

TRABAJO

HISTOPATOLOGÍA DE AGALLAS PRODUCIDAS POR *Meloidogyne arenaria* (NEMATODA) EN PLANTAS DE POROTO *Phaseolus vulgaris* (FABALES), DE PALPALÁ, PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA

HISTOPATHOLOGY OF GALLS PRODUCED BY *Meloidogyne Arenaria* (NEMATODA) IN BEAN PLANTS *Phaseolus Vulgaris* (FABALES), IN PALPALÁ, JUJUY PROVINCE, ARGENTINA

Claudia Gallardo^{1*}, Guillermo Cap² y Andrés Nico³

¹Cátedra de Zoología Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias. UNJu. Alberdi 47. San Salvador de Jujuy (4600) Argentina.

²C.E.I. – Gorina – MAIBA – E.E. AMBA – INTA. Calle 501 y 149, J. Gorina- (1897), M. B. Gonnet, Buenos Aires. Argentina.

³Cátedra de Horticultura – Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Calle 60 y 119, La Plata, Bs. As. (1900)

*Autor para correspondencia:
claudiagallardo52@yahoo.com

Licencia:

[Licencia Creative Commons](#)

Atribución-NoComercial-
CompartirIgual 4.0 Internacional

Período de Publicación:
Julio 2020

Historial:

Recibido: 17/08/2019

Aceptado: 06/03/2020

RESUMEN

Los nematodos noduladores producen agallas radiculares que en su interior presentan sitios permanentes de alimentación conocidos como “células gigantes” que obstruyen el transporte de agua y nutrientes al resto de la planta. En ocasiones estas células gigantes convergen, las paredes celulares se destruyen y los haces vasculares quedan ocupados por espacios vacíos. El género principal de nematodos noduladores, *Meloidogyne* está ampliamente distribuido en Argentina pero hasta el presente no se había realizado en el país ningún estudio sobre los cambios histopatológicos que estos nematodos provocan sobre plantas de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). Para describir las alteraciones producidas en las raíces de poroto por *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwwo, se incluyeron 10 secciones de las mismas en parafina y se hicieron cortes de 10 µm de espesor con micrótomo rotatorio. Los cortes se tiñeron con colorante safranina-verde rápido para su análisis. Las raíces infestadas mostraron sitios grandes de alimentación los cuales se ubicaron principalmente en el cilindro vascular, destruyendo los vasos de conducción del xilema y del floema. También se observó hiperplasia y presencia de núcleos hipertrófiados. La información presentada permitirá diferenciar las alteraciones radiculares producidas por *M. arenaria* de las provocadas por otros nematodos endoparásitos sedentarios.

Palabras clave: células gigantes, histopatología, *Meloidogyne arenaria*, Poroto.

SUMMARY

Root knots nematodes produce root galls having specialized feeding sites inside known as “giant cells”, that water and nutrient transport. Occasionally, giant cells converge, cell walls are destroyed, and vascular bundles are occupied by empty spaces. The main root-knot nematode genus, *Meloidogyne* spp. is widely distributed in Argentina, but so far no

studies about the histopathological changes that these nematodes cause on bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) have been conducted before. In order to describe histological changes caused by *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, on bean roots, 10 portions were placed in paraffin and cuts of 10 m thick using rotary microtome were made. The sections were later stained with safranin fast green staining to allow their observation. Infested roots showed large feeding sites which were located mainly in the vascular cylinder, destroying xylem and phloem conduction vessels. Hyperplasia and, the presence of hypertrophied nuclei were also observed. The information presented in this paper will allow to distinguish root alterations caused by *M. arenaria* from those caused by other root-knot nematodes.

Keywords: bean, giant cells, histopathology, *Meloidogyne arenaria*.

