

Ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* (KOFROID Y WHITE) Chitwood en dos cultivares de *Phaseolus vulgaris* L.



Life cycle of *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood on two cultivars of *Phaseolus vulgaris* L.

<https://eqrcode.co/a/7c5LVa>

Daine Hernandez-Ochandía*, Dayris García Perera, Ileana Miranda Cabrera, Mayra G. Rodríguez Hernández

Grupo de Plagas Agrícolas, Dirección de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El experimento se desarrolló en condiciones semicontroladas, entre los meses enero y marzo de 2017, con el objetivo de determinar la duración del ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood y la producción de huevos por hembras adultas en plantas de frijol (*P. vulgaris*) de los cultivares 'BAT-306' y 'Triunfo-70'. Las macetas con las plantas se mantuvieron en los aisladores del CENSA a temperatura de 28°C, con riego en días alternos y se inocularon con 2000 J₂ de *Meloidogyne incognita*, provenientes de una población pura. Para el análisis del ciclo de vida, las raíces se lavaron con agua corriente, se observaron externamente y las zonas voluminosas o con agallas bien definidas se abrieron para contabilizar los diferentes estadios larvales y estados adultos. Una vez que aparecieron las primeras hembras adultas, se continuó la evaluación hasta las 96 horas posteriores a la aparición de hembras con ootecas. De las muestras de plantas con raíces que contenían ootecas, se extrajeron diariamente, al azar, 20 hembras con sus ootecas y se contabilizó el número de huevos x hembra⁻¹. A partir de 24 horas de la inoculación, se encontró presencia de J₂ en las plantas de ambos cultivares. El cultivar 'BAT-306' resultó ser el cultivar susceptible y su ciclo se completó en 28-29 días; mientras que, el cultivar 'Triunfo-70' resultó resistente y *M. incognita* no completó el ciclo biológico.

Palabras clave: frijol común, nematodos agalleros.

ABSTRACT: The experiment was conducted under semi-controlled conditions from January to March 2017 with the objective of determining the duration of the life cycle of *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood and the egg production per adult females on plants of the common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars 'BAT-306' and 'Triunfo-70'. The pots with the plants inoculated with 2000 J₂ from a pure population of *M. incognita* were maintained at 28°C in isolators at CENSA and irrigated every other day. For the analysis of the life cycle, the roots were washed with tap water, examined externally, and the swollen areas or with well-defined galls were opened to count the different larval stages and mature states. Once the first mature females appeared, the evaluation was continued until 96 hours after the appearance of females with eggs. From the samples of plants with roots that contained eggs, 20 females with their eggs were taken at random daily, and the number of eggs x female⁻¹ was counted. The presence of J₂ on the plants of both cultivars started being detected 24 hours after inoculation. 'BAT-306' resulted a susceptible cultivar, and *M. incognita* cycle was completed in 28-29 days, while the cultivar 'Triunfo-70' was resistant and the nematode did not complete its biological cycle.

Key words: common beans, Root Knot nematode.

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L.) constituye la leguminosa de mayor consumo en América Latina, por su aporte de proteínas, carbohidratos y minerales. Se encuentra distribuido en los cinco continentes y es componente esencial de la dieta humana. Esta leguminosa es el segundo renglón en importancia agrícola a escala mundial después de los cereales, por área cosechada y por producciones totales (1); anualmente se cultivan millones de hectáreas

Los organismos internacionales como la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y la Organización de Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) identificaron los frijoles como alimentos vinculados a la seguridad alimentaria de las poblaciones en zonas de bajos ingresos (2). Numerosos son los factores que inciden en que

las producciones se vean afectadas: climáticos, tecnológicos, uso ineficiente de las tierras e incidencia de plagas (3). Dentro de estas plagas se encuentran los nematodos fitoparásitos.

Los nematodos agalleros son reconocidos por ser plagas importantes de las leguminosas a escala internacional y, en el caso del frijol, ocasionan desde el 50 al 90 % de las pérdidas de frijol en el campo (4). En Cuba, Martínez *et al.* (5) indicaron que el frijol puede ser afectado por *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus coffeae*. Actualmente en Cuba, los genotipos de frijol 'BAT-306' y 'Triunfo-70' son usados fundamentalmente por sus potencialidades dentro de los estudios de resistencia, lo que los hace atractivos, tanto para los programas de mejoramiento genético como para los sistemas de producción de este cultivo en el país (6, 7).

*Correspondencia a: Daine Hernandez-Ochandía. E-mail: daineh@censa.edu.cu

Recibido: 19/3/2021

Aceptado: 6/7/2021

El estudio del ciclo de vida de estos nematodos y de su potencial reproductivo en buenos hospedantes bajo determinados parámetros ambientales, ofrece elementos para su manejo en campo. Por esto es necesario realizar investigaciones en el contexto actual, donde factores como la temperatura comienzan a experimentar variaciones en las condiciones de Cuba con impacto negativo en la agricultura.

La especie *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood posee una gama de hospedantes potenciales en todo el mundo de unas 3000 especies de plantas (8). En Cuba, se conoce que *M. incognita* raza 2 es la especie/raza de nematodo agallero más distribuida en todo el país (9). El uso de cultivares resistentes representa una opción de manejo de plagas muy deseable; sin embargo, no siempre se posee información acerca del comportamiento de los genotipos de uso habitual frente a nematodos agalleros. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el ciclo biológico de una población cubana de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, en dos cultivares cubanos de frijoles negros.

El experimento se desarrolló en condiciones semi-controladas, entre los meses enero y marzo de 2017; se utilizaron plantas de frijol (*P. vulgaris*) de los cultivares 'BAT-306' y 'Triunfo-70'. Las semillas se colocaron en macetas de 1 kg de capacidad, que contenían una mezcla de suelo y abono orgánico, previamente estilizado a 121°C durante dos horas. Las macetas con las plantas, se mantuvieron en los aisladores del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) a temperatura de 28°C, con riego en días alternos, hasta que tuvieron dos pares de hojas verdaderas, momento en que se inocularon con 2000 J₂ de *Meloidogyne incognita* provenientes de una población pura. Un día después de la inoculación, se inició la extracción de tres plantas, con su sistema radicular, cada 24 horas, maniobra que culminó 96 horas después que aparecieron, en las hembras adultas, las primeras bolsas de huevos u ootecas.

Cada día, las plantas se trasladaron al Laboratorio de Nematología Agrícola del CENSA, donde el sistema radicular de cada una se lavó cuidadosamente con agua corriente y se coloreó con fuscina ácida (0,05 %) al calor (10), preservándose hasta su análisis, en placas Petri con lactofenol sin colorante. Para el análisis, las raíces se lavaron con agua corriente; para eliminar

el exceso de colorante, se observaron externamente y las zonas voluminosas o con agallas bien definidas se abrieron, cuidadosamente, bajo un microscopio estereoscopio ZEISS® STEMI DV4® con aumento de 20x, para contabilizar los diferentes estadios larvales y estados adultos. El estado de desarrollo de cada espécimen extraído se clasificó desde J₂ a hembra adulta con ootecas y su registro, en cada categoría, se hizo siguiendo los criterios referidos por Triantaphyllou y Hirschmann (11). Los especímenes/estadios o estados se observaron y fotografiaron con una cámara (CANNON® 4.6mpx) acoplada al microscopio estereoscópico Zeiss® STEMI DV4 con aumento 40x. Cuando aparecieron las primeras hembras adultas, se continuó con la extracción y el análisis de plantas, que se evaluaron hasta las 96 horas posteriores a la aparición de hembras con ootecas. De las muestras de plantas con raíces que contenían ootecas, se extrajeron diariamente, al azar, 20 hembras con sus ootecas y se contabilizó el número de huevos x hembra⁻¹. Los datos, relativos al número de nematodos encontrados por estadio de desarrollo por día, se vertieron en una base de datos en Excel y se expresaron en cantidad de días de duración de cada estadio o estado. Los valores relativos al número de huevos por hembra x día⁻¹ se sometieron a Análisis de Varianza Simple y las medias se compararon a través de Dócima de Rango Múltiple de Duncan ($p \leq 0,05$), utilizando el Paquete Estadístico SAS, Versión 9.0.

A partir de las 24 horas de la inoculación, ya había J₂ en las plantas de ambos cultivares (aunque en bajo número, de 1 a 5 J₂). En 'BAT-306', el cultivar susceptible, el ciclo se completó en 28-29 días; mientras que, en el cultivar resistente, 'Triunfo-70', *M. incognita* no se completó el ciclo biológico de fitonematodo. (Tabla 1)

Los resultados de este estudio, relacionados con el hallazgo, en el cultivar resistente 'Triunfo-70', de juveniles de segundo y tercer estadios solamente, coinciden con lo observado por Sasser (12) en su estudio de desarrollo de *Meloidogyne* spp., en cultivares susceptibles y resistentes, donde en cultivares resistentes, aunque un número considerable de juveniles penetraron, no hubo prácticamente desarrollo de los juveniles más allá de los primeros estadios juveniles, apuntando que, los juveniles no llegan a alimentarse en las células de las plantas. Por su parte, Abawi y Varón de

Tabla 1. Estados de desarrollo y duración en días de los estadios y estados del ciclo de *M. incognita* (T=20-22°C) en los cultivares 'BAT-306' (susceptible) y 'Triunfo-0' (resistente). / States of development and duration in days of the cycle stages and states of *M. incognita* (T=20-22°C) on the cultivars 'BAT-306' (susceptible) and 'Triunfo-70' (resistant).

Estadios/ cultivar	'BAT-306'	'Triunfo-70'
J ₂	1-17	1-15
J ₃	17 al 23	18-24
J ₄	24 al 28	-
hembras	29 al 33	-
Ciclo total	29 días	No se completó

Agudelo (13) indicaron que en cultivares susceptibles de frijol, a los 10 días de la penetración del juvenil de *Meloidogyne* spp., se nota un ligero daño en las plantas; lo que se corresponde, según estos resultados, con el efecto del J₂ y J₃ en su actividad en los sitios de alimentación. Al respecto, Sasser (12) concluyó que, en las plantas susceptibles, los juveniles comienzan a alimentarse, lo que se evidenció por el porcentaje de individuos que se desarrollan más allá de los primeros estadios juveniles.

A partir de los 29 días, la cantidad de huevos por hembra mostró diferencias significativas en el cultivar 'BAT-306' (Fig.1). Se observaron huevos en las hembras maduras, con valores medios superiores a 50 huevos por hembra. Este aspecto resulta de interés para productores, pues a partir de ese momento, se comienzan a producir reinfestaciones en las plantas que hospedan a estas hembras y las vecinas pues, tal como se constató antes, no se forman grandes agallas, las ootecas o bolsas de huevos son expuestas o externas a la raíz. Es necesario resaltar que a partir de los 30 días las hembras se encuentran bien desarrolladas y fueron capaces de producir como promedio un centenar de huevos/hembra, valor que aumentó por día, sobrepasando los 200 huevos a partir de los 32 días (Fig.1) que representarán el inóculo para la siguiente generación.

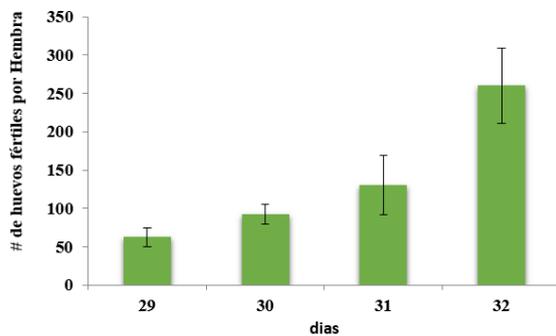


Figura 1. Número de huevos fértiles producidos por *M. incognita* en el cultivar 'BAT-306', a partir de los 29 y hasta los 32 días, momento en que se interrumpió el estudio. / Number of eggs per *M. incognita* female on 'BAT-306' from 29 to 32 day, when the study was finished.

En el cultivar resistente, 'Triunfo-70', no se completó el ciclo con las densidades de inóculos utilizados en este estudio. Por ello, en los estudios de comportamiento o capacidad hospedante de diversos cultivares se deberán utilizar varios niveles poblacionales, incluyendo niveles superiores para constatar el comportamiento de 'Triunfo-70'.

En ambos cultivares se observaron hojas cloróticas y raquitismo, síntoma más acentuado en el cultivar 'BAT-306', el que mostró una sintomatología aérea

típica relacionada con el ataque del nematodo como achaparramiento, disminución del área foliar, raquitismo y presencia de hojas cloróticas.

Por su parte, en el cultivar 'Triunfo-70' no se formaron grandes agallas y no se observó la presencia de ootecas o bolsas de huevos.

Los síntomas típicos causados por los nematodos agalleros (*Meloidogyne* spp.) pueden abarcar toda la planta y van desde las partes aéreas hasta las subterráneas. Los síntomas foliares generalmente abarcan: detención del crecimiento, marchitamiento, clorosis, raquitismo y otros semejantes a las deficiencias nutricionales (14). Las plantas del cultivar 'BAT-306' mostraron una sintomatología aérea típica relacionada con el ataque del nematodo como achaparramiento, disminución del área foliar, raquitismo y presencia de hojas cloróticas; siempre más acentuada que en el cultivar 'Triunfo-70'. En las raíces, se observó un agallamiento leve, con agallas de pequeño tamaño (Fig.2). En la mayoría de los casos no se produjeron agallas típicas en forma de collares o cuencas a manera de pequeños abultamientos con ootecas en las raíces adventicias, indicativo de la presencia del nematodo.

Después de haber encontrado el sitio ideal para la alimentación, el J₂ se vuelve sedentario e inmóvil y comienza a ensancharse, por lo que cambia totalmente su forma de gusano aguzado en ambos extremos, por la de salchicha (Fig. 3). La presencia de agallas bien desarrolladas y de hembras adultas con bolsas de huevos confirmó la exitosa culminación del ciclo de vida (Figs. 2 y 3).

Se conoce que los J₂ penetran las raíces de los hospedantes y se concentran en zona apical, mediante el uso del estilete protractil y por la liberación de secreciones que contienen enzimas que degradan las paredes celulares. Luego, comienzan a moverse intercelularmente, causando el mínimo daño a la célula, hasta encontrar un sitio de alimentación adecuado para permanecer durante todo su ciclo de vida (8).

Los nematodos formadores de agallas experimentan cambios notables en su morfología durante su ciclo biológico, transformándose del juvenil (J₂), a través de varias mudas, en hembras o machos adultos. La extensión de su ciclo depende de factores como la temperatura y la susceptibilidad del hospedante. A temperaturas de 28°C, la duración del ciclo de vida es de 29 días, y a partir de ahí se tendrá inóculo suficiente para la siguiente generación; información útil que se debe tener en cuenta para utilizar el cultivar 'BAT-306' como cultivo de rotación en los sistemas agrícolas. Este estudio nos brinda elementos que podrían servir para alcanzar mayores rendimientos, control y manejo de *M. incognita* en frijoles; además, posee valor práctico en la selección de cultivares a utilizar en suelos infestados con *M. incognita*.

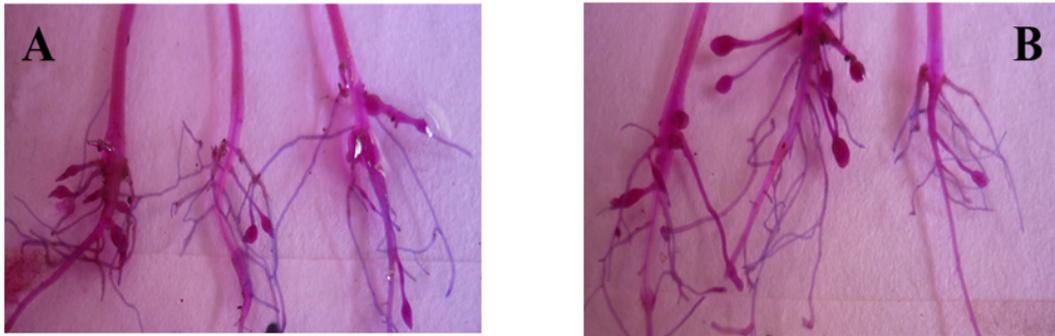


Figura 2. Raíces de plantas de frijoles cultivar 'Bat-306'. A: de 8 días y B: de 21 días después de inoculadas con *Meloidogyne incognita*. / Roots of the common bean cultivar 'BAT-306'. A: 8 days and B: 21 days after inoculation with *M. incognita* Arrows indicating the swelling or incipient knot on roots.

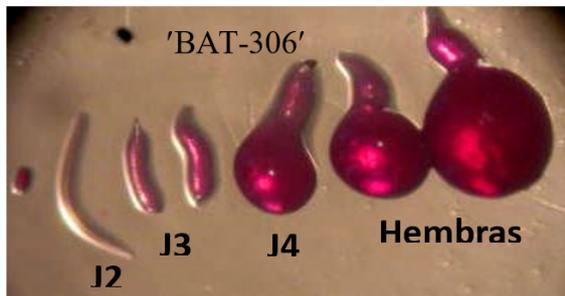


Figura 3. Fases observadas en el ciclo de vida de *M. incognita* en el cultivar 'BAT-306'. / Different stages observed in the cycle of life of *M. incognita* on the cultivar 'BAT-306'.

REFERENCIAS

- Gepts P, Beavis WD, Brummer EC, Shoemaker RC, Stalker HT, Weeden NF, *et al.* Legumes as a Model Plant Family. Genomics for Food and Feed Report of the Cross-Legume Advances through Genomics Conference. Plant Physiology, April. 2005; 1228-1235.
- Alfonso CA, Avilés R, Chailloux M, Faure B, Giralt E, González M. Guía Técnico del Cultivo del Frijol en Cuba. Instituto de Investigaciones de Horticultura "Liliana Dimitrova". Editora Liliana. Ministerio de la Agricultura. Cuba. 2000; 41 pp.
- Nova GA. En El modelo agrícola y los lineamientos de la política económica y social en Cuba. Editorial Ciencias Sociales, Instituto Cubano del Libro. La Habana. Cuba. 2013. 198 pp
- Sikora RA, Greco N, Velosa JF. Nematodes parasites of food legumes. En Luc M, Sikora RA, Bridge J, editors. Plant parasitic nematodes in Subtropical and tropical agriculture. 2da Ed. CABI, UK. 2006; 259-318.
- Martínez E, Barrios Sanromá G, Rovesti L, Santos Palma R. Eds. Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV), Cuba. Editora Entre Pueblos, España. Grupo di Volontariato Civile (GVC), Italia. 2006; 485 pp.
- Hernández-Ochandía D, Rodríguez MG, Miranda I, Hernández H, Holgado R. Reacción de los genotipos 'BAT-306' y 'Triunfo-70' de *Phaseolus vulgaris* L. a *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. Rev. Protección Veg. 2016; 31 (3):224-227.
- Arias Y, González I, Gorrita S, Miranda I, Hernández-Ochandía D, Peteira B. Comportamiento de enzimas relacionadas con la defensa en dos cultivares de frijol común parasitados por *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. Rev. Protección Veg. 2018; 33(2):1-6.
- Abad PA, Castagnone-Sereno P, Rosso MN, Engler JA, Favory B. Root-Knot nematodes: Invasion, Feeding and Development. Moens M, RN Perry, JL Starr (eds). CAB International. 2009;163-181.
- Fernández E, Pérez M, Gandarilla H, Vásquez R, Fernández M, Paneque M, *et al.* Guía para disminuir infestaciones de *Meloidogyne* spp., mediante el empleo de cultivos no susceptibles. Boletín Técnico, Sanidad Vegetal (Cuba).1998; 4(4):1-18.
- Byrd DW, Kirkpatrick T, Barker KR. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. Jour. Nematol. 1983; 5(2):142-143.
- Triantaphyllou AC, Hirschmann H. Post-infection development of *Meloidogyne incognita* Chitwood (Nematoda: Heteroderidae): *Ann Inst Phytopath of Benaki*. Nematologia del Mediterraneo. 1960; 20(1):215-216.
- Sasser JN. 'University of Maryland Agricultural Experiment Station Identification and Host-Parasite Relationships of Certain Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.)'. Department of Botany Bulletin A-77 (Technical) College Park, January. 1954; Pp. 30.
- Abawi GR, Varón de Agudelo F. Nematodos. En: Problemas de Producción del Frijol en los Trópicos. 2d Edición. Marcial Pastor-Corrales y

- Howard F. Schwartz (Eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. CIAT No, 230. ISBN 958-9183-78-6. 1994; 495- 517.
14. Noling J. Nematode Management in Beans and Peas (Bush Beans, Pole Beans, Lima Beans, Southern Peas, English Peas, Chinese or Snow Peas). ENY-020 (NG020). Entomology & Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service. 1999.

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Dainé Hernández Ochandía:** conformación de la idea original, búsqueda de bibliografía referente al tema, ejecución técnica, redacción del artículo y revisión de las diferentes versiones de la publicación, hasta la edición final. **Dayris García Perera:** participó en el diseño del estudio y en su ejecución técnica. **Ileana Miranda Cabrera:** participó en la recolección, en el procesamiento estadístico de los datos, en el análisis de los resultados y aportó criterios a tener en cuenta en la versión final del artículo. **Mayra G. Rodríguez Hernández:** participó en la concepción del estudio, búsqueda de bibliografía referente al tema, ejecución técnica, redacción del artículo y revisión de las diferentes versiones de la publicación, hasta la edición final.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)