

Nematofauna fitoparásita asociada a cultivos hortícolas y tabaco en regadíos de Extremadura

G. ESPÁRRAGO y A. NAVAS

Se realiza la identificación de la nematofauna fitoparásita más importante del orden Tylenchida susceptible de causar daños económicos de importancia en cultivos hortícolas y tabaco. El estudio se centra en las áreas principales de regadío de la región extremeña situadas en las cuencas del Tajo y Guadiana. Se plantea un muestreo estratificado con lo cual las zonas son divididas en unidades ambientales según bases cartográficas de suelo y clima. En cada unidad ambiental se procede a la toma de muestras, siguiendo un criterio aleatorio o dirigido que depende de la extensión y tipo de cultivo.

Hemos detectado en los regadíos Extremeños las siguientes especies de nematodos fitoparásitos correspondientes a los géneros *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* y *Pratylenchus*: *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *H. dihystra*, *H. pseudorobustus*, *H. vulgaris*, *P. crenatus*, *P. neglectus*, *P. penetrans*, *P. thornei* y *P. vulnus*. Para la identificación se han utilizado métodos morfométricos, bioquímicos (electroforesis en geles de poliacrilamida) y el apoyo de programas informáticos de identificación automática (NEMAID). Se ofrecen las coordenadas de localización de las diferentes poblaciones así como la asociación de las especies con las áreas muestreadas y los cultivos potenciales.

G. ESPÁRRAGO. Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico (SIA). Junta de Extremadura. Apartado 22. 06080 Badajoz.

A. NAVAS. Centro de Ciencias Medioambientales. CSIC. Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid.

Palabras clave: *H. dihystra*, *H. pseudorobustus*, *H. vulgaris*, *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *P. crenatus*, *P. neglectus*, *P. penetrans*, *P. thornei*, *P. vulnus*, distribución, electroforesis, hortalizas, identificación, regadíos, tabaco, Extremadura.

INTRODUCCION

Uno de los principales problemas fitopatológicos en la agricultura extremeña es ocasionado por la acción de nematodos fitoparásitos. A pesar de que los daños producidos por nematodos parásitos de plantas son poco conocidos, las pérdidas de producción en la cosecha pueden ser iguales a las asociadas a plagas y enfermedades más graves y fácilmente identificables como lo demuestra el hecho de que en 1992 el valor de los nematocidas consumidos en la región (AEPLA, comunicación personal) fue igual

al valor de insecticidas y superó al de fungicidas (El mercado español de fitosanitarios en 1992, 1993). Se podría estimar que sólo en tabaco y cultivos hortícolas, principalmente tomate para industria, las pérdidas originadas por nematodos fitoparásitos del orden Tylenchida son como mínimo del 5% del valor final de la producción agrícola de estos cultivos, lo que supone en la región, 1500 millones de pesetas durante 1992 (*La Agricultura y la Ganadería Extremeñas en 1992, 1993*).

Exceptuando tal vez los ensayos de control mediante la aplicación de nematocidas,

la identificación de especies resulta indispensable en cualquier trabajo que pretenda abordar otro aspecto de estos nematodos (MAY, 1983). Así, por ejemplo, la utilización de cultivares resistentes (control genético) o la rotación de cultivos (control cultural) requieren de una identificación precisa de la especie que causa el problema. En este contexto el objetivo de nuestro trabajo es identificar nematodos fitoparásitos del orden Tylenchida que son o pueden ser considerados potencialmente perjudiciales (SASSER y FRECKMAN, 1987) para la agricultura de regadío de la zona y principalmente para tabaco y hortícolas. En concreto nos centramos en el género *Meloidogyne*

que se sabe que sistemáticamente produce pérdidas económicas importantes todos los años y los géneros *Pratylenchus* y *Helicotylenchus* que a escala mundial son considerados de gran importancia económica.

