

Efecto de la Micorrización en Kiwi infestado por los Nematodos *Meloidogyne Hapla* y *M. Javanica*

S. VERDEJO, C. CALVET y J. PINOCHET

Estacas enraizadas de *A. deliciosa* micorrizadas y no micorrizadas fueron inoculadas con 8.000 huevos de *M. hapla* o *M. javanica* antes de que las plantas iniciaran el período de inactividad invernal. *Glomus etunicatum* colonizó extensivamente el sistema radicular del kiwi. Las plantas micorrizadas rompieron la latencia antes que las no micorrizadas. Sólo *M. javanica* redujo el crecimiento aéreo y radicular del kiwi. La tasa de reproducción de ambas especies de *Meloidogyne* no fue afectada por la micorriza, aunque las poblaciones finales de *M. hapla* fueron superiores a las de *M. javanica*. La micorrización de las plantas de kiwi aumentó la tolerancia del kiwi a *M. javanica*.

S. VERDEJO, C. CALVET y J. PINOCHET. IRTA. Departamento de Patología Vegetal, Crta. de Cabrils s/n. 08348 Cabrils (Barcelona).

Palabras clave: *Actinidia deliciosa*, *Glomus etunicatum*, interacción, *Meloidogyne hapla*, *M. Javanica*, Kiwi, micorriza vesículo-arbuscular, nematodos.

INTRODUCCIÓN

El kiwi es un cultivo relativamente nuevo en España con unas 650 hectáreas dedicadas a la producción. La mayor parte de las plantaciones se encuentran establecidas en Galicia donde se concentra el 70% de la superficie cultivada (SALINERO, 1978). En los últimos años el cultivo del kiwi se ha extendido a otras regiones, y en la actualidad ocupa toda la zona norte del país, desde la costa atlántica hasta el Mediterráneo.

Actinidia deliciosa forma una asociación simbiótica con hongos micorrícicos vesículo-arbusculares (MVA). Esta asociación favorecía el crecimiento y desarrollo de las plantas de kiwi bajo condiciones de invernadero (POWELL y SANTHANAKRISHNAN, 1986). *Glomus mosseae* colonizaba extensivamente el sistema radicular de estacas y semillas de kiwi inoculadas experimental-

mente (CALVET *et al.*, 1989).

La simbiosis micorrícica en kiwi también tiene lugar de forma natural y se ha observado en plantaciones comerciales de Italia y España (CRAVERO *et al.*, 1989, CALVET *et al.*, 1989). El beneficio de la asociación micorriza-planta tendrá más impacto en plantas perennes ya que la simbiosis no se interrumpe anualmente al terminar el cultivo y puede establecerse en vivero con una cantidad mínima de inóculo, persistiendo después en la plantación.

El nematodo fitoparásito *Meloidogyne* spp., frecuentemente asociado a las raíces del kiwi en otras áreas productoras del mundo (SCOTTO LA MASSESE 1973, LORDELO 1974, VOVLAS y ROCA 1976, LAMBERTI y LANDRISCINA 1978, GRANDISON 1983, GONZALEZ 1987), también se halla ampliamente distribuido en España. El nematodo estaba presente en el 98% de las muestras

en un muestreo realizado en Galicia (MANSILLA *et al.*, 1987). Un estudio realizado en Cataluña sobre la dinámica de población de *M. hapla* en kiwi indicó que el nematodo se mantenía activo durante todo el año y los niveles de población fluctuaron entre 700 y 8.640 nematodos por 250 cm³ de suelo (PINOCHET *et al.*, 1990).

El kiwi es una planta muy sensible a fitotoxicidad (GRANDISON 1983, MANSILLA *et al.*, 1987), por lo que el uso de prácticas de manejo que favorecen el crecimiento y desarrollo del kiwi, (condiciones óptimas de humedad y nutrición, protección contra el viento, presencia de micorrizas, buen drenaje, etc.) podrían contrarrestar el daño que causa el nematodo y limitar el uso de nematocidas.

