

Penetración y desarrollo de *Heterodera avenae*, nematodo de los cereales, en raíces de trigo y cebada

M.^a C. ZANCADA y A. SÁNCHEZ

Se han enfrentado tres razas geográficas de *Heterodera avenae*, procedentes de Alcalá de Guadaíra (Sevilla), Concud (Teruel) y Santa Olalla (Toledo) a las variedades de trigo Anza y Castan y de cebada Emir y Hatif de Grignon, mediante cultivo artificial en agar, lo que ha hecho posible seguir todo el ciclo biológico de esta especie, desde la penetración en raíz de la larva en segunda fase, hasta la formación de machos, hembras adultas y fecundadas y hembras blancas.

Se destaca el interés de la puesta a punto de este cultivo en condiciones controladas por permitir además el estudio de las alteraciones que este parásito ocasiona en la raíz, y por su posible utilización para determinar la resistencia, tolerancia o susceptibilidad de las diferentes variedades de cereal a cada uno de los patotipos de esta especie en España.

María Cristina ZANCADA y Agustín SÁNCHEZ. Instituto de Edafología y Biología Vegetal. Serrano, 115, dupdo. C.S.I.C. 28006-Madrid.

INTRODUCCION

Se pretende comprobar «in vitro» la capacidad de penetración, establecimiento y desarrollo en raíces de cereales de larvas de tres razas geográficas de *Heterodera avenae*. Ello nos va a permitir confirmar en laboratorio las experiencias que estamos llevando a cabo sobre la caracterización de patotipos de esta especie en España.

Las larvas han sido obtenidas mediante estimulación de la emergencia larvaria en condiciones controladas y se han enfrentado a diferentes variedades de cereal con el fin de observar la respuesta de éstas a los tres tipos de poblaciones de *H. avenae*.

Esta forma de actuar ha hecho posible el seguimiento de todo el ciclo biológico de esta especie, desde la penetración en la raíz del cereal de la larva de segunda fase, que es la infectiva, hasta la formación de machos y

hembras, así como la fecundación de estas últimas.

MATERIAL Y METODOS

Se han seleccionado quistes procedentes de tres focos de infestación, detectados en Alcalá de Guadaíra (Sevilla), Concud (Teruel) y Santa Olalla (Toledo), SÁNCHEZ *et al.* (1985), y se han puesto en pocillos con agua dentro de tubos de plástico con fondo de malla de nylon de 150 μ m. de luz, que permite el paso de las larvas al agua cuando eclosionan pero no de los quistes (fig. 1). Los pocillos se colocaron en cámara controlada a una temperatura de 20°C., PERSON-DEDRYVER *et al.* (1982), durante un mes, tras lo cual se cambiaron a 10°C. Este cambio nos permite simular experimentalmente las condiciones naturales de descenso de temperatura en

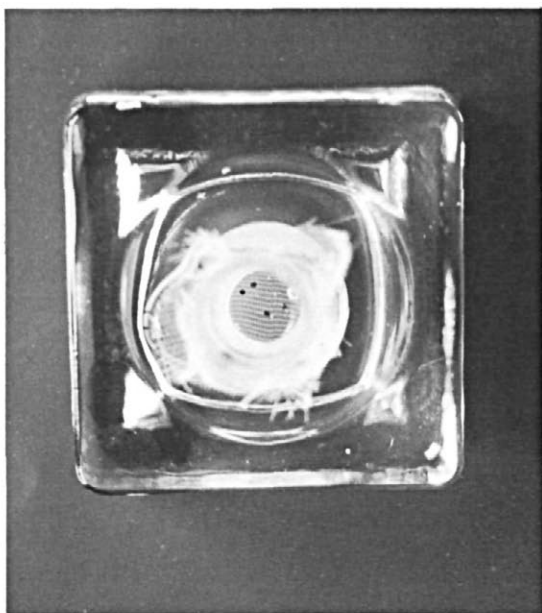


Fig. 1.—Estimulación de la emergencia larvaria.

invierno, con lo que tiene lugar la finalización de la diapausa estival de los quistes y se estimula la emergencia larvaria.

Se han utilizado los siguientes cereales y variedades: trigos Anza y Castan, y cebadas Emir y Hatif de Grignon.

El cultivo en medio artificial (fig. 2) se ha llevado a cabo del modo siguiente: en placa



Fig. 2.—Cultivo artificial en agar.

de Petri de 9 cm. de diámetro con agar el 2%, MUGNIERY *et al.* (1976), se depositó una semilla, pregerminada en cámara húmeda a 20°C. durante 48 horas, de la variedad de cereal que se iba a enfrentar a cada raza geográfica de *H. avenae*. Para ello, las larvas en segunda fase, obtenidas como se ha indicado anteriormente, se inocularon en número de 5 a 10 en cada uno de los extremos de las tres primeras raíces seminales formadas, cuando éstas tenían de 1 a 2,5 cm. de longitud, PERSON *et al.* (1979), cerrándose a continuación las placas y manteniéndolas a una temperatura de 20°C. durante 24 horas como indican DAVIES *et al.* (1976) y pasándose a continuación a 15°C. con un fotoperíodo de diez horas, durante un plazo máximo de dos meses. Para cada una de las razas de *H. avenae* y variedades de cereal se realizaron cinco réplicas.

A lo largo de los dos meses del ensayo, las plantas se fueron recogiendo del agar periódicamente, a los 15, 25, 35, 50 y 60 días de la inoculación. En cada caso, las raíces se observaron bajo un microscopio estereoscópico y a continuación se tiñeron en lactofenol cotton-blue, DAVIES (1974), y se procedió a su observación en un microscopio biológico invertido.

Tabla I

	Trigos		Cebadas	
	Anza	Castan	Emir	H. de Grignon
Alcalá de Guadaira (Sevilla) .	♂ (35 días)	L♀ 4ª (35 días)	L 2ª (35 días)	—
Concud (Tearuel)	L 2ª (15 días)	L♀ 4ª (25 días)	—	L♀ 4ª (50 días)
Santa Olalla (Toledo) .	L♀ 4ª, ♀F1 (50 días)	L♀ 4ª (35 días)	—	♀, ♂ (35 días)
		♀ blanca (60 días)		

RESULTADOS

La primera recogida se realizó a los quince días de la inoculación (tabla I), habiéndose encontrado larvas de segunda fase pertenecientes a la raza geográfica de Teruel instaladas en el interior de las raíces de trigo Anza; observándose, a los veinticinco días, larvas de hembra en cuarta fase de la misma raza dentro de raíces de trigo Castan.

En la recogida realizada a los treinta y cinco días se observaron machos dentro y fuera de la raíz de trigo Anza, larvas de hembra en cuarta fase en raíces de trigo Castan y larvas de segunda fase dentro de raíz de cebada Emir, perteneciendo todos ellos a la raza geográfica de Sevilla; asimismo se encontraron larvas de hembra en cuarta fase en raíz de trigo Castan y hembras y machos adultos en cebada Hatif de Grignon, pertenecientes a la raza geográfica de Toledo.

A los cincuenta días de la inoculación se encontraron larvas de hembra en cuarta fase de Teruel sobre cebada Hatif de Grignon y larvas de hembra en cuarta fase y hembras fecundadas de Toledo sobre trigo Anza, donde finalmente, a los sesenta días, se encontraron hembras blancas de la misma procedencia.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

De las diferentes variedades de cereal utilizadas, se han obtenido los mejores resultados con el trigo Anza y con la cebada Hatif de Grignon, ya que en ellos han tenido lugar no sólo la penetración de las larvas en fase infectiva, sino que además se han establecido y desarrollado hasta llegar a adultos, tanto hembras como machos.