MATERIAL Y METODOS

Planificación del muestreo: Se realiza un muestreo estratificado en el que las unidades a muestrear se obtienen a partir de la superposición de las principales áreas de regadío (Mapa del Agua en Extremadura, 1987, Figura 1), de los tipos de suelo (GUERRA *et al.*, 1968, Figura 2) y clasificación climáti-

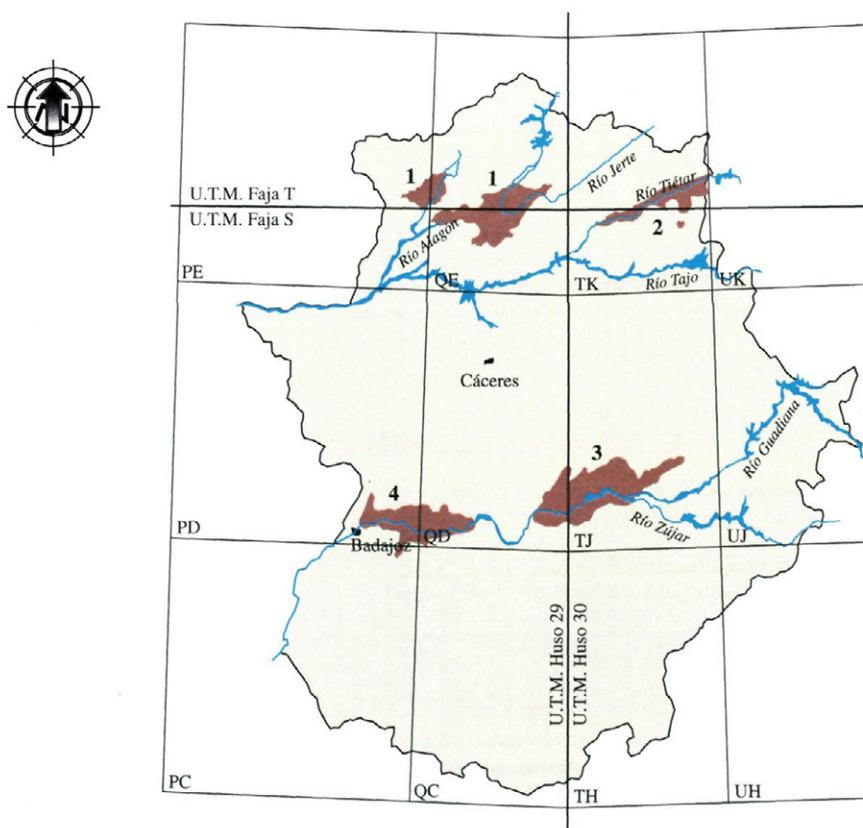


Fig. 1.—Plano de situación de las principales áreas de regadío de la región extremeña.
1: Alagón-Arrago; 2: Tietar; 3: Vegas Altas; 4: Vegas Bajas.

