

DETERMINACIÓN DEL DAÑO DEL NEMATODO *Globodera pallida* (Stone) EN VARIEDAD FLORESTA DE PAPA

Ricardo Piedra Naranjo¹, Miguel Obregón Gómez², Cristina Vargas Chacon³
Jeannette Avilés Chaves⁴, Jorge Meckbel Campos⁵

RESUMEN

El estudio se realizó en las condiciones de invernadero en la localidad de San Juan de Chicué, 26 km al noreste del Cantón Central de Cartago, el lugar se localizó a 5 km del Volcán Irazú, con una altura de 2800 m s n m y con una temperatura de suelo promedio de 16,87° C durante la investigación. El objetivo fue determinar los umbrales de daño del nematodo *Globodera pallida* que afecta al cultivo de papa. La extracción de quistes se efectuó por el método de Fenwick Modificado, con una viabilidad por quiste de 260 huevos y larvas en 700 g de suelo esterilizado. Se inocularon de 5 a 45 quistes por tratamiento. Se determinó que las cantidades de 35, 40 y 45 quistes inoculadas presentaron síntomas de quistes en la raíz. Los potes inoculados con 35, 40 y 45 quistes mostraron un promedio de 13,00, 14,86 y 16,71 huevos y larvas de *Globodera pallida* (Stone), por g de suelo. El resultado evidenció una disminución de peso en tubérculos de 21,43; 30,93 y 42,86 % respectivamente. Hubo que considerar que a nivel de campo el umbral de daño pudo variar por aspectos del manejo agronómico, relaciones con otros organismos y factores como humedad, tipo de suelo, temperatura y época de siembra. Sin embargo, estos resultados ayudaron a tomar decisiones en aplicaciones de tratamientos químicos o naturales en fincas positivas sin control de la plaga.

Palabras clave: Extracción, viabilidad, quistes, raíz, peso, umbral de daño.

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria. (506)2231-5055. (506)8720-5372 INTA. Costa Rica. Estudiante Doctorado en Ciencias Naturales Para el Desarrollo (DOCINAE). rpiedra@inta.go.cr
² Fitopatología. Doctorado en Ciencia Naturales Para el Desarrollo (DOCINAE). La Aurora de Heredia. Costa Rica. (506)8828-6382.
³ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria. (506)2231-5055. INTA. Costa Rica.
⁴ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria. (506)2250-1224. INTA. Costa Rica.
⁵ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria. (506)2231-5055. INTA. Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

En Costa Rica, el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) fue una actividad a la cual pequeños y medianos agricultores del país se dedicaron durante muchos años. Esta hortaliza fue y es de mucha importancia tanto para consumo directo como para comercialización industrial (Arias 2004). Según Alfaro (2009) este cultivo ocupó un papel preponderante en la canasta básica, la mayoría se consumía en forma fresca, aunque en los últimos años ha aumentado la necesidad de producir papa para la industria. La principal zona productora de papa en Costa Rica se encuentra en la provincia de Cartago, donde se cultivan alrededor de 2 800 ha, seguida por Zarcero que dedicó a este cultivo cerca de 300 ha. El rendimiento varió de 12 a 25 t/ ha. La demanda interna fue mayor a 5 000 toneladas mensuales, oscilando entre 60 000 y 70 000 toneladas anuales. La mayor parte de la producción se destinó a consumo en fresco, y solamente un 15 % se dedicó a uso industrial, principalmente para la producción de hojuelas y papas fritas.

Entre los parásitos que atacaron al cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en los últimos años estuvieron los nematodos fitoparásitos, por lo que han sido de gran importancia en muchos países del mundo. Setenta especies de nematodos se han señalado en el cultivo de la papa (ICTA 2002). Sin embargo, los formadores de quistes como *Globodera rostochiensis* (Woll) Behrens y *Globodera pallida* (Stone) Behrens, son considerados los más dañinos y afectaron el rendimiento de este cultivo en la mayoría de las zonas paperas del mundo (Greco 1992).

A nivel histológico el daño producido por *Globodera spp* estuvo representado por necrosis de las células de las raíces atravesadas por los juveniles de segundo estado. Cuando estos se detuvieron en el lugar definitivo de alimentación, las células alrededor de la cabeza del nematodo sufren una profunda transformación (Trudgill 1985).