Los individuos obtenidos en cada una de las variedades han sido los siguientes: *trigos* Anza: machos a partir de larvas procedentes

del foco de Sevilla y larvas de hembra en cuarta fase, hembras fecundadas y hembras blancas a partir de larvas procedentes del foco de Toledo; y Castan: larvas de hembra en cuarta fase a partir de larvas procedentes de los tres focos de infestación; y *cebada* Hatif de Grignon: larvas de hembra en cuarta fase de la raza geográfica de Teruel y hembras y machos adultos de la raza geográfica de Toledo.

Sin embargo, en la variedad de cebada Emir, sólo ha tenido lugar la penetración de larvas de segunda fase procedentes del foco de Sevilla, pero no han continuado su desarrollo.

Estos ensayos resultan de gran interés para el estudio de la biología y patogenicidad de *H. avenae*, ya que el desarrollar todo el ciclo biológico en condiciones controladas nos permite seguirlo paso a paso y observar las posibles diferencias que pueden existir entre las distintas razas biológicas o patotipos existentes en España. Además, el reproducir «in vitro» el ataque de estos parásitos a las plantas nos facilita el estudio de las modificaciones y alteraciones que tienen lugar en ellas como respuesta a dicho ataque.

Por último, la aplicación de esta técnica ofrece la posibilidad de ser utilizada para la caracterización de patotipos del nematodo de los cereales, así como para la determinación de la resistencia, tolerancia o susceptibilidad al mismo de las distintas variedades de cereal, con vistas a la implantación de variedades resistentes como mejor método de lucha contra este parásito.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a los Ayudantes de Investigación: María Paz GÁLVEZ, Florencio TORRES y María del Carmen ROBLES por la ayuda prestada en la elaboración de este trabajo.

ABSTRACT

ZANCADA, M.ª y SÁNCHEZ, A.: Penetración y desarrollo de *Heterodera avenae*, nematodo de los cereales, en raíces y trigo y cebada. *Bol. San. Veg. Plagas*, 12: 25-28.

Wheat cultivars Anza and Castan and barley cultivars Emir and Hatif de Grignon were grown in agar-agar in Petri dishes and infested with 2nd stage larvae of three distinct geographic races of *Heterodera avenae* from Alcalá de Guadaíra (Sevilla), Conclud (Teruel) and Santa Olalla (Toledo). This technique enables to follow the life-cycle of this species, from the time of penetration by the 2nd stage larvae to the formation of males, and fecundated and white females.

This technique under controlled conditions represents a valuable tool in studying alterations and modifications caused by this parasite in roots and can be used to determine the resistance, tolerance or susceptibility of different cereal cultivars to pathotypes of this nematode occurring in Spain.

REFERENCIAS

- DAVIES, K. A., 1974: A rapid method for assessing nematodes in roots. *Nematologica*, 4: 570-571.
- DAVIES, K. A. and FISHER, J. M., 1976: Duration of infectivity of second stage larvae of *Heterodera avenae*. *Nematologica*, 22: 163-168.
- MUGNIERY, D. et PERSON, F., 1976: Méthode d'élevage de quelques nématodes à kystes du genre *Heterodera*. *Sci. Agron.*, Rennes, 217-220.
- PERSON, F. et DOUSSINAULT, G., 1979: Influence de la température et des caractères des races d'*Heterodera avenae* Woll. sur la validité d'un test en conditions contrôlées, utilisable en sélection des céréales. *Ann. Amélior. Plantes*, 28: 513-527.
- PERSON-DEDRYVER, F. et PANNETIER, D., 1982: Les cultivars d'orge, facteurs de discrimination des pathotypes d'*Heterodera avenae*. *Bull. OEPP*, 12: 393-398.
- SÁNCHEZ, A.; SACRISTÁN, J. C. y BELLO, A., 1985: Estudio de variedades de cereales resistentes al nematodo *Heterodera avenae* Woll. *Anal. Edaf. Agrob.*, 44: 169-173.