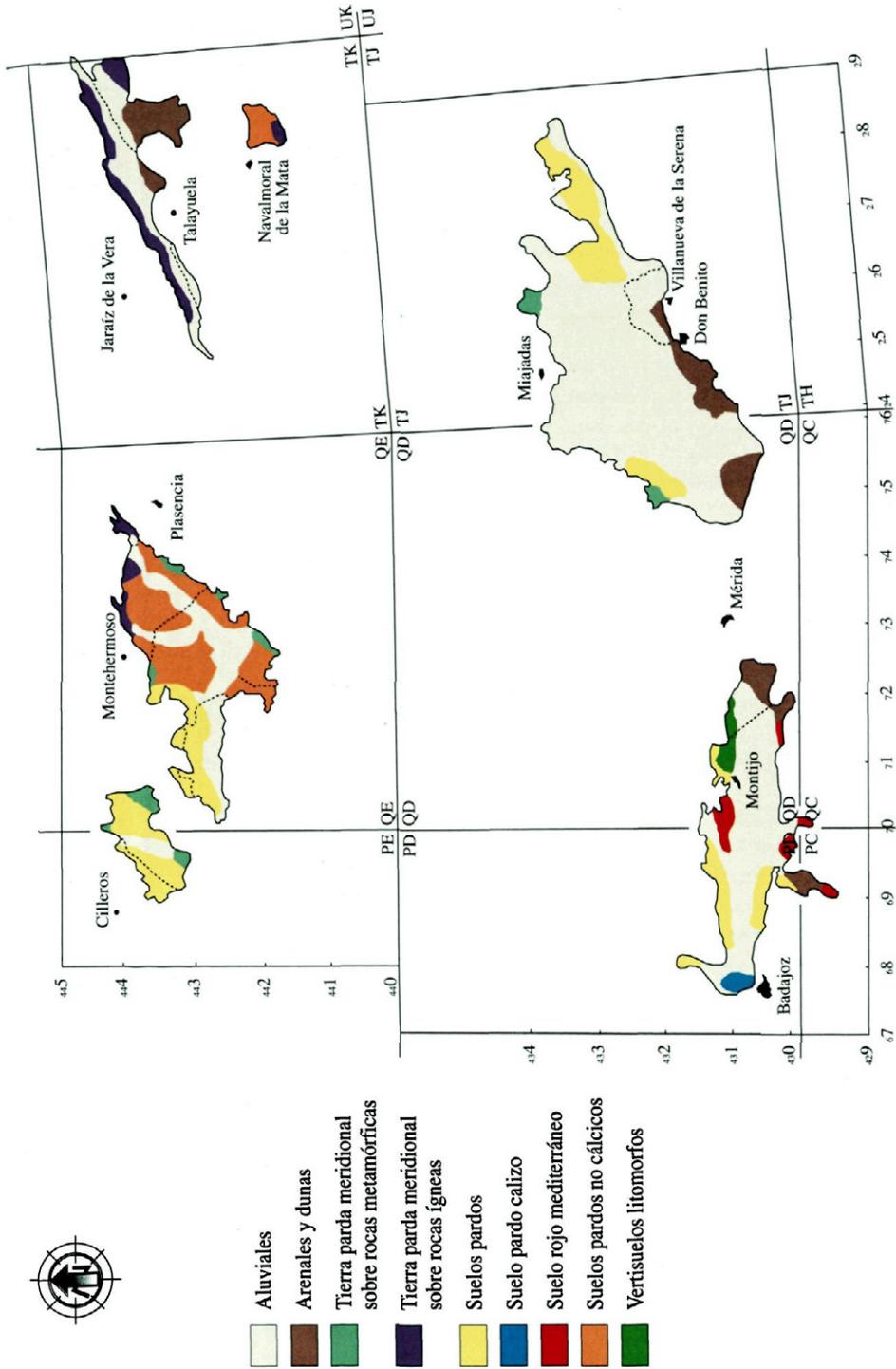


Fig. 2.—Mapa de los principales suelos de los regadíos extremos.

ca de THORNTHWAITE (1948) elaborada por nosotros para Extremadura (Figura 3). De esta forma obtuvimos unos estratos de muestreo fácilmente identificables con características ecológicas propias independientes de sectorizaciones subjetivas. En estos estratos se definieron los puntos concretos de muestreo que se llevaron a mapas 1:50.000 asignándose a cada punto una cuadrícula correspondiente a 1 km² de superficie caracterizada por sus coordenadas UTM (proyección Universal Transversa Mercator). En total se recogieron 110 muestras (Figura 4).

La toma de muestras se realizó en el mes de julio (con el fin de evitar los tratamientos nematocidas) de 1988 en dos fases: en la primera se muestreó intensivamente las dos mayores superficies de regadío de la región (riegos del Alagón y Vegas Altas) para posteriormente, con el fin de que todos los estratos estuvieran bien representados y obtener poblaciones de nematodos de otras áreas geográficamente alejadas, tomar muestras en los riegos del Tietar y Vegas Bajas. Por último, en mayo de 1991, se volvió a los puntos de muestreo con el fin de confirmar la aparición de las especies identificadas.