Cuando se observó la Figura 1, al penetrar el nematodo a la raíz, de 3 a 10 células alrededor de la cabeza se fundieron, la pared celular engrosó, el citoplasma se tornó denso y se originó el sincitio multinucleado de alta actividad metabólica, el cual fue indispensable para la alimentación del nematodo (Noling 2001). La formación del sincitio (células modificadas) ocasionó una interrupción de los vasos cribosos y leñosos, presentaron crecimiento de células anormales, la senectud se anticipó y a veces en suelos muy infestados, el follaje presentó un ligero amarillamiento (CIP 1986).

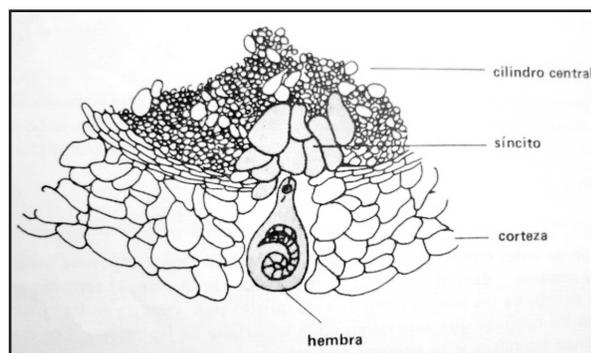


Figura 1. Penetración de *Globodera spp* a nivel histológico. Fuente: CIP 1986.

Aunque la población de nematodos no se incrementó tan rápidamente como sucedió con los hongos o bacterias patógenos de la papa, una vez que se encontraron bien establecidos en las áreas de cultivo no se pudieron erradicar. Las condiciones ambientales que aseguraron el éxito de un cultivo comercial de papa, proporcionaron también las condiciones óptimas para la multiplicación y supervivencia de estos parásitos (Mai *et al.* 1980).

Las larvas de los nematodos de quiste de papa, se volvieron activas a 10° C y la máxima invasión de las raíces se realizó a 16° C. Temperaturas del suelo de 26° C por períodos prolongados limitaron el desarrollo del nematodo y redujeron su proporción. El efecto sobre el rendimiento varió de acuerdo a la densidad de individuos que estuvieron presentes en el suelo, de ser alta la población pudo causar el fracaso del cultivo. También se pudo incrementar la susceptibilidad a la marchitez causada por

Verticillium alboatrum y la maya causada por *Ralstonia solanacearum* (Mai *et al.* 1980).

El daño causado, principalmente referido al peso de los tubérculos, estuvo muy relacionado al número de huevos de nematodo por unidad de suelo; se estimó que aproximadamente 2 t/ha de papa se perdieron por cada 20 huevos/g de suelo, arriba del 80 % de pérdida del cultivo se pudo alcanzar cuando la población de nematodos alcanzaron niveles altos en cultivos sin rotación (Smith *et al.* 1997).

En el Reino Unido, donde las pérdidas en áreas infestadas fueron limitadas por la rotación de cultivos, aproximadamente 9 % de la cosecha de papa se perdió anualmente a causa de los nematodos del quiste. (Evans y Stone 1977). En Bielorrusia un umbral de patogenicidad >1 000 huevos y larvas/ 100 cm³ de suelo, el rendimiento de variedades susceptibles se redujo de 17-20 % y a niveles de 25 000 huevos y larvas/ 100 cm³ se redujo a 74 % (Gladkaya *et al.* 1985).

En Costa Rica el nematodo fue identificado en el Laboratorio de Nematología de la Universidad de Costa Rica, en raíces de plantas de papa de la variedad "Floresta", provenientes de una finca ubicada en San Juan de Chicué, Cartago (SFE 2005). De tal forma que el siguiente estudio determinó los umbrales de daño del nematodo *Globodera pallida* (Stone) basado en larvas y huevos por g de suelo inoculado, se analizaron quistes en raíces de las plantas inoculadas y el peso en g de tubérculos en cada tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en San Juan de Chicué de Oreamuno, provincia de Cartago, con una altitud de 2 800 msnm, predomina el bosque muy húmedo montano, el suelo era de origen volcánico del orden Andisol y la temperatura, precipitación y humedad relativa promedio anual fue de 15° C, 2 100 mm y 85 %, respectivamente. El invernadero se ubicó a 90 56.9871`latitud norte 83051.1316` longitud oeste en la misma localidad.

