>M. javanica</i>	Tomate	Invernadero	Almería
	BN-V-69	<i>M. javanica</i>	Pimiento	Aire libre	Barcelona
	BN-V-75	<i>M. incognita</i>	Calabaza	Aire libre	Barcelona
	BN-V-81	<i>M. javanica</i>	Tomate	Aire libre	Barcelona
Fusarium	AL-F-2	<i>M. incognita</i>	Berenjena	Invernadero	Almería
	AL-F-7	<i>M. incognita</i>	Tomate	Invernadero	Almería
	AL-F-9	<i>M. javanica</i>	Tomate	Invernadero	Almería
	AL-F-12	<i>M. incognita</i>	Tomate	Invernadero	Almería
	AL-F-25	<i>M. incognita</i>	Sandía	Invernadero	Almería
	AL-F-59	<i>M. javanica</i>	Tomate	Invernadero	Almería
	BN-F-60	<i>M. javanica</i>	Pepino	Invernadero	Barcelona
	BN-F-61	<i>Meloidogyne</i> spp.	Tomate	Invernadero	Barcelona
	BN-F-65	<i>Meloidogyne</i> spp.	Pepino	Invernadero	Barcelona
	BN-F-68	<i>M. incognita</i>	Tomate	Invernadero	Barcelona
	BN-F-70	<i>Meloidogyne</i> spp.	Calabaza	Aire libre	Barcelona
	BN-F-71	<i>Meloidogyne</i> spp.	Sandía	Aire libre	Barcelona
	BN-F-76	<i>Meloidogyne</i> spp.	Pepino	Invernadero	Barcelona
	BN-F-81	<i>Meloidogyne</i> spp.	Tomate	Aire libre	Barcelona

La caracterización de los aislados de *V. chlamydosporium* es necesaria para determinar el potencial de las mismas como agentes de control biológico ya que existe una gran variabilidad en la capacidad del hongo para colonizar la superficie de la raíz y en la producción de clamidosporas (Kerry, 1995). Ambas características son importantes para la utilización de estos hongos nematófagos como agentes de control biológico de *Meloidogyne*. Este proceso de caracterización está actualmente en curso en nuestro laboratorio.

## BIBLIOGRAFÍA

- BARNETT, H. L., HUNTER, B. B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Third edition Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota, USA. 241 pp.
- CABELLO, T. 1996. Utilización de pesticidas en cultivos de invernaderos del sur de España y análisis de los riesgos toxicológicos y medio ambientales. *Phytoma España*. 75: 11-19.
- DAVIES, K. G., BEADLE, J. I. 1995. Use of a cellulose acetate electrophoresis system for the simultaneous characterisation of individual root-knot (*Meloidogyne*

spp.) females using three isozymes. *Fundamental Applied Nematology*. 18: 549-551.

EISENBACK, J.D., HIRSCHMANN, H., SASSER, J. N., TRIANTAPHYLOU, A. C. 1981. A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), with a pictorial key. Coop. Publ., North Carolina State University, and U. S. Agency Int. Dev., Raleigh, North Carolina. 48 pp.

GAMS, W. 1988. A contribution to the knowledge of nematophagus species of *Verticillium*. *Netherland Journal Plant Pathology* (1988): 123-148.

KERRY, B. R. 1995. Ecological considerations for the use of the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium*, to control plant parasitic nematodes. *Canadian Journal of Botany*. 73: 65-70.

LÓPEZ –LLORCA, L. V. 1986. New media for the estimation of fungal infection in eggs of the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae* Wool. *Nematologica* 32: 486-490.

ORNAT, C. 1998. Epidemiología de *Meloidogyne* spp. en cultivos hortícolas. Tesis doctoral. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona.

PUIGGRÒS, JOVÉ, J. M. 1998. Situación de las resistencias a los insecticidas en España desde el punto de vista de la industria. *En: resistencia a los pesticidas en los cultivos hortícolas*. Cuadrado I, Viñuela, E. (Eds.). Fiapa. Pp. 65-78.

SORRIBAS, F. J., VERDEJO-LUCAS, S. 1994. Survey of *Meloidogyne* spp. in tomato productions fields of Baix Llobregat county, Spain. *Journal of Nematology*. 26: 731-736.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los técnicos de las Agrupaciones de Defensa Vegetal y de Cooperativas Agrícolas la ayuda prestada en la selección de las parcelas. Este trabajo ha sido financiado por la Unión Europea, proyecto FAIR-CT97-3444.