Toma y preparación de muestras: Una vez localizada en campo la cuadrícula UTM, se toma la muestra con la ayuda de una azada. Cada una de éstas es la unión de diez submuestras (BARKER, 1985) recogidas al azar en diferentes puntos de la parcela y a una profundidad de 15-20 cm.

La muestra en el laboratorio se separa en dos fracciones, una de ellas de 1 kg de suelo se coloca en una maceta con una planta de tomate de la variedad «Rutgers» para multiplicar las posibles poblaciones de *Meloidogyne* acompañantes. El resto de la tierra se homogeniza y tamiza por una malla de 2 mm para con 100 g de este tamizado, proceder a la extracción de nematodos.

Los nematodos fueron extraídos del suelo mediante el método de centrifugación de De GRISSE (1969), los ejemplares se fijaron en caliente con TAF (7 cm³ formalín (40% for-

maldehído) + 2 cm³ trietanolamina + 91 cm³ agua destilada), (COURTNEY *et al.*, 1955) para montarlos a continuación en un porta con una gota de TAF frío.

Hemos utilizado un microscopio Carl-Zeiss realizando las observaciones de 400 a 1.000 aumentos, se trazaron dibujos mediante cámara clara para medir los caracteres morfométricos.

Para la identificación de nematodos del género *Helicotylenchus* se han utilizado caracteres morfométricos y la ayuda del programa taxonómico NEMAID (FORTUNER, 1984a, 1984b).

Para la identificación de nematodos del género *Pratylenchus* se han utilizado caracteres morfológicos (LOOF, 1978).

Para la identificación de nematodos del género *Meloidogyne* se han utilizado caracteres morfométricos de larvas, estudio de patrones perineales (JEPSON, 1987) y el análisis de las isoenzimas esterasas y malato dehidrogenasas a través de la electroforesis en geles de poliacrilamida no desnaturalizantes.

La electroforesis se realizó en geles de poliacrilamida no desnaturalizantes con una minicubeta doble vertical, siguiendo la metodología descrita por ESBENSHADE y TRIANTAPHYLLOU (1985c) y por PAÍS *et al.* (1986) con ligeras modificaciones. Los geles, de dimensiones 8 × 10 cm, se formaron con 1 cm de gel concentrador (T = 4%, C = 2,5%) y 7 cm de gel separador (T = 7%, C = 2,5%) de un grosor de 0,75 mm. Se empleó tampón de electroforesis Tris-Glicina pH 8,3. La electroforesis se desarrolló a 5 °C manteniendo 60 V mientras que la banda de azul de bromofenol recorría el gel concentrador (aproximadamente media hora), para continuar a 200 V hasta el final del proceso de migración (aproximadamente una hora). A continuación, los geles fueron revelados para esterasas o malato dehidrogenasa (HARRIS y HOPKINSON, 1976).

Para analizar la asociación entre presencias-ausencias de caracteres cualitativos (LITTLE y HILLS, 1976), se ha utilizado el test χ^2 .

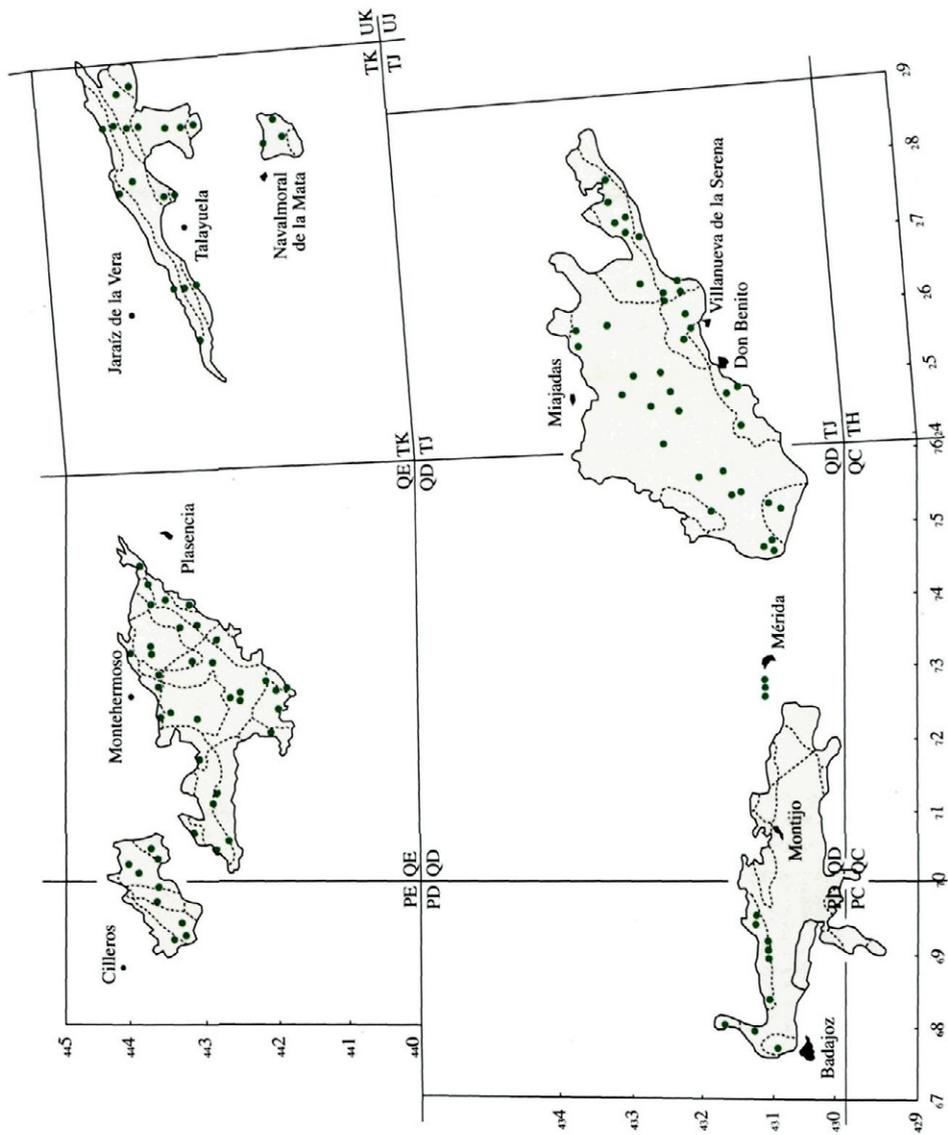


Fig. 4.-Distribución de los puntos de muestreo en los riegos de Alagón-Arrago, Tietar y Vegas del Guadiana según las unidades ambientales (suelo y clima).

RESULTADOS

Las especies del género *Meloidogyne* identificadas en los regadíos de la región fueron: *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne arenaria* y *Meloidogyne javanica*. Las especies de nematodos fitoparásitos de los géneros *Helicotylenchus* y *Pratylenchus* encontradas son las siguientes: *Helicotylenchus dihystra*, *Helicotylenchus pseudobustus*, *Helicotylenchus vulgaris*, *Pratylenchus crenatus*, *Pratylenchus neglectus*, *Pratylenchus penetrans*, *Pratylenchus thornei* y *Pratylenchus vulnus*.

En el Cuadro 1 se ofrece la relación de las coordenadas UTM donde han aparecido estas especies así como el cultivo (posible

huésped) sobre el que se tomó la muestra, mientras que en el Cuadro 2 aparece reflejado el número total de muestras donde están presentes las especies identificadas y la frecuencia referida al total de muestras de cada cuenca de muestreo.

En la nematofauna identificada sobresale la alta frecuencia de aparición del género *Helicotylenchus* (41,8% de las muestras) y en concreto de la especie *H. dihystra*. También y con la misma frecuencia del 41,8% las muestras analizadas fueron positivas para la presencia del género *Meloidogyne*. Si sólo se considera este género la especie más frecuente es *M. incognita* (63% de las poblaciones) aunque la presencia de *M. arenaria* es semejante (56% de las poblacio-

Cuadro 1.—Especies de nematodos fitoparásitos identificados, localización y huésped potencial

<i>Meloidogyne arenaria</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
PE 95 32	Moraleja (Cc)	<i>Cucumis melo</i>
QE 06 31	Casas de Don Gómez (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 13 28	Coria (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 23 35	Guijo de Galisteo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 24 19	Holguera (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 28 36	Montehermoso (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 29 36	Montehermoso (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 30 29	Galisteo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 31 40	Valdeobispo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 33 38	Valdeobispo (Cc)	<i>Cucumis melo</i>
QE 35 33	Aldehuela del Jerte (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 38 37	Carcaboso (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 60 29	Jaraíz de la Vera (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 68 30	Jaraíz de la Vera (Cc)	<i>Capsicum annum</i>
TK 68 31	Jaraíz de la Vera (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 69 29	Casatejada (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 80 30	Talayuela (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 95 37	Talayuela (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 79 16	Badajoz (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 89 10	Badajoz (Ba)	<i>Ficus carica</i>
PD 93 12	Badajoz (Ba)	<i>Zea mays</i>
QD 46 09	Guareña (Ba)	<i>Gossypium hirsutum</i>
QD 46 09	Guareña (Ba)	<i>Capsicum annum</i>
QD 51 08	Guareña (Ba)	<i>Vitis vinifera</i>
QD 54 14	Guareña (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
TJ 44 13	Mengabril (Ba)	<i>Cucumis sativus</i>

(Continúa)

Cuadro 1.-Especies de nematodos fitoparásitos identificados, localización y huésped potencial

<i>Meloidogyne incognita</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
PE 95 32	Moraleja (Cc)	<i>Citrullus vulgaris</i>
QE 11 28	Coria (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 13 28	Coria (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 25 25	Montehermoso (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 25 25	Montehermoso (Cc)	<i>Capsicum annuum</i>
QE 29 36	Montehermoso (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 30 29	Galisteo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 31 40	Valdeobispo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 31 38	Valdeobispo (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 35 33	Aldehuela del Jerte (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 41 38	Plasencia (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 68 30	Jaraíz de la Vera (Cc)	<i>Capsicum annuum</i>
TK 83 36	Jarandilla (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 90 40	Villanueva de la Vera (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 95 37	Talayuela (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 79 16	Badajoz (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 89 10	Badajoz (Ba)	<i>Ficus carica</i>
PD 93 12	Badajoz (Ba)	<i>Ficus carica</i>
QD 46 09	Guareña (Ba)	<i>Capsicum annuum</i>
QD 46 09	Guareña (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
QD 52 10	Valdetorres (Ba)	<i>Vitis vinifera</i>
QD 55 21	Santa Amalia (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
TJ 46 27	Santa Amalia (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
TJ 55 21	Don Benito (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
TJ 58 20	Villanueva de la Serena (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
TJ 63 23	Villanueva de la Serena (Ba)	<i>Prunus persica</i>
TJ 71 27	Acedera (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
TJ 71 27	Acedera (Ba)	<i>Capsicum annuum</i>
TJ 78 30	Navalvillar de Pela (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
<i>Meloidogyne javanica</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
TJ 48 15	Don Benito (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
<i>Helicotylenchus dihystrera</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
PE 95 32	Moraleja (Cc)	<i>Cucumis melo</i>
PE 95 32	Moraleja (Cc)	<i>Citrullus vulgaris</i>
PE 97 36	Moraleja (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 01 39	La Moheda (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 03 40	Calzadilla (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 04 29	Casas de Don Gómez (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 05 26	Coria (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 11 28	Coria (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 13 28	Coria (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 17 30	Coria (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 22 31	Guijo de Galisteo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>

(Continúa)

Cuadro 1.-Especies de nematodos fitoparásitos identificados, localización y huésped potencial