En la separación de quistes de suelo se utilizó el sistema de Fenwick (Fenwick 1940) modificado por Oostenbrink (Oostenbrink 1950). Este consistió de un embudo colocado sobre una especie de jarra, la cual en su parte ensanchada tenía un tamiz con poros de 1 mm de diámetro. El instrumento era de forma trapezoidal, en su parte inferior se encontraron los soportes del embudo y una aleta inclinada que bordea la jarra como collar, pero que terminó en su solo conducto. La jarra tenía en su parte interior, un tapón que se retiró para desaguar y limpiar (Figura 2).

Los quistes recogidos en el tamiz de 100 mesh fueron transferidos a un balón aforado de 250 ml y llenado hasta la mitad con agua, se agitó y se mezcló la muestra y después se llenó el balón por completo con agua. Se dejó en reposo un minuto para que los quistes flotaran y el resto de materia orgánica precipitara, después se vaciaron los quistes sobre un papel filtro que fue colocado previamente en el embudo de forma que mientras se vaciara, estuviera rotando sobre el balón y de esta manera evitó que el material orgánico se pasara al filtro (Figura 2). La muestra se secó a temperatura ambiente de 24° C a 25° C, posteriormente se realizó la extracción, selección y conteo de quistes.

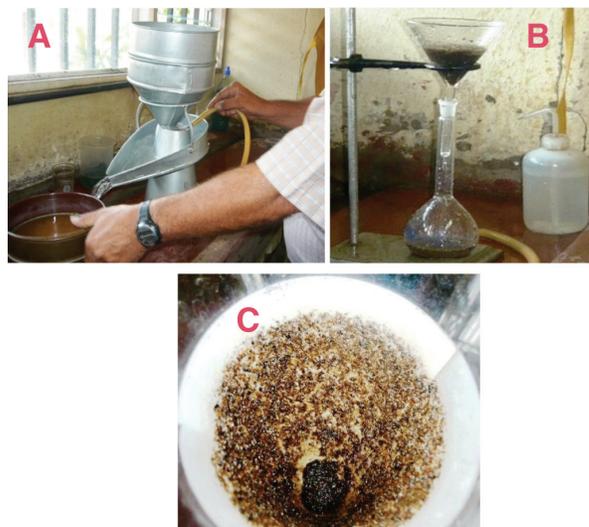


Figura 2. Fenwick modificado (A), balón aforado de 250ml (B) y filtro para la extracción de quistes (C). Fuente: Piedra Naranjo, R. San José, Costa Rica. 2007.

Para el daño y dinámica de esta plaga se estimó importante determinar la viabilidad de los quistes. Como se indicó en la literatura un quiste tiene entre 200 hasta 500 o más huevos o larvas, pero en inoculaciones no se supo cuanto puede tener una población de quistes, es por tal razón que se realizó la prueba de viabilidad de los quistes (Figura 3). La prueba de viabilidad se hizo tomando 25 quistes y se trituraron con un homogenizador de quistes. Luego se disolvieron en un volumen de agua de 50 cc, en una pipeta se tomaron 3 cc y se obtuvo el promedio de huevos y larvas por quiste. A continuación se describió la técnica.

Fórmula de viabilidad de quistes

$$VT = \frac{\text{Prom.} 3 \text{ cc} \times \text{Vol. H}_2\text{O}}{Q}$$

Q

Donde:

VT= Viabilidad Total
 Prom= Promedio de 3 alícuotas
 Q= Número de quistes



Figura 3. Homogenizador de quistes. Fuente: Piedra Naranjo, R. San José, Costa Rica. 2007.

Una vez que se obtuvieron los quistes para la inoculación se realizaron observaciones de cortes perineales y larvas al microscopio luz en 45x. Con esta acción se diagnosticó el género *Globodera pallida*, mismo que sirvió para la investigación en todos los tratamientos (Figura 4).