INTRODUCCIÓN

El término histopatología hace referencia al estudio microscópico de los tejidos y a las alteraciones celulares de las plantas, en relación con el parasitismo (National Academy of Sciences, 1980). Las agallas son estructuras anormales de tejidos u órganos de las plantas que se desarrollan por la reacción específica a la presencia o actividad de un organismo parásito inductor (Shorthouse *et al.*, 2005). Las especies del género *Meloidogyne* se caracterizan por ser formadoras de agallas radiculares que inducen a la formación de sitios específicos de alimentación conocidos como “células gigantes” que alteran el sistema radicular de las plantas. (Escobar Ávila. *et al.*, 2017). La continuidad del haz vascular se ve interrumpida y se altera la funcionalidad de la raíz. (Gallardo *et al.*, 2018). El género *Meloidogyne* está ampliamente distribuido en la Argentina (Doucet, M. y Lax, P., 2007), pero hasta el presente no existen antecedentes sobre los cambios histopatológicos que estos nematodos provocan en las raíces de *Phaseolus vulgaris*. Trabajos recientes (Gallardo *et al.*, 2018) han permitido identificar en la provincia de Jujuy (Argentina) plantas cultivadas de poroto infestadas con *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood. Con el fin de contribuir a la comprensión de las relaciones huésped-parasito que se verifican en este patosistema, se plantea como objetivo describir las alteraciones histopatológicas producidas por *M. arenaria* en las raíces de plantas de poroto de la localidad de Palpalá (provincia de Jujuy, Argentina).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar el presente estudio se procedió a realizar cortes sobre raíces de plantas de poroto blanco variedad Alubia con 25 días de crecimiento en macetas de 3kg de suelo esterilizado, infestadas con *M. arenaria*, artificialmente, mantenidas durante 90 días en invernadero a 23°C (+/-2°C). La infestación de las plantas se logró a partir de inóculo producido en cultivo axénico obtenido a través de una masa de huevos del nematodo *M. arenaria* (Jepson, 1987), aislada a partir de una planta de poroto infestada naturalmente proveniente de una parcela del cultivo de la localidad de Río Blanco, Jujuy (Gallardo *et al.*, 2018). De la raíz de esta planta se extrajeron 5.000 huevos más juveniles segundo estadio de *M. arenaria*. Al término de 90 días, las plantas fueron extraídas de las macetas, luego se cortaron sus raíces y se lavaron con agua corriente de red. Antes de continuar con el procesamiento con vistas a observar las transformaciones histopatológicas presentes, las raíces fueron observadas al desnudo y con microscopio estereoscópico. En esta etapa se realizó un registro rápido de la abundancia, apariencia y tamaño de las agallas, así como de los signos de la presencia del agente parásito. Posteriormente se fijaron mediante el método de la glicerina anhidra. Para ello las raíces se sumergieron en una mezcla de etanol – formol – ácido acético 20: 1: 79 v/v (FAA) en donde se dejaron durante 24 hs. A continuación se procedió a efectuar la deshidratación en etanol a diferentes concentraciones (70% – 80% – 90% y 99%) y posteriormente se incluyeron en bloques de parafina. Para obtener las muestras, se realizaron cortes seriados de 10 µm de espesor

con micrótomo rotativo. Los cortes se montaron en portaobjetos en un baño de flotación en una mezcla de agua y glicerina y posteriormente se procedió a extraer los remanentes de parafina sumergiéndolos sucesivamente en xilol y etanol absoluto – xilol por 5 minutos en cada uno. Una vez que los cortes fueron enjuagados con agua destilada por 10 minutos se procedió a la tinción de los mismos en dos pasos sucesivos, primero con safranina al 5% y luego con verde rápido al 1%. (Escobar – Ávila *et al.*, 2017). Las observaciones microscópicas y las fotografías se realizaron a través de un microscopio 40 x con cámara fotográfica incorporada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología de las agallas

Las agallas radiculares producidas por *M. arenaria* en plantas de *Ph. vulgaris* se encuentran en la raíz principal y en las secundarias (Fig. 1).



Figura 1. Raíces de *Phaseolus vulgaris* (primarias y secundarias) con agallas y masas de huevos de *M. arenaria* (Nematoda) (Microscopio óptico 40X)

La observación a ojo desnudo de las raíces con agallas permitió observar una amplia variabilidad en el tamaño de las mismas, aunque la exploración histopatológica posterior mostrara una amplia similitud entre las mismas, independientemente de su dimensión.

