

Mortalidad de plántulas de “mangle negro” *Avicennia germinans* (Avicenniaceae) por nematodos (*Meloidogyne*) y su control bajo condiciones de vivero

Mortality of "black mangrove" seedlings *Avicennia germinans* (Avicenniaceae) by nematodos (*Meloidogyne*) and its control under nursery conditions

Gustavo Carmona-Díaz^{1,2}✉, Saúl Hernández Carmona², Alejandro Retureta Aponte¹, Agustín de Jesús Basáñez Muñoz³ y Francisco García Orduña²

¹Facultad de Ingeniería en Sistemas de Producción Agropecuaria. Universidad Veracruzana km 4.5 Carretera Costera del Golfo, Acayucan – Catemaco. C. Postal: 96000 Acayucan, Veracruz, México. gcarmona@uv.mx. ✉ Autor para correspondencia.

²Instituto de Neuroetología. Universidad Veracruzana. Luis Castelazo Ayala s/n. Colonia Industrial Ánimas. Código Postal 91190. Xalapa, Veracruz, México.

³Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana, Región Poza Rica-Tuxpan. Carretera Tuxpan-Tampico Kilómetro 7.5. Colonia Universitaria. Código Postal 92850. Tuxpan, Veracruz, México.

Recibido: 2/06/2014

Aceptado: 13/11/2014

RESUMEN

Los nematodos son organismos parásitos que representan el 50 al 70% del total de los animales meiobénticos presentes en los ecosistemas de manglar. Algunos de sus géneros como *Meloidogyne* son fitopatógenos y ocasionan daño a varias especies de mangle pero poco se ha documentado sobre su presencia y mortalidad ocasionada en mangles cultivados *ex situ*. En el vivero de mangles de la Facultad de Ingeniería en Sistemas de Producción Agropecuaria de la Universidad Veracruzana, se registró gran mortandad de plántulas de *Avicennia germinans*. El objetivo fue aislar, cuantificar e identificar los nematodos presentes en plántulas de *Avicennia germinans* para confirmarlos como causa de mortalidad. Los nematodos fueron extraídos de las raíces y tallos de las plántulas infectadas con el método del embudo de Baermann. Se observaron y contaron con un microscopio estereoscópico Motic SMZ-168. Para comprobar si los nematodos causaban la mortalidad, se inocularon 100 plántulas sanas con nematodos extraídos y se observó si presentaban los síntomas de amarillamiento, flacidez y número de individuos muertos. Para controlar la mortandad de plántulas por los nematodos a 30

plántulas infectadas se les aplicó Carbofuran al 33.21%, otras 30 se regaron durante 15 días diariamente con agua salada (35 psu) y 30 como control. Los nematodos encontrados fueron de la especie *Meloidogyne incognita*. Se comprobó que los nematodos fueron los causantes de la mortandad. Los tratamientos con Carbofuran y el riego con agua salada tuvieron una eficacia similar en el control de los nematodos y la recuperación de las plántulas.

Palabras clave: Plántulas, Nematodos, *Meloidogyne incognita*, Manglar, *Avicennia germinans*.

ABSTRACT

Nematodes are dominant, representing 50 to 70% of total mangrove meiobenthos animals, although the phytopathogenic genera are rare. In the mangrove nursery of the Facultad de Ingeniería en Sistemas de Producción Agropecuaria, Veracruzana University presented a problem in *Avicennia germinans* seedling mortality caused by nematodes. The main objective was to isolate, quantify and identify the nematodes in *Avicennia germinans* seedlings, to confirm whether they were the cause of mortality and evaluate two treatments. The nematodes were extracted with the Baermann funnel method were observed and counted with a stereomicroscope Motic SMZ-168. To test whether the nematodes causing disease, 60 healthy seedlings were inoculated with nematodes extracted from the samples and observe for symptoms. Finally, at 30 seedlings were applied a commercial agricultural nematicide (carbofuran to 33.21%), another 30 were irrigated daily with seawater (35 psu) for 15 days and 30 were used as control. All nematodes found were of the species *Meloidogyne incognita*. It was found that nematodes were responsible for the disease. Commercial nematicide treatment and treatment with salt water had similar efficacy.

Key words: Seedlings, Nematodos, *Meloidogyne incognita*, Mangrove, *Avicennia germinans*.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos pertenecen al Phylum Nematoda siendo el más grande de los asquelmintos o gusanos redondos que parasitan tanto a plantas como a animales (Sultan *et al.*, 1998). Los nematodos fitopatógenos son organismos pequeños de 300 a 1000 μm , siendo algunos mayores a 4 mm de longitud por 15 a 35 μm , de ancho (Hopper *et al.*, 1973). Los nematodos tienen forma de anguila y en corte transversal se ven redondos, presentan cuerpos lisos no segmentados y carecen de patas u otros apéndices. Las hembras de algunas especies se hinchan en la madurez y adquieren la forma de una pera o de cuerpos esferoides (Shahid *et al.*,

2003). La mayoría de los varios miles de especies de nematodos viven libremente en gran número en aguas saladas o dulces o en el suelo, alimentándose de plantas y animales microscópicos. Sin embargo, se sabe que varios centenares de sus especies se alimentan de plantas vivas en las que producen una variedad de enfermedades y si no son controlados pueden ocasionar la muerte de individuos, principalmente, plántulas y juveniles (Agris, 2002).

Todos los nematodos fitoparásitos poseen un estilete hueco o lanza que utilizan para perforar las células vegetales y la mayoría de éstos viven parte de su vida en el suelo, alimentándose superficialmente de las raíces y

tallos subterráneos de las plantas, aún en el caso de los nematodos sedentarios especializados como los del género *Meloidogyne*, cuyos huevecillos, etapas larvarias preparásitas y machos, se encuentran en el suelo durante toda su vida o gran parte de ella (Barker e Imbriani, 1984).

Los nematodos que infectan a las plantas producen síntomas tanto en las raíces como en los órganos aéreos de las plantas (Ferris, 1981). Los síntomas de la raíz aparecen en forma de nudos, agallas o lesiones en ella, ramificación excesiva de la raíz, puntas dañadas de esta última y pudriciones de la raíz cuando las infecciones por nematodos van acompañadas por bacterias y hongos saprofitos o fitopatógenos (Webster, 1969; Powell, 1971; Endo, 1975; Wyss, 1982). Estos síntomas con frecuencia van acompañados por otros no característicos en los órganos aéreos de las plantas y que aparecen principalmente en forma de un menor crecimiento, síntomas de deficiencias en nutrientes como el amarillamiento del follaje, el marchitamiento excesivo de las plantas, un menor desarrollo de los individuos vegetales (Agrios, 2002). Son las interacciones bioquímicas entre la planta y el nematodo las que afectan negativamente la fisiología total de las plantas y a lo que se deben principalmente los daños que sufren las plantas; adquiriendo importancia cuando las poblaciones de estos fitopatógenos son muy grandes (Sultan *et al.*, 1998).

En el manglar, los nematodos se desarrollan de manera libre en el sedimento y también como parásitos que infectan virtualmente todos los organismos, estuarinos y lagunares. La presencia de numerosas especies parásitas, hacen a este phylum uno de los más importantes del grupo de animales parasitarios (Platt y Warwick, 1980; Sultan *et al.*, 1998). Se ha documentado que los compuestos secundarios de la hojarasca y raíces de los mangles influyen negativamente en la densidad de nematodos, siendo éstas un importante factor

para el control de los nematodos (Alongi, 1987). Además, se han utilizado extractos de *Avicennia marina* y *Rhizophora mucronata* para controlar fitonematodos patógenos en cultivos de tomate, soya verde y okra (Medhi *et al.*, 2000; Tariq *et al.*, 2007).

El objetivo principal del trabajo fue aislar, cuantificar e identificar los nematodos presentes en las plántulas de *Avicennia germinans* creciendo en condiciones de vivero para determinar, primero, si eran la causa de la mortalidad, para después, implementar dos tratamientos para el control y la erradicación de los nematodos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron 12 plántulas de *Avicennia germinans* con síntomas severos: 1) marchitez, 2) poco crecimiento, 3) necrosis en raíces y 4) nodulación en las raíces, 5) amarillamiento de tallos y hojas. Las raíces de cada plántula fueron seccionadas en raíces primarias y secundarias, a cada una se les midió el diámetro. Posteriormente, las raíces fueron cortadas con tijeras en trozos de 1 cm aproximadamente. Los nematodos fueron extraídos con el método del embudo de Baermann, el cual consiste en colocar el material vegetal envuelto en papel filtrante dentro de embudos llenos con agua, que tienen un tubo de látex con una llave en el extremo inferior; se utilizaron dos embudos por plántula uno para cada sección (raíces primarias y raíces secundarias) (Agrios, 2002). El conteo de los nematodos fue con un microscopio estereoscópico Motic SMZ-168. La identificación taxonómica se realizó con las claves especializadas de Coyne (2007) y Cantaria (2010) y mediante consultas a especialistas.

Para comprobar si los nematodos causaban la mortandad de plántulas, se inocularon 100 plántulas sanas con nematodos extraídos y se observó si presentaban los

síntomas (Agrios, 2002). Por último se tomaron 90 plántulas con síntomas de daño por nematodos. A 30 se les aplicó un nematicida agrícola comercial (Carbofuran al 33.21%), otras 30 se regaron diariamente con agua salada (35 psu) durante 15 días, esto último debido a que se ha documentado que en los mangles la salinidad incrementa el contenido de metabolitos secundarios, los cuales son tóxicos para los nematodos (Alongi, 1987; Medhi *et al.*, 2000; Tariq *et al.*, 2007) y 30 fueron utilizadas como control. La sobrevivencia de las plántulas de *Avicennia germinans* fue analizada con la prueba de Gehan-Breslow. Para detectar diferencias entre tratamientos se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Holm-

Sidak. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SigmaPlot 11.0.

RESULTADOS

Los nematodos encontrados fueron de la especie *Meloidogyne incognita*. La mayor densidad de nematodos se encontró en las raíces secundarias con diámetro menor a 1 mm y la menor densidad de nematodos en las raíces primarias con diámetro mayor a 5 mm. No hubo diferencias significativas entre la cantidad de nematodos presentes en las raíces primarias y las raíces secundarias ($U = 62, 000$, $P = 0.828$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Densidad de nematodos por tipo y grosor de raíces. Media \pm desviación estándar. N/A = No aplica.

Tipo\grosor	<1mm	1-3mm	3-5 mm	>5mm
(n=12)	Ind/ml	Ind/ml	Ind/ml	Ind/ml
Principal	N/A	4.3 \pm 1.2	3.2 \pm 1.5	1.4 \pm 1.3
Secundaria	5.1 \pm 1.8	4.4 \pm 1.8	N/A	N/A

Al inocular plántulas sanas de *Avicennia germinans* (n=100), los síntomas se presentaron en todos los individuos. A los 10, 15 y 20 días el 30, 60 y 100% de las plántulas, respectivamente, presentaron síntomas severos

de infección por nematodos. A los 60 días murieron el 10 % de las plántulas tratadas con Carbofuran, mientras que de las regadas con agua salada murieron el 13.3%, el control tuvo una mortandad del 90% (Figura 1).

Análisis de Supervivencia

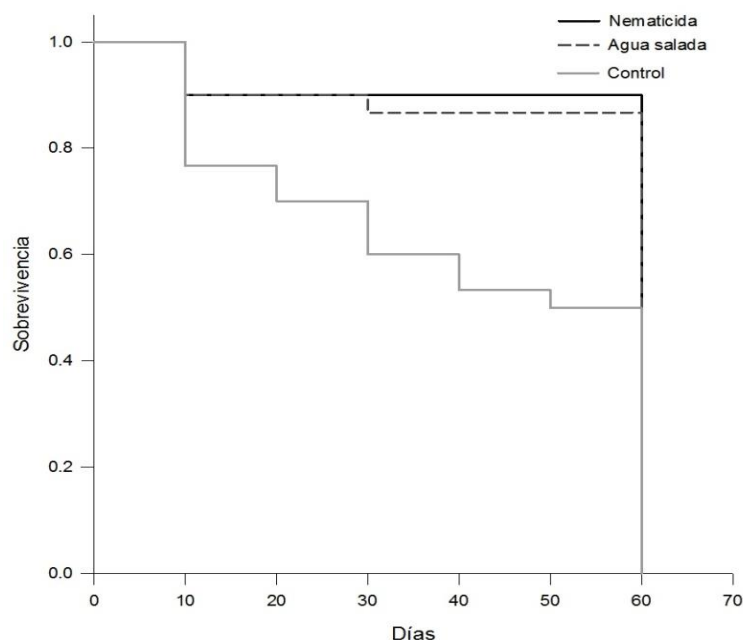


Figura 1. Curvas de supervivencia de las plántulas de *Avicennia germinans* para cada tratamiento.

El tiempo promedio de supervivencia de las plántulas de *Avicennia germinans* del tratamiento con nematicida fue de 55 ± 2.785 días (media \pm error estándar), para el de agua salada 54 ± 2.901 días y por último para el control de 41 ± 3.935 días. Los tratamientos con nematicida y agua salada tuvieron diferencias significativas en el tiempo de supervivencia con respecto al control ($P=0.002$ y $P=0.0049$, respectivamente). Entre los tratamientos con nematicida y agua salada no hubo diferencias significativas ($P=0.72$). Se observó que la recuperación de las plántulas de *Avicennia germinans* es paulatina y constante, y que los individuos alcanzan una salud plena con el paso de los días sin volver a sufrir daños por infección de nematodos.

DISCUSIÓN

La especie *Meloidogyne incognita* encontrada en las plántulas infectadas de *Avicennia germinans* es una de las más

comunes en plantas agrícolas pero poco común en plántulas de mangles (Maqbool y Kerry, 1997; Agrios, 2002). En los ecosistemas de manglar pocas veces se ha registrado la presencia de especies de este género (Platt y Warwick, 1980; Alongi, 1987; Sultan *et al.*, 1998), por lo tanto es muy probable que la infestación por nematodos de las plántulas de “mangle negro” *Avicennia germinans*, haya provenido del sustrato utilizado para la germinación y el crecimiento de los mangles, del mismo suelo del vivero o incluso del agua de lluvia.

La mayor densidad de nematodos en las raíces secundarias más pequeñas (<1 mm) tiene explicación en: 1) la facilidad de penetrar los tejidos más jóvenes y menos lignificados y 2) el comportamiento mismo de los nematodos del género *Meloidogyne* (Agrios, 2002). Aunque los nematodos causan enfermedades por si solos, es probable que haya sido una asociación nematodo-hongo, nematodo-bacteria o nematodo-virus, la que ocasionó la mortandad

de plántulas de *Avicennia germinans* (Gómez *et al.*, 2011). Los nematodos proporcionan la vía de entrada a los demás patógenos (Webster, 1969; Powell, 1971; Wyss, 1982).

Es muy probable que el incremento en la salinidad haya provocado que aumentara la concentración de metabolitos secundarios en el sustrato y que éstos hayan controlado la cantidad de nematodos, tal como lo registraron Giebel (1982) y Alongi (1987). La otra explicación es que la concentración de sal en su organismo les provoque la ruptura de sus tejidos (Medhi *et al.* 2000; Tariq *et al.*, 2007). Por lo tanto, al utilizar el tratamiento con agua salada se eliminó la enfermedad, a la vez que se evitó el uso de agroquímicos tóxicos. Esto permitió un ahorro considerable de dinero en función de la cantidad de plántulas de mangle infectadas.

CONCLUSIONES

- 1) Las plántulas sanas inoculadas con nematodos presentaron los mismos síntomas que las plántulas enfermas. De esta manera se determinó que la causa de la mortandad de plántulas fue debida a los nematodos.
- 2) La efectividad del tratamiento con agua salada comprueba la hipótesis de la importancia de los metabolitos secundarios para el control de los nematodos fitopatógenos en mangles

LITERATURA CITADA

Agrios, G.N. 2002. Fitopatología. Segunda edición. Editorial Limusa. 778 p.

Alongi, D.M. 1987. The Influence of Mangrove-Derived Tannins on Intertidal Meiobenthos in Tropical Estuaries. *OECOLOGIA* 71(4): 537-540.

Barker, K. R. y J. L. Imbriani. 1984. Nematode advisory programs. Status and prospects. *PLANT DIS.* 68: 735-741.

Cantaria, N. 2010. Clave para la identificación de nematodos (*Meloidogyne* spp.) en suelos agrícolas. Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Caracas, Venezuela. 150 p.

Coyne, D. L. 2007. Nematología. Guía de campo y laboratorio. Identificación de géneros y especies. Integrated Pest Management. Cotonou, Benin. 93 p.

Endo, B. 1975. Pathogenesis of nematode-infected plants. *ANNU. REV. PHYTOPATHOL.* 12: 213-238.

Ferris, H. 1981. Dynamic action thresholds for diseases induced by nematodes. *ANNU. REV. PHYTOPATHOL.* 19: 427-436.

Giebel, J. 1982. Mechanism of resistance to plant nematodes. *ANNU. REV. PHYTOPATHOL.* 20: 257-279.

Gómez, L., M. Rodríguez, R. Enrique, D. Hernández, Y. Rodríguez, A. Lorenzo y L. Díaz. 2011. Evaluación del co-producto de Cikron-H para la biodesinfección de suelos. Efecto nematicida. *REV. PROTECCIÓN VEG.* 23 (3): 1-7.

Maqbool, M.A. y B. Kerry. 1997. Plant Nematode Problems and their Control in the Near East Region. *FAO Plant Production and Protection Paper* – 144. Nigeria. 300 p.

Mehdi, F.S., I. A. Siddiqui, A. Sajjad y M. Afzal. 2000. Effects of *Rhizophora mucronata* (Mangrove) in the Control of Root-knot Nematode and Root-infecting Fungi of Tomato.

PAKISTAN JOURNAL OF
BIOLOGICAL SCIENCES 3 (8):
1308-1310.

Wyss, U. 1982. Virus-transmitting nematodes:
Feeding behavior and effect on root
cells. PLANT DIS 66: 639-644.

Platt, H.M. y R.M. Warwick. 1980. The
significance of nematodes to the
littoral ecosystem. In: Price, J.H.,
Irvine, D.E.C., Farnham, W.H. (Eds.),
Ecosystems. The Shore Environment,
vol. 2. Academic Press, London, p.
729-759.

Powell, N. T. 1971. Interactions between
nematodes and fungi in disease
complexes. ANNU. REV.
PHYTOPATHOL. 9: 253-294.

Shahid, S., I. Siddiqui y F. Mehdi. 2003.
Avicennia marina (Mangrove) soil
amendment changes the fungal
community in the rhizosphere and root
tissue of mungbean and contributes to
control of root-knot nematodes.
PHYTOPATHOL. MEDITERR. 42:
135-140.

Sultan, M.A., S. Ajmal y T. Balasubramanian.
1998. Nematodes of Pitchavaram
mangroves. GIS based information
system for Pitchavaram Mangroves.
DOD-ICMAM, Govt. of India, CAS in
Marine Biology, Parangipettai, 48 p.

Tariq, M., S. Dawar, F.S. Mehdi y M.J. Zaki.
2007. Use of Avicennia marina
(Forsk.) Vierh in the control of root
knot nematode Meloidogyne javanica
(Treub) Chitwood on okra and mash
bean. TURKISH JOURNAL OF
BIOLOGY 31: 225-30.

Webster, J. M. 1969. The host-parasite
relationships of plant-parasitic
nematodes. ADV. PARASITOL. 7: 1-
40.