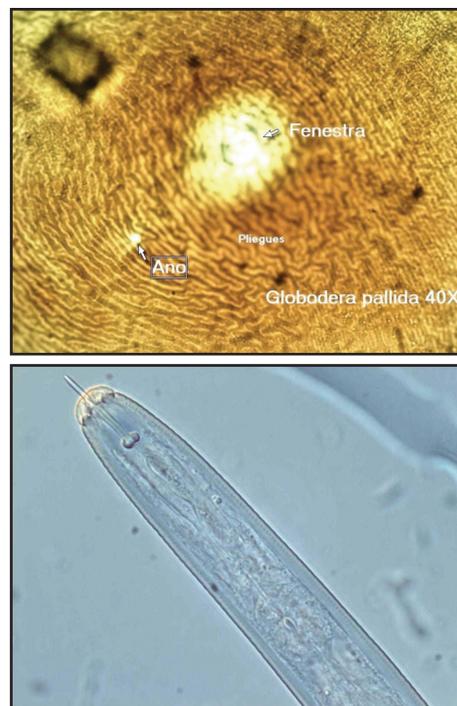


Figura 4. Identificación de *Globodera pallida* mediante corte perineal. Fuente: Piedra Naranjo, R. San José, Costa Rica. 2007.

Luego de la extracción de los quistes se precedió a la siembra de la semilla de papa macetas. El procedimiento para ejecutar la prueba de umbrales de daño del nematodo, se utilizó un pote lleno de suelo esterilizado a un 75 %, se inocularon los quistes, se sembró la semilla de papa y posteriormente se colocó una capa de suelo. Cada pote tuvo una identificación de tratamiento, (Figura 5).

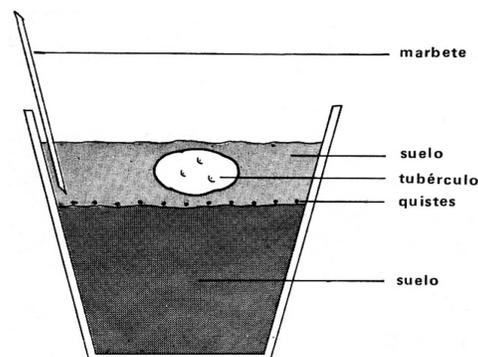


Figura 5. Maceta con inoculación de quistes y siembra de papa. Fuente: CIP 1981

Una vez que se obtuvieron los quistes de *G. pallida* se seleccionaron los que presentaron mayor homogeneidad en cuanto a tamaño y color. La variedad de papa utilizada fue floresta, se inocularon 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 y 45 quistes en cada tratamiento y un testigo sin quistes. La prueba de viabilidad definió un promedio de 260 huevos y larvas por quiste. En cada pote de los tratamientos se utilizaron 700g de suelo. Se utilizó potes con medidas de 10x10 cm a los que se les agregó suelo arenoso y esterilizado. Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar con 10 tratamientos y 3 repeticiones (Cuadro 1). Para el análisis estadístico se utilizó el software estadístico Infostat (2008). En el análisis de varianza se usó la prueba de Tukey con un alfa de 0,05 para la separación de medias.

Cuadro 1. Distribución de tratamientos en el diseño experimental. San Juan de Chicué, Cartago, Costa Rica. 2007.

TRATAMIENTO	REPETICIONES		
	I	II	III
Tratamiento 1 (0 quistes)	1	10	7
Tratamiento 2 (5 quistes)	6	7	5
Tratamiento 3 (10 quistes)	3	6	9
Tratamiento 4 (15 quistes)	4	3	8
Tratamiento 5 (20 Quistes)	5	4	1
Tratamiento 6 (25quistes)	2	2	10
Tratamiento 7 (30 quistes)	7	1	6
Tratamiento 8 (35 quistes)	9	5	4
Tratamiento 9 (40 quistes)	10	8	3
Tratamiento 10 (45 quistes)	8	9	2

Las variables que se analizaron fueron: Peso de tubérculos por pote, síntomas de marchitez en las plantas, número de quistes en raíz. Las plantas en el invernadero duraron 80 días desde la siembra, tiempo suficiente donde el nematodo cumplió su ciclo de vida, lo cual sirvió para hacer los respectivos análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la investigación se obtuvo una humedad de suelo adecuada para el desarrollo del ciclo de vida de la plaga. En otras consideraciones en cada maceta sembrada e inoculada la temperatura presentó un rango de 4,44° C como temperatura mínima y 29,30° C como máxima, para un promedio total durante la investigación de 16,87° C (Cuadro 2). Esto se consideró óptimo para el desarrollo del ciclo de *G. pallida* en los tratamientos.