La observación bajo microscopio estereoscópico permitió observar, en la superficie de las agallas, las masas de huevos expulsadas

hacia el exterior por las hembras del nematodo (Fig. 1).

Las agallas mostraron una consistencia dura muy similar a la de las raíces y constituyen dilataciones del órgano radicular por lo que no pueden desprenderse o separarse de éste.

En algunas ocasiones pudo observarse en la superficie de las mismas la presencia de hasta media docena de masas de huevos.

Histopatología

Una vez que las larvas de segundo estadio entran en la raíz se trasladan hacia el sitio de alimentación, entre o dentro de las células del cilindro vascular.

En los cortes transversales de las raíces infestadas puede observarse, en principio, manifestaciones claras de hiperplasia. El análisis más detallado permitió observar cavidades grandes. Estas cavidades provienen de la degradación de sitios de alimentación conocidos con el nombre de “células gigantes” los cuales se ubicaron principalmente en el cilindro vascular, destruyendo los vasos de conducción del xilema y del floema. (Figs. 2 y 3).

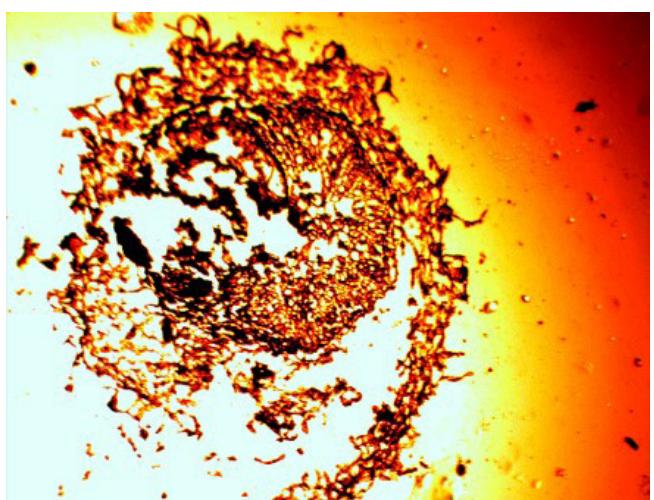


Figura 2. Corte al micrótomo en plano transversal de raíces de poroto con detalle de cavidades grandes ubicadas en el cilindro vascular (Microscopio óptico 40X)

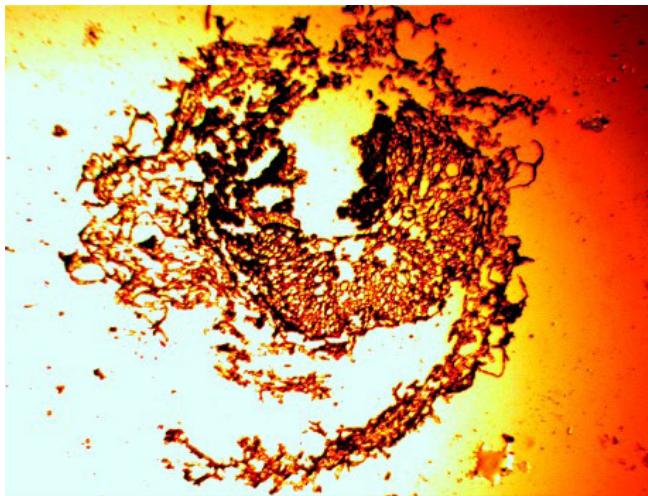


Figura 3. Corte al micrótomo en plano transversal de raíces de poroto con detalle de cavidades grandes por degradación de sitios de alimentación (Microscopio óptico 40X)

Las células gigantes se constituyeron a partir de la disolución de las paredes intercelulares de las células y la posterior fusión de los protoplasmas. (Figs. 4 y 5).