El objetivo de este trabajo fué determinar el efecto de la colonización de las raíces por el hongo VA, *Glomus etunicatum*, sobre el crecimiento de *Actinidia deliciosa* infestada con *Meloidogyne hapla* y *M. javanica*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estacas de plantas hembra de *A. deliciosa* variedad Hayward fueron tomadas de una plantación de 4 años, cuando las plantas estaban en período de latencia. La formación de raíces se indujo mediante tratamiento hormonal sumergiendo las estacas en una solución hidroalcohólica de Acido-naftaleno-1-acético a una concentración de 2.000 ppm. Las estacas se colocaron en un sustrato esterilizado compuesto por una mezcla de turba y perlita (2:1 v/v) en banquetas elevadas y con "mist" intermitente. La temperatura del sustrato se ajustó a 27°C y el sustrato se suplementó con riego cuando fué necesario. A las 10 semanas, cuando las raíces comenzaban a desarrollarse, las estacas se transplantaron a macetas de 1 litro de capacidad que contenían un sustrato mezcla de turba y perlita (1:1 v/v). El pH del sustrato se ajustó a 7,8 con carbonato cálcico. Al mismo tiempo de ser transplantadas, la mitad de las estacas se inocularon con el hongo VA, *G. etunicatum*, hongo nativo y

aislado de flora natural en Cabrils (Barcelona) de efectividad comprobada en hortícolas (CAMPRUBI *et al.*, 1987). El inóculo de MVA consistió en 12 g de suelo procedente de la rizosfera de plantas "stock" los cuales fueron colocados formando una capa debajo de la mitad de las estacas trasplantadas y en contacto con las raíces. Este suelo contenía fragmentos de raíces micorrizadas, hifas y 87 esporas/g de suelo. Las estacas no inoculadas se utilizaron como control. Las plantas se mantuvieron en un umbráculo y se abonaron semanalmente con 20 ml de solución nutritiva de Hoagland pero carente de fósforo para impedir la inhibición de la formación de micorrizas (HAYMAN y MOSSE, 1971). El abonado se inició 2 semanas después del trasplante e inoculación de las estacas con *G. etunicatum*. Después de 10 meses se tomaron muestras de raíces de cada una de las macetas para determinar si estaban micorrizadas o no. Las raíces se transparentaron y tñieron con KOH al 10% y azul Tripán al 0,05% en ácido láctico (PHILLIPS y HAYMAN, 1970) para resaltar las estructuras de las MVA dentro de las raíces. El porcentaje de colonización interna de las raíces se determinó de acuerdo con el método de GIOVANETTI y MOSSE (1980) con la ayuda de una lupa de disección.

Dos semanas antes de la inoculación con *Meloidogyne* spp., las plantas micorrizadas y no micorrizadas se transplantaron a macetas de 2 litros de capacidad conteniendo arena esterilizada al vapor (pH=7). La población inicial utilizada en este estudio fué similar a los niveles del nematodo que suelen encontrarse en plantaciones de kiwi en Cataluña (VERDEJO, no publicado). Todas las plantas se inocularon con 8.000 huevos por maceta de *M. hapla* o *M. javanica*. La población de *M. hapla* utilizada en este estudio originariamente procedía de una plantación de kiwi localizada en Cabrils donde éste era el único nematodo fitoparásito presente (PINOCHET *et al.*, 1990). Mientras que la de *Meloidogyne javanica* procedía de cultivos monoxénicos del nematodo en raíces transformadas de tomate (VERDEJO *et al.*, 1988). Para la obtención del inóculo

de *Meloidogyne* spp., ambas especies se multiplicaron en *Lycopersicon esculentum* Mill. variedad Roma en invernadero. Los huevos fueron extraídos de las raíces de tomate mediante maceración del sistema radicular (previamente troceado) en una solución al 2% de lejía comercial (50 g/litro de cloro activo) en una batidora durante dos periodos de 15 segundos separados por un intervalo de 10 segundos. Después de 3 minutos se diluyó la suspensión de huevos en un mayor volumen de agua, la cual se pasó por un tamiz de 0,075 mm para eliminar fragmentos de raíces y luego por otro de 0,025 mm donde se recogieron los huevos. La inoculación se realizó pipeteando la suspensión de huevos en tres agujeros hechos en la arena a unos 3 cm de la base de la planta al principio del otoño y antes de que las plantas iniciaran el periodo de inactividad invernal. Cada tratamiento, *M. hapla* con y sin MVA, y *M. javanica* con y sin MVA constaba de 5 repeticiones. Una vez inoculadas con nematodos, las plantas se abonaron periódicamente con un preparado comercial de liberación lenta conteniendo NPK y microelementos y se regaron cuando fué necesario. Las plantas se sometieron a poda durante la parada invernal.

Dos meses después de que las plantas rompieran la latencia (25 semanas después de la inoculación con los nematodos) se determinaron los pesos fresco y seco de la parte aérea, pero solamente el peso del crecimiento vegetativo del año, superficie foliar, peso y volumen radicular, número de nematodos en el suelo, nemátodos por g. de raíz y tasa de reproducción del nematodo o TRN (Población final/población inicial). La superficie foliar se determinó con un planímetro. El suelo de cada maceta fue separado de las raíces y se determinaron los nematodos presentes en 250 cm³ de suelo. La extracción de los nemátodos se realizó mediante tamizado diferencial (tamices de 0,150, 0,075, 0,038 y 0,025 mm) y flotación con sacarosa (Jenkins, 1964). Los nematodos en las raíces fueron extraídos en una solución al 10% de lejía comercial siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

Los datos fueron transformados a logaritmos y analizados estadísticamente mediante el análisis de la varianza. Las medias se compararon mediante la Prueba del Rango Múltiple de Duncan.

RESULTADOS

Glomus etunicatum colonizó extensivamente las raíces de kiwi. El porcentaje de raíz micorrizada varió entre 21 y 89% en los distintos sistemas radiculares siendo la infección interna predominantemente de tipo arbuscular. Las plantas micorrizadas rompieron la latencia antes que las no micorrizadas. Las plantas inoculadas con *M. hapla*, pero sin micorrizas demoraron 25 días en comenzar la actividad vegetativa mientras que las inoculadas con *M. javanica* demoraron 45 días. Las plantas micorrizadas también alcanzaron mayor desarrollo que las no micorrizadas aunque este efecto fue transitorio en las inoculadas con *M. hapla*.

La micorrización aparentemente no tuvo ningún efecto sobre la reproducción de ambas especies de *Meloidogyne* (Cuadro 1). Las poblaciones de las dos especies de nematodos fueron numéricamente superiores en las plantas micorrizadas, aunque los niveles alcanzados no diferían estadísticamente de aquellos obtenidos en plantas sin micorrizas. La densidad de población de *M. hapla* fue superior a la densidad de *M. javanica* independientemente de la presencia o ausencia de *G. etunicatum* (Cuadro 1). Sólo *M. javanica* afectó al crecimiento del kiwi dando lugar a una reducción del peso de la parte aérea y de la superficie foliar de las plantas no micorrizadas (Cuadro 2). El peso y volumen radicular de estas plantas también fue reducido por *M. javanica*. *Meloidogyne hapla*, sin embargo, no afectó al crecimiento aéreo ni radicular del kiwi (Cuadro 2).

DISCUSIÓN

Las plantas micorrizadas tenían aproxi-

Cuadro 1.—Reproducción de *Meloidogyne hapla* y *M. javanica* en *Actinidia deliciosa* en presencia y ausencia de *Glomus etunicatum* 6 meses después de la inoculación de 8.000 huevos.

Tratamiento	Población final	Población suelo	Población raíz	Nem/g.raiz	TRN ¹
<i>M. hapla</i> + <i>G. etunicatum</i>	28.484 a ²	7.711 a	20.783 a	1.562 a	3,56 a
<i>M. hapla</i>	13.196 a	3.829 a	9.367 a	1.049 a	1,65 a
<i>M. javanica</i> + <i>G. etunicatum</i>	1.373 b	32 b	1.341 bc	123 b	0,17 b
<i>M. javanica</i>	774 b	32 b	742 c	97 b	0,10 b

1: Tasa de reproducción del nematodo (P_F/P_I).

2. Valores en una misma columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente según la Prueba de Rango Múltiple de Duncan ($P = 0,05$).

Cuadro 2.—Desarrollo de *Actinidia deliciosa* en presencia y ausencia de *Glomus etunicatum* 6 meses después de la inoculación con *Meloidogyne hapla* y *M. Javanica*.

Tratamiento	Superficie foliar (cm ²)	Peso fresco aéreo (g)	Peso seco aéreo (g)	Peso radicular (g)	Volumen radicular (cm ³)
<i>M. hapla</i> + <i>G. etunicatum</i>	586,7 a ¹	17,2 a	4,2 a	12,0 a	21,8 a
<i>M. hapla</i>	417,4 a	13,3 a	4,0 a	8,9 a	23,3 a
<i>M. javanica</i> + <i>G. etunicatum</i>	508,4 a	17,7 a	5,0 a	8,9 a	21,2 a
<i>M. javanica</i>	55,3 b	4,0 b	0,9 b	4,9 b	12,0 b

1. Valores en una misma columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente según la Prueba de Rango Múltiple de Duncan ($P = 0,05$).

madamente 2 veces más nematodos que las no micorrizadas 6 meses después de la inoculación. La asociación de los hongos MVA con las raíces aumenta la capacidad de la planta para absorber fósforo, agua y otros elementos lo cual se manifiesta en un mayor desarrollo de la planta tanto de la parte aérea como del sistema radicular (GERDEMANN, 1968, HARLEY y SMITH, 1983; HAYMAN, 1982). A su vez, un mayor sistema radicular es capaz de sustentar una mayor población de nematodos lo que explica una población final más alta de *M. hapla* y *M. javanica* en presencia de *G. etunicatum* en contraste con las poblaciones alcanzadas en plantas sin micorrizas.

La baja población final de *M. javanica* en plantas con y sin *G. etunicatum* sugiere que el kiwi no es tan buen hospedador de esta especie de nematodo como lo es de *M. hapla*. Por otra parte, el descenso de la temperatura durante el otoño e invierno, período de tiempo en que se llevó a cabo este es-

tudio, pudo haber limitado la reproducción de *M. javanica* (LAMBERTI *et al.*, 1981). Sin embargo, la capacidad de *M. hapla* para resistir el frío no impidió su reproducción (ORTON WILLIAMS, 1974).

En ausencia de micorrizas las plantas de kiwi inoculadas con *M. javanica* tuvieron un desarrollo significativamente inferior al de las inoculadas con *M. hapla* lo que indica una mayor susceptibilidad del kiwi a *M. javanica*. Los resultados sobre el desarrollo de la planta muestran que las plantas con *M. javanica* en presencia de *G. etunicatum* tenían un crecimiento significativamente superior al de las plantas sin micorrizas, indicando que la micorrización aumentaba la tolerancia del kiwi a *M. javanica*. La mayor tolerancia de la planta al nematodo en presencia de micorrizas también ha sido demostrada en otras combinaciones nematodo-hongo-planta hospedadora (COOPER y GRANDISON, 1986; SMITH, 1987).

Un aspecto interesante de este estudio fue

el retraso experimentado por las plantas no micorrizadas en romper la latencia. Este retraso podría dar lugar a un desarrollo anual menor, lo cual podría incidir en la

producción. Sin embargo, se desconoce si la planta sería capaz de compensar el retraso inicial observado en la primavera durante el resto del año.

ABSTRACT

VERDEJO, S.; CALVET, C. y PINOCHET, J., 1990: Efecto de la micorrización en kiwi infectado por los nematodos *Meloidogyne hapla* y *M. Javanica*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **16** (3): 617-622

Rooted hardwood cuttings of *A. deliciosa* with or without VA mycorrhiza were inoculated with 8.000 eggs of *M. hapla* or *M. javanica* before overwintering dormancy was initiated. Kiwi roots were extensively colonized by *G. etunicatum*. Mycorrhizal plants broke dormancy earlier than non-mycorrhizal plants. Only *M. javanica* reduced vegetative and root growth. Reproduction rate of both *Meloidogyne* species was not affected by the VA fungus although final population of *M. hapla* was higher than of *M. javanica*. The tolerance of kiwi plants to *M. javanica* was increased in the presence of *G. etunicatum*.

Key words: *Glomus etunicatum*, *Meloidogyne hapla*, *Actinidia deliciosa*, interaction, *M. Javanica*, root nematodes, vesicular-arbuscular mycorrhiza kiwi.