Cuadro 2. Temperatura de suelo durante la investigación. San Juan de Chicué. Cartago. Costa Rica. 2007.

	°C mínima	°C máxima	Promedio mensual
Octubre	5,28	27,17	16,23
Noviembre	4,44	29,56	17,00
Diciembre	3,61	31,17	17,39
Promedio Total.	4,44	29,30	16,87

Fuente: Piedra Naranjo, R. San José, Costa Rica. 2007.

En el Cuadro 3 y Figura 6, se observó la evaluación de peso en gramos (g) de tubérculos en cada tratamiento. Fue importante analizar que el peso empezó a disminuir a partir de la inoculaciones de 35, 40 y 45 quistes. Basado en el tratamiento donde no se inoculó (cero quistes), se analizó el porcentaje de peso del rendimiento en cada tratamiento y se obtuvo un porcentaje de disminución del peso para cada tratamiento. Aunque no se dieron diferencias estadísticas entre las medias la disminución en g de tubérculos fue de 21,43; 30,93 y 42,86 en los tratamientos de 35, 40 y 45 quistes

respectivamente y esto se evidenció en Figura 6 (ver flecha). Este análisis se complementó con observaciones de los síntomas de daño en las plantas y quistes adheridos en raíz.

Cuadro 3. Rendimiento de peso en gramos de tubérculos de papa obtenidos de la investigación. San Juan de Chicué. Cartago. 2007.

Tratamientos	Medias de tratamientos	Peso dado en g	Disminución de peso dado en g
0 quistes	14,00 a	100,00	0,00
5 quistes	13,33 a	95,21	4,79
10 quistes	12,67 a	90,50	9,50
15 quistes	13,00 a	92,86	7,14
20 quistes	14,00 a	100,00	0,00
25 quistes	13,33 a	95,21	4,79
30 quistes	13,67 a	97,64	2,36
35 quistes	11,67 a	78,57	21,43
40 quistes	9,67 a	69,07	30,93
45 quistes	8,00 a	57,14	42,86

Medias con igual letra indican no hay diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

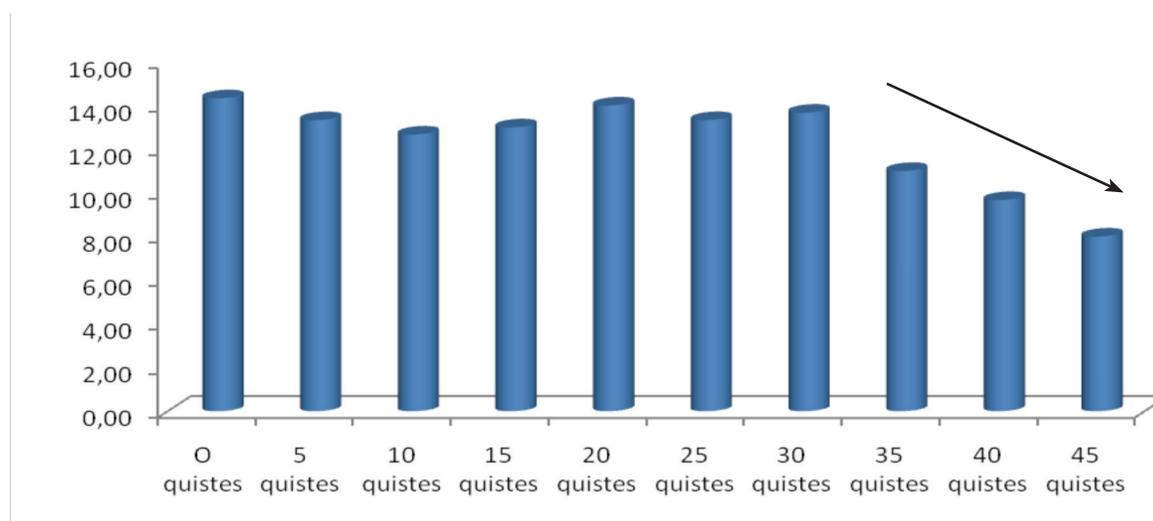


Figura 6. Peso en g de tubérculos en cada tratamiento. San Juan Chicué. Cartago. 2007.

El análisis de varianza en quistes adheridos en raíz evidenció diferencias significativas en las inoculaciones de 40 y 45 quistes según separación de medias Tukey $p \leq 0,05$. Este resultado se observó en Cuadro 4 y Figura 7.

Cuadro 4. Cantidad de quistes en raíz del tubérculo observados al estereoscopio de luz. San Juan de Chichuá, Cartago. 2007.

TRATAMIENTO	REPETICIONES			MEDIAS TRATAMIENTOS
	I	II	III	
Tratamiento 1 (0 quistes)	0	0	0	0 a
Tratamiento 2 (5 quistes)	0	0	0	0 a
Tratamiento 3 (10 quistes)	0	0	0	0 a
Tratamiento 4 (15 quistes)	0	0	0	0 a
Tratamiento 5 (20 Quistes)	0	0	0	0 a
Tratamiento 6 (25quistes)	0	0	0	0 a
Tratamiento 7 (30 quistes)	0	0	0	0 a
Tratamiento 8 (35 quistes)	2	1	1	1,33 a
Tratamiento 9 (40 quistes)	10	9	3	7,33 b
Tratamiento 10 (45 quistes)	12	11	5	9,33 b

Medias con distinta letra indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

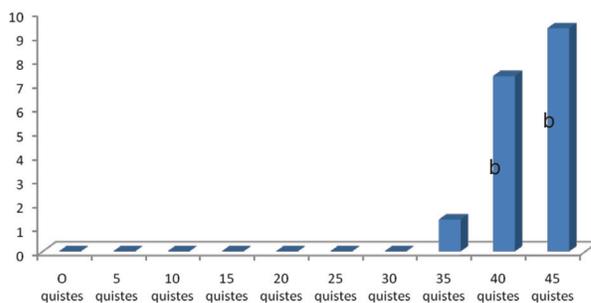


Figura 7. Efecto de inoculaciones de quistes vs. reproducción de quistes adheridos en raíz variedad floresta de papa (*Solanum tuberosum*). San Juan de Chichuá. Cartago .2007.

En la Figura 8, se observaron síntomas y presencia de *Globodera pallida* en plantas a

los 80 días de la siembra en los tratamientos de 35, 40 y 45 quistes. También se diagnosticó el daño en el tallo, hojas y raíces con quistes adheridos.

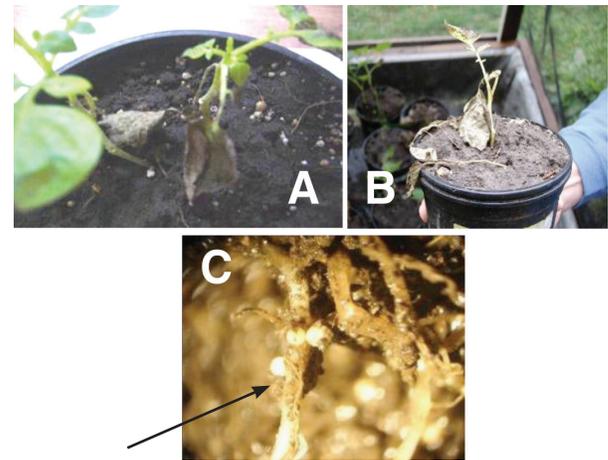


Figura 8. Planta con síntoma en 35 quistes (A), destrucción total en 40 quistes (B) y quistes adheridos a raíz en 45 quistes (C). San Juan de Chichuá. Cartago 2007. Fuente: Piedra Naranjo, R.

Para la obtención de los niveles de daño de acuerdo a la cantidad de quistes inoculados se tomó como referencia los tratamientos que presentaron quistes en raíz, síntomas en las plantas y reducción de peso en tubérculos. Posteriormente se realizó el cálculo basado en los 700 g de suelo en los tratamientos y la viabilidad de 260 huevos y larvas. El resultado mostró que las cantidades de 13,00; 14,86 y 16,71 huevos y larvas por g de suelo, respectivamente, fueron una densidad poblacional importante para producir daño en las plantas de esta variedad de papa (Cuadro 5).

Cuadro 5. Umbrales de daño establecidos a partir de 35, 40 y 45 quistes inoculados, San Juan de Chichuá. Cartago. 2007.