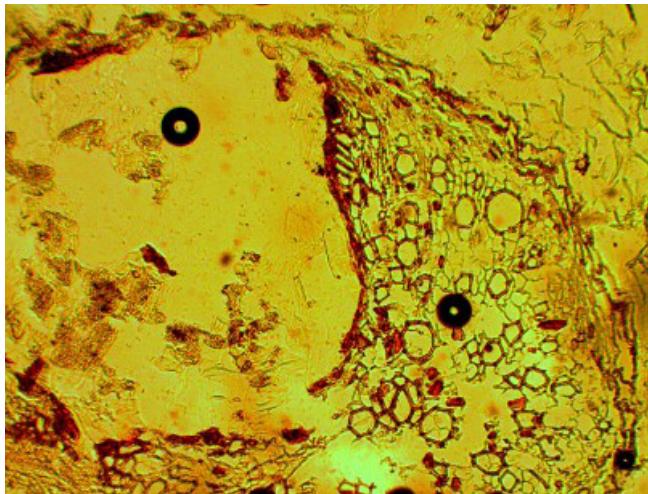


Figura 4. Corte al micrótomo en plano transversal de raíces de poroto con células gigantes multinucleares (Microscopio óptico 40X)

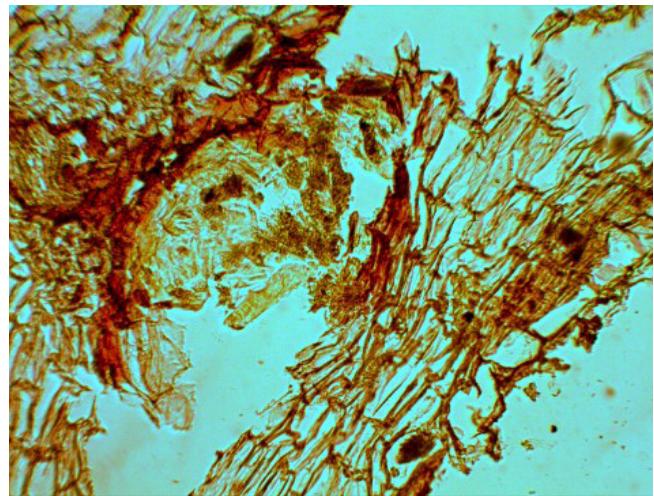


Figura 5. Corte al micrótomo en plano transversal de raíces de poroto con disolución de las paredes intercelulares producidas por el nematodo (Microscopio óptico 40X)

Las células gigantes mostraron ser multinucleares y de paredes gruesas. También se pudo constatar la presencia áreas lignificadas. (Figs. 4 y 5).

Con los cortes longitudinales se pudo detectar la presencia de hembras del nematodo en el cilindro central y también la masa de huevos. (Fig. 6).

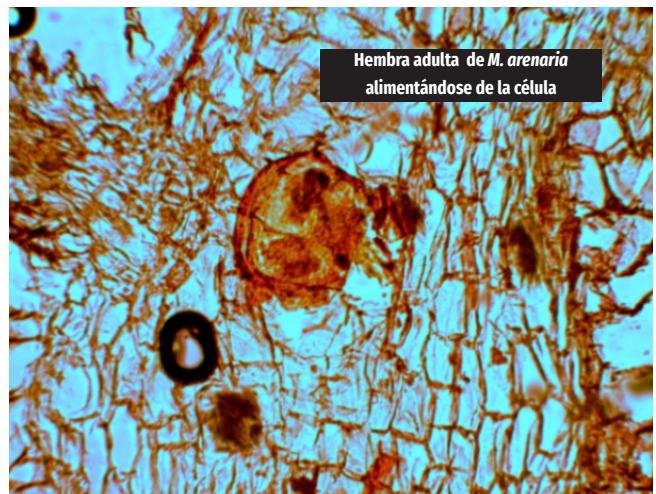


Figura 6. Corte al micrótomo en plano longitudinal de raíces de poroto donde se observa la hembra adulta y masa de huevos de *M. arenaria* (Microscopio óptico 40X)

Diversos autores coinciden en que las agallas tienen su propia morfología y anatomía como cualquier otro órgano vegetal (Shorthouse *et al.*, 2005).

