



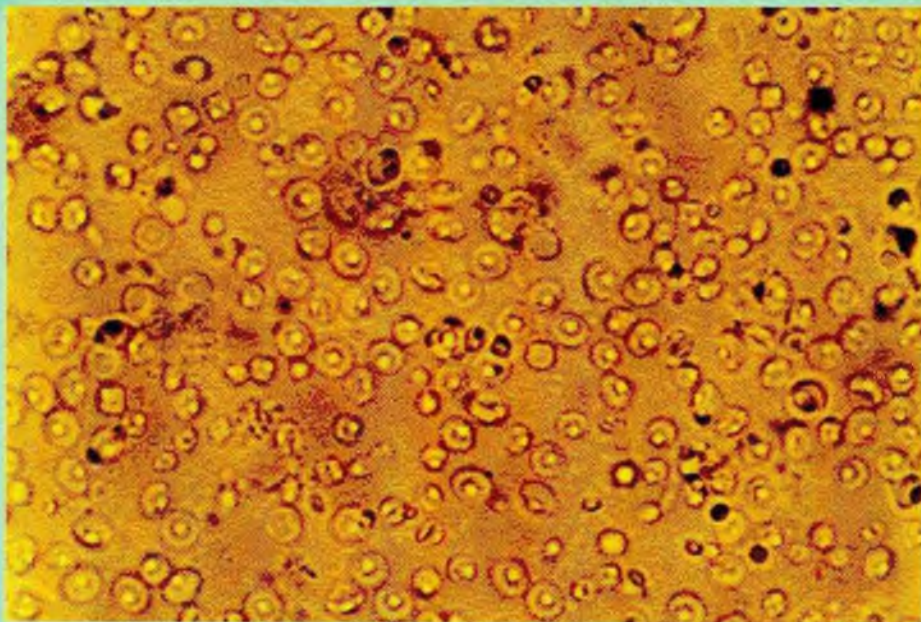
PROGRAMA DE MODERNIZACIÓN DE LOS  
SERVICIOS AGROPECUARIOS



INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE  
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

Boletín Técnico No. 92

# **Poblaciones de *Pasteuria penetrans* de amplia cobertura para infectar al nematodo *Meloidogyne* spp.**





**Autores**

**Daniel Navia Santillan  
Carmen Triviño G.**

**INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO  
DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**

**Estación Experimental Boliche**

**2003**

## INTRODUCCION

En Ecuador, las hortalizas, leguminosas y algunos frutales son infestadas por los nematodos formadores de agallador en las raíces del género *Meloidogyne*, muchas veces son responsables de significantes pérdidas económicas. Entre las investigaciones desarrolladas para reducir las poblaciones de estos microorganismos está el uso de agentes biológicos controladores, entre ellos la bacteria *Pasteuria penetrans* considerada como una de las alternativas más promisorias (Sayre y Starr, 1985; Chen y Dickson, 2000). Esta bacteria es un parásito obligado de *Meloidogyne* spp., completa el ciclo de vida en el interior de la hembra del nematodo, llenándola de endosporas, lo que impide la formación de gónadas o sistema reproductor y por consiguiente reducción de la densidad poblacional del nematodo.

En monitoreos de *P. penetrans* efectuados en Ecuador durante 1993, en campos sembrados con hortalizas e infestados con *Meloidogyne* se encontró 32 % de las muestras de raíces y suelo con presencia de la bacteria, sin embargo tanto el número de nematodos infectados como el número de esporas adheridas a la cutícula del nematodo fueron bajos (Triviño, 1996). Mediante esta investigación se realizó pruebas de sensibilidad utilizando mayor número de poblaciones ("cepas") de la bacteria y mayor número de especímenes del nematodo provenientes de algunas plantaciones de tomate de la región litoral donde, con seguridad, hay mezclas de especies y razas de *Meloidogyne*, lo que posiblemente influye en la variabilidad del número de esporas adheridas a la cutícula del nematodo en estudio.