Quistes daño en la planta	Huevos y con por quiste y larvas suelo	Total de larvas huevo/ 700 g de suelo	Huevos y larvas por g
35	260	9 100	13,0
40	260	10 400	14,86
45	260	11 700	16,71

La variable de peso en g de tubérculos no presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos, si hubo una disminución en peso de tubérculos de 21,43; 30,93 y 42,86 gramos a partir de las inoculaciones de 35, 40 y 45 quistes respectivamente. Este análisis fundamentó las inoculaciones a partir de los síntomas en las plantas y quistes adheridos en raíz.

Con la viabilidad de 260 huevos y larvas por quiste la inoculación de 5, 10, 15, 20, 25 y 30 quistes no evidenció síntomas en las raíces en plantas de la variedad floresta a los 80 días de la siembra. Esto concluyó que la densidad poblacional no fue suficiente para tener una reproducción del nematodo *Globodera pallida* en raíces de la plantas inoculadas.

La investigación presentó un umbral de daño con una densidad poblacional inicial de 13,00; 14,86 y 16,71 de huevos o larvas por g de suelo en plantas de la variedad floresta.

Las densidades poblaciones en estos resultados pudieron variar a nivel de campo al interactuar con otros factores como el clima, suelo, manejo del cultivo, época de siembra, variedad de papa y otros.

Finalmente se consideró que los niveles de daño pudieron incrementarse en algunos casos cuando el nematodo favorece la entrada de otros organismos patógenos de suelo, como la bacteria *Ralstonia solanacearum* y otros hongos que en interacción, limitando el rendimiento del cultivo de papa y por ende la reducción de la producción de tubérculos.

LITERATURA CITADA

- Arias H Karen. 2004. Subgerencia de Desarrollo Agropecuario. Dirección Mercadeo y Agroindustria. Servicio de Información de Mercados, Consejo Nacional Producción, Boletín Semanal SIM/CNP/ s.p.
- Alfaro R, C. 2009. Dirección de Programas Nacionales, Programa Nacional Sectorial de Papa. Disponible en: gerencias-mag@mag.go.cr. www.mag.go.cr/prog-nac-papa-anteceentes.html. Consultado el 5 noviembre 2009.
- Centro Internacional de la Papa. 1981. Evaluación de la Resistencia en Papa a los Nematodos del Quiste. Boletín de Información Técnica 10. p 11.
- Centro Internacional de la Papa. 1986. Nematodo de Quiste de la Papa. Boletín de Información Técnica 9. p 12.
- Evans, K. & A.R. Stone. 1977. A Review of the Distribution and Biology of the Cyst Nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. PANS 23 (2): 178-189.
- Fenwick, D. W. 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. J. Helminth. 18: 155 - 172.
- Gladkaya. R. M. et al. 1985. The Potato Nematode. En: CAB. 1984-1986. Abstracts on CD-ROM. Silver Plate Information. vol I. CAB Internacional. UK. S.p.
- Greco, N.; Moreno, I.L. 1992. Development of *Globodera rostochiensis* during three different growing seasons in Chile. Nematropica 22: pp. 175- 181.
- Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Agrícolas, GT (ICTA). 2002. Catálogo de variedades de papa. Guatemala. P 22.
- InfoStat. 2008. InfoStat, versión 2008. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas Argentina. Sp.
- Mai, W.F., Brodie, B.B., Harrison, M.B, Jatala, P. 1980. Nematodo de la pudrición de la papa. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa. W.J.Hooker editor. Con autorización de The American Phytopathological Society. USA. pp. 131-134.
- Noling, JW. 2001. Nematodes and their management. University of Florida, USA. UF/IFAS.
- Oostenbrink, M. Het aardappelaaltje 1950. (*Heterodera rostochiensis* Wollenweber) een gevaarlijke parasiet voor de eenzijdige sardappelcultuur. Versl. Meded. plziektenk. Dienst. Wageningen 115: 230.
- SFE (Servicio Fitosanitario del Estado). 2005. Actualidad fitosanitaria. Centro de Información y Notificaciones. Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Barreal de Heredia, Costa Rica. Sp.
- Smith, I.M., McNamara, D.G., Scott, P.R., Holderness, M. 1997. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* Data Sheets on Quarantine Pests. pp. 601-606. En: Quarantine Pest for Europe. Second ed. CAB International & EPPO.UK 1425 p.
- Trudgill, DL. 1985 Potato cyst nematodes: a critical review of the current pathotyping scheme. EPPO Bulletin 15: 273-279.