REFERENCIAS

- CALVET, C., PERA, J., ESTAUN, V. y CAMPRUBI, A., 1989: Vesicular-arbuscular mycorrhizae of kiwifruit in an agricultural soil: Inoculation of seedlings and hardwood cuttings with *Glomus mosseae*. *Agronomie*, **9**: 181-185.
- CAMPRUBI, A., CALVET, C., ESTAUN, V. y PERA, J., 1987: Aislamiento de un hongo formador de micorrizas vesículo-arbusculares y ensayo de su efectividad en crisantemo y fresa. *Investigación Agraria*, **2**: 281-294.
- CRAVERO, M.C., SCHUBERT, A. y MAZZITELLI, M., 1987: Vesicular-arbuscular mycorrhizae in field and pot grown kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Adv. Hort. Sci.* **1**: 80-82.
- COOPER, K.M. y GRANDISON, G.S., 1986: Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and root-knot nematode on cultivars of tomato and white clover susceptible to *Meloidogyne hapla*. *Ann. App. Biol.*, **108**: 555-565.
- GERDEMANN, J.W., 1968: Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopath.*, **6**: 397-418.
- GIOVANNETTI, M. y MOSSE, B., 1980: An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots. *New. Phytol.*, **84**: 489-500.
- GONZALEZ, H., 1987: Situación nematológica del kiwi en Chile. *Rev. Frutícola*, **8**: 33-36.
- GRANDISON, G.S., 1983: Root-knot nematode control on kiwifruit (*Actinidia chinensis*) by chemical bare-root dip. *Plant Dis.*, **76**: 899-900
- HARLEY, J.L. y SMITH, S.E., 1983: *Mycorrhizal Symbiosis*. London: Academic Press.
- HAYMAN, D.S., 1982: The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Can. J. Bot.*, **61**: 944-963.
- HAYMAN, D.S. y MOSSE, B., 1971: Plant growth responses to VA-mycorrhiza. Increased uptake of labile P from soil. *New Phytol.*, **71**: 41-47.
- JENKINS, W.R., 1964: A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis. Rep.*, **48**: 692.
- LAMBERTI, F. y LANDRISCINA, S., 1978: Problemi nematologici della coltura dell'actinidia. *En: Incontro fruticolo*, SOI, 27-10-1978. Torino, Italia pp. 193-195.
- LAMBERTI, F., VINDIMIAN, M.E., LANDRISCINA, S. y RONCADOR, I., 1981: Effetto di tre specie di *Meloidogyne* sulla crescita di semenzali di *Actinidia*: *Inf. fitopatol.*, **5**: 19-20.
- LORDELLO, L.G.E., 1974: Observações sobre un nematode nocivo á *Actinidia*. *Rev. Brasil Biol.*, **34**: 99-100.

- MANSILLA, J.P., ABELLEIRA, A., SALINERO, M.C. y VAZQUEZ, R., 1987: Muestras y ensayos de *Meloidogyne hapla* Chitwood en plantaciones de *Actinidia chinensis* en la provincia de Pontevedra. **En: La Actinidia**. Jornadas Nacionales sobre Actinidia y pequeños frutos. Principado de Asturias. Consejería de Agricultura y Pesca pp. 62-69.
- ORTON WILLIAMS, K.J., 1974: *Meloidogyne hapla*. C.I.H. Descriptions of plant-parasitic nematodes. Set 3, N° 31. *Commonwealth Inst. Helminth.*, St. Albans, Herts., England.
- PHILLIPS, J.M. y HAYMAN, D.S., 1970: Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **55**: 158-161.
- PINOCHET, J., VERDEJO, S. y SOLER, A., 1990: Observations on the seasonal fluctuation of *Meloidogyne hapla* in kiwifruit *Actinidia deliciosa* in Spain. *Nematopica*, **20**: 31-37
- POWELL, C.L.P. y SANTHANAKRISHNAN, P., 1986: Effect of mycorrhizal inoculation and phosphorus fertiliser on the growth of hardwood cuttings of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv Hayward) in containers. *N. Z. J. Agric. Res.*, **29**: 263-268.
- SALINERO, M.C., 1987: Situación y perspectivas de la kiwicultura en Galicia. **En: La Actinidia**. Jornadas Nacionales sobre Actinidia y pequeños frutos. Principado de Asturias. Consejería de Agricultura y Pesca. pp 2-11.
- SCOTTO LA MASSESE, C., 1973: Nouvel hôte Européen de *Meloidogyne hapla* et *Rotylenchus robustus*: *Actinidia chinensis*. *Nematol. medit.*, **1**: 55-59.
- SMITH, G.S. 1987: Interactions of nematodes with mycorrhiza fungi. **En: Vistas in Nematology**. Ed. J.A. Veech; D.W. Dickson. Society of Nematologists, Inc. Hyattsville, Maryland, USA, pp. 292-300.
- VERDEJO, S., JAFFEE, B.A. y MANKAU, R., 1988: Reproduction of *Meloidogyne javanica* in plant roots genetically transformed by *Agrobacterium rhizogenes*. *J. Nematol.*, **20**: 599-604.
- VOVLAS, N. y ROCA, F., 1976: *Meloidogyne hapla* su *Actinidia chinensis* in Italia. *Nematol. medit.*, **4**: 115-116.

(Aceptado para su publicación: 30 de Enero de 1990)