Sin embargo con la excepción de algunos casos, se sabe poco acerca de los cambios histopatológicos progresivos que ocurren en los tejidos de las plantas huéspedes durante la penetración en ellas. (National Academy of Sciences, 1980).

Muruaga de L'Argentier *et al.*, 2005, encontraron en árboles frutales que algunos grupos de células gigantes que ya no alimentaban más a la hembra podían quedar ocupadas por células parenquimáticas que eran originadas por citocinesis del citoplasma multinucleado.

Las alteraciones histológicas provocadas por *M. arenaria* en las raíces de *Ph. vulgaris* mostraron la presencia de espacios grandes huecos provenientes de la degradación de sitios de alimentación. Estos espacios vacíos se ubicaron principalmente en el cilindro vascular, interrumriendo la continuidad de los vasos de conducción del xilema y del floema. También se observó hiperplasia y presencia de núcleos hipertrofiados.

Al observar la presencia de *M. arenaria* en los cortes longitudinales podemos confirmar que estos nematodos desarrollan en forma completa su ciclo de vida en la raíz de las plantas de poroto, dando lugar a la formación de masas de huevos.

Con respecto a las cavidades que ocasiona *M. arenaria* éstas se formarían por lisis celular debido a la acción mecánica y a los procesos bioquímicos que desencadena el nematodo durante su alimentación como sugiere Anwar *et al.*, 2000.

CONCLUSIONES

Estas observaciones constituyen el primer reporte de estudios histopatológicos sobre raíces de plantas de poroto cultivadas en el departamento Palpalá de la provincia de Jujuy.

Podemos inferir que la relación nematodo-hospedador es estrecha y que la variedad de poroto considerada resultó altamente susceptible a *M. arenaria*.

Por el momento estos estudios corresponden sólo a las alteraciones producidas por *Meloidogyne arenaria* sobre el cultivo de poroto, sin embargo, debido a la importancia que revisten los nematodos fitófagos es necesario continuar avanzando sobre otros géneros de nematodos endoparásitos que están asociados a distintos cultivos de importancia agrícola en la provincia de Jujuy.

BIBLIOGRAFÍA

- Anwar, S. A y M. V. McKenry. 2000. Penetration, development and reproduction of *Meloidogyne arenaria* on two new resistant *Vitis* spp. *Nematropica* 30:9-17.
- Doucet, M. y P. Lax, 2007. El género *Meloidogyne* y su situación con respecto a la Agricultura en la Argentina: *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*. 61, 31-50.
- Escobar-Ávila, I. M.; M. G. Medina-Canales, y A. Tobar-Soto, 2017. Distribución, ciclo de vida y alteraciones histológicas de *Heterodera* sp. en zanahoria, en Puebla. *Revista Mexicana de Fitopatología. Mexican Journal of Phytopathology*. 304-313 pp.
- Gallardo, C. B.; M. F. Achinelly; G. Cap; A. Nico y J. A. Brito, 2018. Caracterización molecular de *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood nematodo nodulador del cultivo de poroto en la provincia de Jujuy, Argentina. *AGRARIA*. Vol. XI (18) 5-9.
- Jepson, S. 1987. Identification of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* species). CAB International Wallingford. U. K. 265 pp.
- Muruaga de L'Argentier, S.; Lorenzo, E.; Gallardo, C.; Tordable, M.; Vilte, H., Quintana de Quinteros, S. y Bejarano, N. 2005. El nematodo del nudo *Meloidogyne incognita* y su presencia en raíces de higo en la provincia de Jujuy, Argentina. XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatólogos. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. 19-22 de Abril de 2005, pág. 506.
- National Academy of Sciences. 1980. Control de

nematodos parásitos de plantas. Volumen IV. ISBN 968-18-0362-0. Editorial LIMUSA S. A. México. 219 pp.

Shorthouse, J. D., Wool, D. y Raman, A. 2005. Gall-inducing insect: nature's most sophisticated herbivores. Basic. Appl. Ecol. 6:407-411.



Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional