

## SINTOMATOLOGÍA Y ESPECIES DE *Meloidogyne* ASOCIADAS A VID (*Vitis vinifera* L. cv. Aramond) EN GÜIRA DE MELENA, ARTEMISA.\* (Resultados preliminares)

Mayra G. Rodríguez\*, Dainé Hernández\*, R. Enrique\*, Lucila Gómez\*, Luisa Díaz-Viruliche\*\*, Belkis Peteira\*

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

Correo electrónico: mrguez@censa.edu.cu \*\*Universidad Agraria de La Habana (UNAH), Cuba

**RESUMEN:** Un viñedo (*Vitis vinifera* L. cv. Aramond) de 21 años de plantado mostraba síntomas semejantes a los producidos por la presencia de nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.), así como mermas en los rendimientos. En visita realizada a la plantación, se constató la existencia de áreas con plantas cloróticas y con diversos grados de defoliación. Las bases de los tallos mostraban rajaduras longitudinales y ensanchamientos en la región que se encontraba por encima de la superficie del suelo. Al examinar las raíces se encontraron agallas de diversos tamaños y la pérdida de volúmenes importantes de raíces secundarias. En las agallas, se encontraron hembras adultas de *Meloidogyne* con ootecas desarrolladas, y el estudio de los patrones perineales de estas hembras evidenció la presencia de especímenes de tres especies (*Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood y *Meloidogyne javanica* (Trueb) Chitwood), mientras otros fueron ubicados en la categoría de *Meloidogyne* spp., hasta completar los estudios moleculares. Del total de especímenes examinados, *M. arenaria* mostró ser componente mayoritario de la comunidad con un 53%, seguido de *M. incognita* (21%) y *M. javanica* (4%). La presencia de *M. arenaria* en vid, representa el primer informe de la especie en este cultivo en Cuba y constituye foco de atención para el servicio fitosanitario, por ser una de las plagas más importante para la vid a nivel mundial.

(Palabras clave: vid; *Vitis vinifera*; *Meloidogyne* spp.)

---

## SYMPTOMATOLOGY AND SPECIES OF *Meloidogyne* ASSOCIATED WITH GRAPEVINE (*Vitis vinifera* L. cv. Aramond) IN GÜIRA DE MELENA, ARTEMISA. (Preliminary results)

**ABSTRACT:** A 21 year old vineyard (*Vitis vinifera* L. cv. Aramond) showed symptoms similar to those caused by the root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) as well as decreases in yield. In a visit to the area, several chlorotic plants with different degree of defoliation were observed. The stem bases above the soil surface were swollen and they showed longitudinal cracks. Galls of different sizes were observed on the roots with significant losses of secondary roots. Adult females of *Meloidogyne* with well developed egg masses were found inside the galls. The study of the perineal patterns of these females showed the presence of specimens belonging to three species (*Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood and *Meloidogyne javanica* (Trueb) Chitwood), as well as others that were grouped as *Meloidogyne* spp. until completing the molecular studies of all the specimens observed. *M. arenaria* showed to be the majority component of the community with 53%, followed by *M. incognita* and *M. javanica* with 21% and 4% respectively. The presence of *M. arenaria* in grapevine is the first report of this specie in the crop in Cuba and constitutes a focus of attention for the plant protection service because it is one of the most important pests in grapevine in the world.

(Key words: grape vine; *Vitis vinifera*; *Meloidogyne* spp.)

---

\*Proyectos: «Diversidad e impacto de fitonematodos en ecosistemas agrícolas y forestales seleccionados de Cuba y Venezuela» (Convenio de Cooperación Cuba – Venezuela) e «Identificación, caracterización y bases para el manejo de fitonematodos asociados a cultivos de importancia en Cuba» (Programa Nacional de Biotecnología Agropecuaria, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medioambiente de la República de Cuba).

## INTRODUCCIÓN

La producción de vid (*Vitis vinifera* L.) no es exclusiva de zonas frías, se cultiva en la actualidad en las regiones más cálidas de todo el mundo, especialmente en zonas de Europa occidental, los Balcanes, California, Australia, Suráfrica, Chile y Argentina (1). En Cuba, ha encontrado condiciones favorables para su desarrollo, hecho atribuible a la presencia de nuevos cultivares con adaptación a diferentes condiciones ambientales (2).

Aunque, desde sus inicios hasta la actualidad, el cultivo de la vid en nuestro país ha sido prácticamente exclusivo del sector campesino (2), el Ministerio de la Agricultura impulsa su desarrollo para lograr disminuir su importación para su consumo fresco en el sector turístico y la producción de vinos nacionales. Entre las variedades existentes en Cuba, se distinguen Cimmarrona y Aramond (2).

El manejo de este frutal no posee mucha tradición en nuestro país, de ahí que el conocimiento de las plagas que lo afectan es escaso. Sin embargo, se sabe que es hospedante de diversos grupos biológicos, entre ellos, los nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.) (2).

La presencia de estos organismos en los viñedos, su impacto en la vida útil y rendimientos de las plantas, así como la necesidad de establecer medidas de manejo de las poblaciones de nematodos es, en ocasiones, desconocida o subvalorada por los productores.

En este contexto, el desarrollo de uno de los viñedos más productivos del occidente del país, fue valorado a finales del año 2006 para ser demolido, debido al deterioro del mismo y las mermas sustanciales de los rendimientos.

El objetivo de este trabajo es referir las especies de nematodos agalleros encontrados en la plantación, así como los síntomas que provocan en las plantas de vid.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El muestreo fue ejecutado en la finca de Jorge Hernández, perteneciente a la CCSF Antero Regalado, ubicada en el Municipio Güira de Melena, Provincia Artemisa. El suelo del área clasifica como Ferralsol Eútrico (3).

El área de 2ha, está plantada con vid variedad Aramond, traída desde Pílon, Granma (de vides originarias de México) y con unos 21 años de explotación, donde las parras se encuentran plantadas a una distancia de 1x1.50m, para un total de 6000 plantas en el viñedo.

Se ejecutó una visita y fueron tomadas 40 muestras compuestas de suelo y raíces en las plantas deterioradas que presentaban ensanchamiento y rajaduras en la base de los tallos.

Se tomaron fotografías de la biomasa aérea y de la base del tallo en plantas afectadas en el viñedo y se evaluó visualmente el estado general del viñedo.

En el laboratorio, las muestras de raíces se lavaron cuidadosamente con agua corriente, se homogenizaron y fraccionaron. Bajo el microscopio estereoscópico marca Stemi DV4 (Zeiss)<sup>TM</sup>, con el empleo de agujas entomológicas, se extrajeron 100 hembras adultas y sus ootecas. Las hembras fueron procesadas para obtener sus patrones perineales siguiendo la metodología establecida para ello (4).

Los patrones se montaron en portaobjetos con ácido láctico, se sellaron con parafina y se observaron en un microscopio compuesto modelo Axiostar (Zeiss)<sup>TM</sup>, con 400 aumentos y campo claro. Las fotografías se tomaron utilizando un microscopio biológico N-200M Trinocular con cámara CamDig HDEC-10 (CCD), acoplado a una PC, utilizando el programa o software Scope Photo 2.04, Versión 2006. Para el diagnóstico de las especies de *Meloidogyne* asociadas a la vid se emplearon las claves y descripciones de las especies de *Meloidogyne* (5).

A partir de la información obtenida del estudio de los patrones perineales, se generó una matriz de datos para determinar la composición de la comunidad de nematodos formadores de agallas en el viñedo, determinándose el porcentaje de cada especie.

Las ootecas individuales fueron transferidas a siracusas con agua y se dejaron entre 48 a 72 horas a temperatura ambiente para la eclosión de los huevos. Los juveniles emergidos de los huevos fueron colocados en eppendorfs con agua destilada estéril y situados a -20°C, para su posterior estudio con el uso de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con cebadores específicos (6).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta que la vid representa un cultivo no tradicional para Cuba y que los síntomas y daños producidos por *Meloidogyne* spp., no aparecen descritos en los manuales y materiales de Nematología Agrícola disponibles, en este trabajo se exponen las características de las plantas afectadas, debido a la importancia que poseen estos elementos para el diagnóstico de campo.

En el viñedo, las plantas presentaban clorosis, marchitamiento (aún cuando recibían adecuado volu-

men de riego) y diferentes grados de defoliación (Fig. 1). A pesar de que el productor observaba este deterioro paulatino del mismo, lo más llamativo para él fue la merma de los rendimientos, en comparación con la producción histórica de la finca de unas 23 t.ha<sup>-1</sup> en uva en parra y 15 t.ha<sup>-1</sup> en uva en espaldera (2).



**FIGURA 1.** Estado general de viñedo afectado por nematodos formadores de agalla en Güira de Melena, Artemisa./ *General view of a vineyard affected by root-knot nematodes in Güira de Melena, Artemisa.*

En el caso del cultivo de vid, se ha señalado que los nematodos provocan síntomas aéreos no específicos, pero se refiere que *Meloidogyne* spp. provoca la aparición de plantas defoliadas en parches en los viñedos (7, 8), lo que se evidenció en la plantación estudiada.

En plantas con síntomas aéreos como los descritos antes, se observó ensanchamiento de la base del tallo y la presencia de rajaduras longitudinales en la zona, así como la suberificación de la misma, que le confería una apariencia corchosa. Las rajaduras abarcaban desde un ¼ del tallo a todo su perímetro. En estas plantas, cuando se retiró el suelo cercano a la base del tallo y en una profundidad entre 5 y 25cm, se encontraron agallas de diversos tamaños, donde la corteza o tejido externo de estas raíces también exhibían apariencia corchosa. Los sistemas radicales carecían de raíces secundarias y estaban muy deterioradas (Fig. 2). Al realizar la disección de las agallas en el laboratorio y observarlas al microscopio estereoscópico se pudo constatar la presencia de hembras adultas bien formadas con ootecas que contenían huevos, indicativo de la reproducción del nematodo en la variedad de uva Aramond.

Al respecto, Téliz *et al.* (9) señalaron que patrones de vid infestados por nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.) mostraron distorsiones en las raíces de alimentación y agallas de tamaño moderado, que se presentaron aisladas o en agrupaciones.

En plantas afectadas por nematodos formadores de agallas, la presencia de engrosamiento, rajaduras y suberificación en la base del tallo, ha sido observada en plantas de tallo leñoso como el cafeto y guayabo (10, 11), lo que podría sugerir que dicho cuadro de síntomas en vid está relacionado con la presencia de *Meloidogyne* y constituye un tipo de reacción de plantas de tallo leñoso a la acción de estos parásitos. Este elemento podría ser utilizado como elemento que sugiera la presencia de este género en este tipo de plantas, como aspecto diagnóstico para el primer nivel (campo).

La identificación de nematodos, constituye el soporte (o base) de todos los aspectos de investigación e implementación de su manejo (12). Las estrategias de manejo, particularmente aquellas que incorporan aspectos del Manejo Integrado de Plagas (MIP), dependen de la información confiable acerca de las poblaciones (13), en especial las relacionadas con la distribución espacial, los niveles poblacionales y la composición específica de las comunidades de fitonematodos que habitan los suelos y parasitan los cultivos. De ahí la importancia de este estudio, aún

cuando sea preliminar, pues permitió emitir al productor recomendaciones acerca del uso de medidas no especie-específicas para el manejo del viñedo.

Una amplia gama de caracteres exhibieron los patrones perineales examinados procedentes de hembras colectadas en vid. No obstante, se pudieron observar en un grupo de ellos características muy representativas e indicativas de la presencia de las especies *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood y *Meloidogyne javanica* (Trueb) Chitwood. Otro grupo no pudo ser identificado y se cuantificó como *Meloidogyne* spp. El status taxonómico definitivo de estos especímenes será establecido en el estudio molecular posterior.

Un carácter morfológico muy distintivo del género *Meloidogyne* es el patrón perineal, localizado en la región posterior de la hembra adulta (14). Esta zona comprende el perineo (área que rodea al ano y vulva), término de la cola, fasmideas, líneas laterales y estrías cuticulares que rodean toda estas estructuras (15) y a pesar de que se reconoce la existencia de variaciones intra-específicas para este elemento, constituye aún en la actualidad el punto de partida para el diagnóstico de especies (16) y representa un elemento fundamental en el diagnóstico ejecutado por los Laboratorios Provinciales de Sanidad Vegetal en Cuba.

No obstante las limitaciones que posee el trabajar sólo con la morfología del patrón, la estimación de porcentajes de cada especie, o solo el hallazgo de que hay poblaciones mezcladas en un área, constituye un elemento importante, para llamar la atención de las autoridades sanitarias, especialistas y taxónomos para profundizar en los estudios de dichas poblaciones.

A continuación señalaremos las principales características observadas en los patrones perineales:

En el caso de los especímenes de *M. arenaria*, el patrón perineal se distinguió por presentar arco dorsal de bajo a medio, trapezoidal a redondo, líneas laterales presentes y visibles generalmente. Las estrías cuticulares de la región dorsal poco onduladas y cayendo a manera de hombreras sobre las líneas laterales. La configuración general del patrón fue redondeado. Fasmideas muy separadas (generalmente a distancia mayor que el ancho de la vulva) y visibles (distintivas cuando se manipula el micrométrico del microscopio), zona de la cola generalmente elipsoidal y despejada. (Fig. 3A).

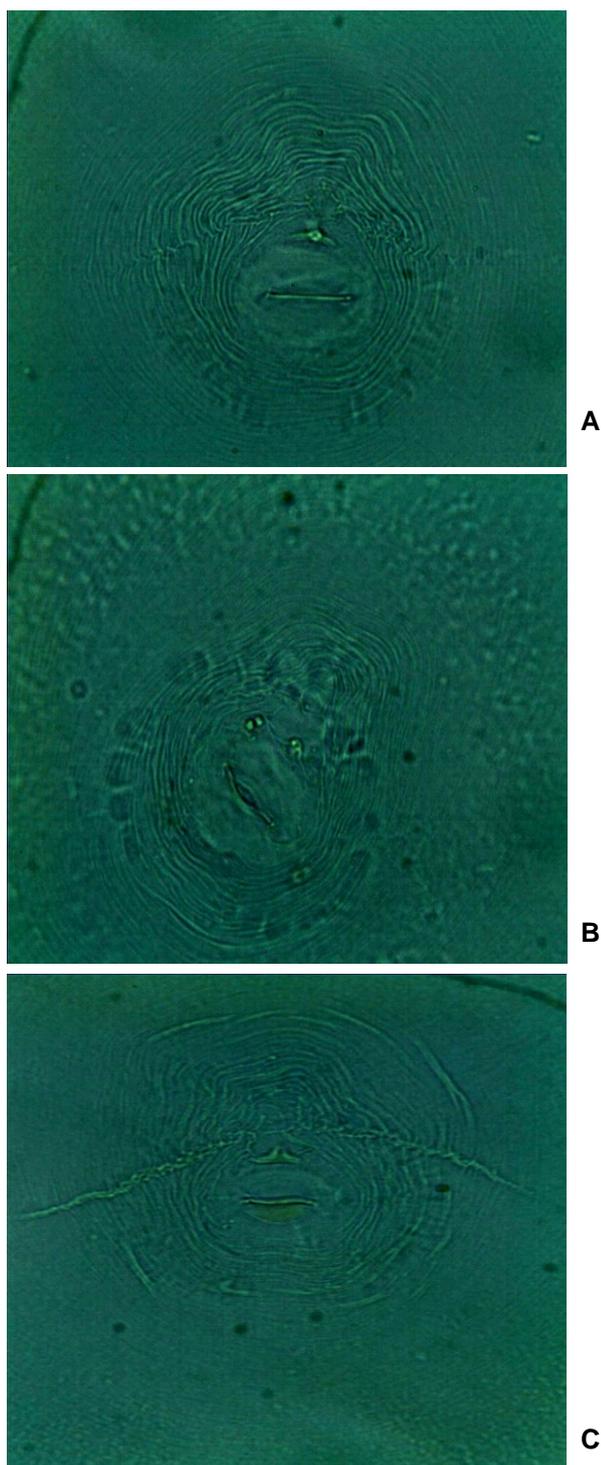
Por su parte, *M. incognita* presentó patrón perineal con arco dorsal trapezoidal alto, líneas cuticulares en las zonas laterales muy onduladas, zona de la cola cruzada por algunas líneas. Fasmideas no visibles (Fig. 3B). No se presentaron estrías a ambos lados de la vulva. Las líneas laterales están ausentes y en la zona de la cola, las estrías a veces se disponen a manera de remolino.

*M. javanica*: Patrón con presencia de arco trapezoidal no muy alto, líneas cuticulares onduladas suavemente. Líneas laterales visibles y la presencia de una zona despejada entre ellas dando lugar a campos laterales. Zona de la cola despejada. Según Eisenback (5), este patrón es único, pues los denominados campos laterales dividen la región dorsal y ventral del patrón. (Fig. 3C).

Las características observadas en estos tres casos coinciden con lo descrito por Eisenback (5) para estas especies.



**FIGURA 2.** Síntomas provocados en la base del tronco y raíces de vid por nematodos formadores de agalla./ *Symptoms caused in the stem base and roots of grapevine by root-knot nematodes.*



**FIGURA 3.** Patrones perineales exhibiendo las características típicas de A: *M. arenaria*; B: *M. incognita* y C: *M. javanica*. (Fotografías tomadas con campo claro, 400 aumentos)./ Perineal patterns showing the typical characteristics of A: *M. arenaria*; B: *M. incognita* and C: *M. javanica*. (Photos taken with bright light, 400 magnifications).

Otros patrones presentaron características similares a los de al menos dos especies más, pero que no pueden ser identificados utilizando sólo el patrón perineal y otros presentan caracteres no típicos (aberrantes). Este fenómeno es común en los estudios de poblaciones de *Meloidogyne*, utilizando los caracteres morfológicos, en especial cuando se emplean las características de los patrones perineales (17).

Con relación a la estructura de la comunidad, se determinó que *M. arenaria* fue la especie de mayor abundancia relativa en el viñedo, ya que el 53% de los especímenes examinados pertenecían a dicha especie, seguida de *M. incognita* (21%) y *M. javanica* (4%).

Las dos primeras especies presentan amplia distribución en Cuba y son plagas de diversos cultivos (18,19). No obstante, la existencia de *M. arenaria* constituye un nuevo informe para el cultivo en nuestro país, ya que Fernández y Ortega (20) solo informaron en vid a *M. hapla*; *M. incognita* y *M. javanica*, mientras Hernández *et al.* (21) refirieron la presencia de *Meloidogyne* spp. en vid cultivar, Aramond en la Isla de la Juventud, sin informar las especies que hallaron.

La revisión de la información disponible, evidenció la escasa existencia de estudios de fauna y manejo de nematodos en este frutal, cuyo desarrollo se ha emprendido hace solo unos años en el marco del Programa Nacional de Frutales y reafirman la pertinencia de este estudio.

Con relación a la presencia de poblaciones compuestas por varias especies en el viñedo, este es un fenómeno común. Señaló Eisenback (22) que en la naturaleza las poblaciones de nematodos raramente aparecen como comunidades mono-específicas. Este autor hizo un análisis del tipo de interacciones que se producen entre estos organismos y señaló que la competencia entre especies del género *Meloidogyne* es débil, resultando común encontrar varias especies en un mismo campo e, incluso, en una misma raíz, acotando que el hospedante es un factor clave en las interacciones y que a menudo es el responsable de que una especie predomine a las otras.

Este parece ser el caso, pues la vid ha sido señalada como hospedante muy favorable para *M. arenaria* y *M. incognita* (7), lo que podría explicar las altas proporciones de ambas especies con relación al resto de los morfotipos encontrados en este estudio.

Este estudio inicial evidenció la presencia de varias especies de *Meloidogyne* en la vid y la necesidad de establecer un programa de manejo en la plantación. No obstante, teniendo en cuenta la diversidad inter e intraespecífica que se pone de manifiesto en este géne-

ro, se ejecuta en la actualidad un estudio donde se correlacionan los caracteres morfológicos y elementos ofrecidos por estudios moleculares (isoenzimas, PCR con el uso de cebadores específicos y cebadores RAPDs).

### AGRADECIMIENTOS

Al Lic. Jorge Hernández, propietario de la Finca Jorge, Municipio Güira de Melena, Artemisa por las facilidades ofrecidas en los trabajos de muestreo, a los profesores Dr. E. del Pozo y MSc. A. Méndez de la UNAH, por su colaboración en el trabajo fotográfico de los patrones perineales, así como a la técnico Lidia López por su colaboración en el procesamiento de muestras.

### REFERENCIAS

- Hernández D. El cultivo de la vid (*Vitis vinifera* L.). Breve historia y generalidades. (Revisión bibliográfica). En Diagnóstico y manejo de *Meloidogyne* spp., en vid (*Vitis vinifera* L. cv. Aramond) en Güira de melena, La Habana. 2009. [Tesis en opción al Título de Ingeniero Agrónomo]. Universidad Agraria de La Habana: 4- 14.
- de la Fé C, Hernández O; Palacios J, González E. Desarrollo del cultivo de la vid en el sector campesino-cooperativo del occidente de Cuba. Cultivos Tropicales. 2001; 22(4): 43-49.
- Food and Agriculture Organization (FAO). Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Informe sobre recursos mundiales de suelos. Sociedad Internacional de las Ciencias del Suelo (SICS), Centro Internacional de Referencia e Información en Suelos (ISRIC) - FAO.1999; p. 90
- Hartman KM, Sasser JN. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. En: Barker KR, Carter CC, Sasser JN, editors. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. II: Methodology. Dept. Plant Pathology and United Agency for International Development. North Caroline State University Graphics. 1985: 69-78.
- Eisenback JD. Root Knot Nematode Data Base. CD Edited by CAB International. 1997.
- Powers TO, Harris TS. A Polymerase Chain Reaction Method for Identification of Five Major *Meloidogyne* Species. J Nematology. 1993; 25(1):1-6.
- Brown DJF, Dalmasso A, Trudgill DL. Nematode Pest of Soft Fruits and Vines. En: Evans K, Trudgill DL, Webster JM, editors. Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. CAB International; 1993. p. 427- 462.
- Nicol JM, Stirling GR, Rose BJ, May P, Van Heeswijck R. Impact of nematodes on grapevine growth and productivity: current knowledge and future directions, with special reference to Australian viticulture. Australian J. Grape and Wine Res. 1999; 5:109-127.
- Téliz D, Landa BB, Trapoport HF, Camacho FP, Jiménez-Díaz RM, Castillo P. Plant-Parasitic Nematodes Infecting Grapevine in Southern Spain and Susceptible Reaction to Root-Knot Nematodes of Rootstocks Reported as Moderately Resistant. Plant Dis. 2007; 91 (9): 1147-1154.
- Rodríguez ME, Morales Y, Añorga J. Sintomatología radicular producida por el género *Meloidogyne* en ocho cultivos en Cuba. Centro Agrícola. 1976; 3(1): 41-69.
- Rodríguez MG. Identificación y caracterización de *Meloidogyne mayaguensis* (Nemata: *Meloidogynidae*) en el cafeto en Cuba. [Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Agraria de La Habana; 2000. 100pp.
- Decraemer W, Hunt DJ. Taxonomy and Phylogeny. En: Perry R, Moens M, editors. Plant Nematology. CAB International. Printed by Biddles Ltd, King's Lynn, UK; 2006. p 1-32.
- Been T, Schomaker CH. Distribution Patterns and Sampling. En: Perry R, Moens M, editors. Plant Nematology. CAB International. Printed by Biddles Ltd, King's Lynn, UK; 2006. p. 302-326.
- Karseen G. The plant-parasitic nematode genus *Meloidogyne* Goldi, 1892 (Tylenchida) in Europe. Ed. Brill. Leiden, Boston, Koln; 2002.
- Hirschmann H. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species. En: Barker KR, Carter CC, Sasser JN, editors. An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol I: Biology and Control. Dept. Plant Pathology and United State

- Agency for International Development. North Carolina State University Graphics. 1985; p79-93.
16. Eisenback JD, Hirschmann H, Triantaphyllou AC. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. *J Nematology*. 1980; 12: 300-313.
  17. Netscher C. Morphological and physiological variability of species of *Meloidogyne* in West Africa and implications for their control. *Meded. Landbouw. Wageningen, Nederland*. 1978; 78:1-46.
  18. Fernández E, Pérez M, Gandarilla H, Vázquez 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*. 1998; 4(4):1-18.
  19. Gómez LG. Diagnóstico de nematodos agalleros y prácticas agronómicas para el Manejo de *Meloidogyne incognita* en la Producción Protegida de Hortalizas. [Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Agraria de La Habana, Cuba; 2007. 100pp.
  20. Fernández M, Ortega J. Lista de nematodos fitoparásitos de Cuba. Editorial Científico Técnica. Ciudad Habana, Cuba; 1986.
  21. Hernández R, del Vallín G, Hernández D. Diagnóstico de fitonematodos en suelos de cultivos frutales. *FITOSANIDAD*. 2006; 10(4):261-264.
  22. Eisenback JD. Interactions among concomitant populations of nematodes. En: Barker KR, Carter CC, Sasser JN, editors. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol I: Biology and Control. Dept. Plant Pathology and United State Agency for International Development. North Carolina State University Graphics; 1985. p. 193-213.

**(Recibido 22-6-2009; Aceptado 2-10-2009)**