El Presente trabajo es parte del Proyecto "Control biológico de *Meloidogyne* spp. con la bacteria *P. penetrans* en campos de producción" que se ejecuta con el apoyo financiero de PROMSA.

## OBJETIVOS

### **General del Proyecto:**

Ofrecer a los productores una tecnología biológica adecuada para el control de *Meloidogyne* spp con la bacteria *Pasteuria penetrans*.

### **Específicos de esta actividad:**

1. Disponer de una colección de poblaciones de *P. penetrans* aislada en diferentes lugares del país.
2. Obtener una o varias poblaciones de *P. penetrans* de amplia cobertura en el control de *Meloidogyne* spp.

## MATERIALES Y METODOS

Este trabajo se realizó en el invernadero y laboratorio de la sección Nematología de la Estación Experimental Boliche del INIAP. De la región litoral del Ecuador y en fincas cultivadas con tomate se colectó 20 poblaciones de *Meloidogyne* spp. (Cuadro 1), las que fueron sometidas a pruebas de adhesión de esporas con 10 poblaciones de *P. penetrans* (Pp) colectadas en diferentes lugares del país (Cuadro 2).

**Cuadro 1. Poblaciones de *Meloidogyne* spp. colectadas en plantaciones de tomate del litoral.**

Sitios de muestreos en cada Provincia				
No.	Guayas	Manabí	Los Ríos	El Oro
1.	El Triunfo	24 de Mayo	Quevedo	La Isla
2.	Boliche	Mejía	Babahoyo	Carcabón
3.	Chimbo	Higuerón	Mata de Cacao	Guarapal
4.	Santa Elena	Lodana	Montalvo	Guabillo
5.	Cone	Rocafuerte	Puebloviejo	Chacras

**Cuadro 2. Poblaciones de la bacteria *P. penetrans* aisladas de raíces de tomate.**

Sitios de muestreos de Pp				
No.	Guayas	Esmeraldas	El Oro	Chimborazo
1.	Nueva Colonia	La Concordia	Guarapal	Pallatanga
2.	Boliche	La Unión		
3.	El Triunfo	Quinindé		
4.	Taura			
5.	Naranjal			

### ***Prueba de sensibilidad***

De las raíces con agallas (*Meloidogyne*) recolectadas en cada una de las provincias del litoral, se seleccionaron al azar hembras parasitadas del nematodo con la bacteria y se preparó una suspensión de esporas de  $5 \times 10^4$  /ml agua, que sirvieron como unidades de multiplicación independiente para cada caso. A los cinco minutos de exponer a los juveniles del segundo estadio (J2) en contacto con las esporas, estos nematodos se inocularon en plantas de tomate (var. Floradade) y se esperó 30 días, tiempo suficiente para que las plantas presenten la acción de los nematodos en forma de agallas en sus raíces y contar con suficiente inóculo de *Pasteuria* para realizar esta investigación.

De cada población de *Meloidogyne* en estudio, alrededor de 10 masas de huevos (subpoblación) se sometieron a eclosión individual y, aproximadamente 50 nematodos (J2) de cada masa se colocaron en los espacios tubulares de una caja de las que se utilizan en prueba de Elisa. Inmediatamente con una micropipeta se colocaron 0.25 ml de la suspensión de esporas de la bacteria y así permanecieron a una temperatura de 27 °C

aproximadamente. Después de dos horas de estar en contacto *Meloidogyne* con la bacteria, se contó el número de esporas adheridas a cada uno de 20 especímenes seleccionados al azar para cada subpoblación; es decir, por cada población de *Meloidogyne* vs 10 poblaciones de Pp se evaluaron 2000 nematodos y por todo el trabajo un total de 40000 individuos. Este conteo se lo realizó con un microscopio invertido con objetivo de 400 X.

## RESULTADOS

Todas las masas de huevos de *Meloidogyne* extraídas para las pruebas, aunque en forma variable fueron parasitadas por las 10 poblaciones de Pp. (Cuadro 3), sin embargo hay que resaltar que los nematodos de la zona El Triunfo presentaron muy poca sensibilidad a *Pasteuria* de Naranjal (solo 10 % de las masas) y la Unión (30 %). Los nematodos provenientes del área Chimbo (Milagro) también presentaron bajo porcentaje de parasitismo con las *Pasteurias* de El Triunfo (40 %) y La Unión (50 %).

Por el número de endosporas de la bacteria adheridas a la cutícula del nematodo (J2) se determinó que en los *Meloidogyne* de la provincia del Guayas el 12 % de los especímenes no se infectaron, recayendo el mayor número de nematodos con 0 esporas con las Pp de la Unión, Naranjal, El Triunfo y Pallatanga (Cuadro 4), mientras que con las *Pasteuria* Nueva Colonia y Taura todos los nematodos se infectaron en el rango 1 a 50 esporas / nematodo.

**Cuadro 3. Porcentaje promedio de masas de huevos de *Meloidogyne* spp. infectadas con diez poblaciones de *P. penetrans***

% Masas de huevo infectadas con Pp										
Poblaciones de <i>Meloidogyne</i>	Poblaciones de Pp									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Prov. Guayas										
Boliche	100	90	90	70	90	60	60	50	70	100
El Triunfo	100	100	100	100	100	30	90	60	10	100
Sta. Elena	100	100	100	100	100	100	100	90	80	100
Chimbo	100	80	90	90	90	50	70	40	70	100
Cone	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Prov. El Oro	100	100	100	100	100	74	98	98	99	98
Prov. Los Ríos	100	100	100	100	100	97	100	100	100	100
Prov. Manabí	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100

1= Nueva Colonia, 2= La Concordia, 3= Quinindé, 4= Boliche, 5= Guarapal, 6= Unión, 7= Paliatanga, 8= El Triunfo, 9= Naranjal, 10= Taura

En los nematodos de la provincia de Los Ríos (Cuadro 5), las Pp Guarapal (El Oro) y Boliche fueron las más patogénicas, encontrándose de 16 a > 50 esporas adheridas a la cutícula de cada espécimen de *Meloidogyne*, mientras que la Pp Unión fue la única que presentó menor número de nematodos infectados. Las poblaciones del nematodo agallador de El Oro fueron altamente parasitadas por las Pp Guarapal, Boliche, Nueva Colonia, La Concordia y Quinindé, en su orden (Cuadro 6). Similares resultados también se encontraron con los nematodos de la provincia de Manabí, e inclusive la Pp Taura también es muy patogénica (Cuadro 7).

En resumen, las cinco poblaciones que infectan la mayor cantidad de nematodos bajo condiciones de laboratorio fueron Nueva Colonia, Guarapal, Boliche, Quinindé y la Concordia, en su orden (Fig. 1).

**Cuadro 4. Población promedio de *Meloidogyne* de la provincia del Guayas infectados con *P. penetrans*.**

Poblaciones de Pp	No. de <i>Meloidogyne</i> (J2) infectados				
	Rangos del Número de Esporas de Pp / J2				
	0	1 - 4	5 - 15	16 - 50	> 50
1. Nueva Colonia	0	52	197	239	512
2. La Concordia	81	80	422	382	35
3. Quinindé	42	196	295	436	31
4. Boliche	78	70	169	218	465
5. Guarapal	38	50	113	390	409
6. Unión	319	406	249	26	0
7. Pallatanga	142	217	531	92	18
8. El Triunfo	232	326	421	16	5
9. Naranjal	303	237	413	47	0
10. Taura	0	148	814	38	0
<b>Total</b>	<b>1235</b>	<b>1782</b>	<b>3624</b>	<b>1884</b>	<b>1475</b>
%	12	18	36	19	15

**Cuadro 5. Población promedio de *Meloidogyne* de la provincia de Los Ríos infectados con *P. penetrans*.**

Poblaciones de Pp	No. de <i>Meloidogyne</i> (J2) infectados				
	Rangos del Número de Esporas de Pp / J2				
	0	1 - 4	5 - 15	16 - 50	> 50
1. Nueva Colonia	0	0	36	177	787
2. La Concordia	0	0	72	682	246
3. Quinindé	0	0	42	859	99
4. Boliche	0	0	0	84	916
5. Guarapal	0	0	0	254	746
6. Unión	42	492	424	42	0
7. Pallatanga	0	202	548	232	18
8. El Triunfo	0	179	739	82	0
9. Naranjal	0	283	717	0	0
10. Taura	0	50	937	13	0
<b>Total</b>	<b>42</b>	<b>1206</b>	<b>3515</b>	<b>2425</b>	<b>2812</b>
%	0.4	12	35	24	28



**Cuadro 6. Población promedio de *Meloidogyne* de la provincia de EL Oro infectados con *P. penetrans*.**

Poblaciones de Pp	No. de <i>Meloidogyne</i> (J2) infectados				
	Rangos del Número de Esporas de Pp / J2				
	0	1 - 4	5 - 15	16 - 50	> 50
1. Nueva Colonia	0	0	39	567	394
2. La Concordia	0	35	451	470	44
3. Quinindé	0	17	537	413	33
4. Boliche	0	0	74	564	362
5. Guarapal	0	0	122	629	249
6. Unión	190	547	263	0	0
7. Pallatanga	40	142	672	146	0
8. El Triunfo	13	188	715	84	0
9. Naranjal	10	228	703	59	0
10. Taura	23	226	629	122	0
<b>Total</b>	<b>276</b>	<b>1383</b>	<b>4205</b>	<b>3054</b>	<b>1082</b>
%	3	14	42	30	11

**Cuadro 7. Población promedio de *Meloidogyne* de la provincia de Manabí infectados con *P. penetrans*.**

Poblaciones de Pp	No. de <i>Meloidogyne</i> (J2) infectados				
	Rangos del Número de Esporas de Pp / J2				
	0	1 - 4	5 - 15	16 - 50	> 50
1. Nueva Colonia	0	0	10	182	808
2. La Concordia	0	1	68	838	93
3. Quinindé	0	0	113	830	57
4. Boliche	0	0	0	143	857
5. Guarapal	0	0	2	213	785
6. Unión	39	847	114	0	0
7. Pallatanga	0	177	816	7	0
8. El Triunfo	0	42	953	5	0
9. Naranjal	0	28	972	0	0
10. Taura	0	0	946	54	0
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>1095</b>	<b>3994</b>	<b>2272</b>	<b>2600</b>
%	0.4	11	40	22.6	26



Figura 1. Patogenicidad de 10 poblaciones de *P. penetrans* sobre *Meloidogyne* spp.

## CONCLUSION

Según este trabajo, las poblaciones nativas de *P. penetrans* de mayor cobertura para infectar a *Meloidogyne* spp. son Nueva Colonia, Guarapal, Boliche, Quinindé y la Concordia. Con estas poblaciones se logrará significativas reducciones de las poblaciones del nematodo en el campo.

## BIBLIOGRAFIA

- Chen, Z. X. and Dickson, D. W. 2000. Ultrastructure of endospore attachment of *Pasteuria penetrans* to *Meloidogyne* spp. *Nematropica*, 30 (2): 119
- Sayre, M. R. and Starr, P. M. 1985. *Pasteuria penetrans* a micelial an esporas forming Bacterium parasitic in Plan Parasitic Nematodes. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, 52 (65): 149
- Triviño, G. C. 1996. The occurrence of *P. penetrans* infecting root knot nematodes in vegetable fields in Ecuador and it potential role in nematode management. PhD. Thesis, University of Reading, UK, 119 pp.



LINEIAP

## **FINANCIA**



**PROGRAMA DE MODERNIZACION DE  
LOS SERVICIOS AGROPECUARIOS**

## **INSTITUCION RESPONSABLE**

**INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE  
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**



**ESTACION EXPERIMENTAL BOLICHE**  
**Departamento Nacional de Protección Vegetal**  
**Sección Nematología**  
**Km. 26 de la Vía Durán - Tambo**  
**Apartado Postal 0901-7069**  
**Teléfono: 593 (4) 2717160 - 2717162**  
**Fax: 593 (4) 2285011**  
**Guayaquil - Ecuador**