<i>Helicotylenchus dihystrera</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
QE 22 36	Guijo de Galisteo (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 23 35	Guijo de Galisteo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 25 27	Montehermoso (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 28 31	Montehermoso (Cc)	<i>Capsicum annuum</i>
QE 30 29	Galisteo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 30 32	Galisteo (Cc)	<i>Capsicum annuum</i>
QE 31 38	Valdeobispo (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 31 40	Valdeobispo (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 33 38	Valdeobispo (Cc)	<i>Cucumis melo</i>
QE 35 33	Aldehuela del Jerte (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 60 29	Jaraíz de la Vera (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 68 31	Jaraíz de la Vera (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 69 29	Casatejada (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 95 37	Talayuela (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 76 09	Badajoz (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 78 12	Badajoz (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 79 16	Badajoz (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 89 10	Badajoz (Ba)	<i>Zea mays</i>
PD 89 10	Badajoz (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 93 12	Badajoz (Ba)	<i>Ficus carica</i>
PD 93 12	Badajoz (Ba)	<i>Zea mays</i>
QD 50 19	Guareña (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
TJ 45 23	Don Benito (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QD 57 17	Medellín (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
TJ 51 25	Don Benito (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
TJ 55 36	Miajadas (Cc)	<i>Capsicum annuum</i>
TJ 58 33	Villar de Rena (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
TJ 60 23	Villanueva de la Serena (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
TJ 64 27	Villanueva de la Serena (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
TJ 71 27	Acedera (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
TJ 71 27	Acedera (Ba)	<i>Zea mays</i>
TJ 78 30	Navalvillar de Pela (Ba)	<i>Cucumis melo</i>
<i>Helicotylenchus pseudorobustus</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
PD 78 12	Badajoz (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 93 12	Badajoz (Ba)	<i>Ficus Carica</i>
PD 93 12	Badajoz (Ba)	<i>Zea mays</i>
QD 54 14	Guareña (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
TJ 71 27	Acedera (Ba)	<i>Zea mays</i>
<i>Helicotylenchus vulgaris</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
TK 88 15	Peraleda de la Mata (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TJ 44 13	Mengabril (Ba)	<i>Cucumis sativus</i>

(Continúa)

Cuadro 1.—Especies de nematodos fitoparásitos identificados, localización y huésped potencial

<i>Pratylenchus crenatus</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
PE 95 32	Moraleja (Cc)	<i>Cucumis melo</i>
QE 41 38	Plasencia (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QE 44 39	Plasencia (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 83 36	Jarandilla (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 90 40	Villanueva de la Vera (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 91 37	Talayuela (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
<i>Pratylenchus neglectus</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
PD 89 10	Badajoz (Ba)	<i>Ficus carica</i>
QD 54 14	Guareña (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
<i>Pratylenchus penetrans</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
PE 95 33	Moraleja (Cc)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QE 30 32	Galisteo (Cc)	<i>Capsicum annum</i>
TK 68 30	Jaraíz de la Vera (Cc)	<i>Capsicum annum</i>
TK 82 39	Jarandilla (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
QD 51 08	Guareña (Ba)	<i>Vitis vinifera</i>
<i>Pratylenchus thornei</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
TK 88 15	Peraleda de la Mata (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
TK 97 36	Talayuela (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
PD 79 16	Badajoz (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
PD 93 12	Badajoz (Ba)	<i>Zea mays</i>
QD 26 11	Mérida (Ba)	<i>Zea mays</i>
QD 26 11	Mérida (Ba)	<i>Medicago sativa</i>
QD 26 11	Mérida (Ba)	<i>Lycopersicon esculentum</i>
QD 52 10	Valdetorres (Ba)	<i>Vitis vinifera</i>
<i>Pratylenchus vulnus</i>		
Coordenadas	Localidad	Huésped
TK 90 29	Talayuela (Cc)	<i>Nicotiana tabacum</i>
PD 93 12	Badajoz (Ba)	<i>Zea mays</i>
TJ 44 13	Mengabril (Ba)	<i>Cucumis sativus</i>

nes). Un 23% de estas poblaciones de nematodos son mezcla en campo de poblaciones de *M. incognita* y *M. arenaria*.

La distribución de frecuencias sugiere una posible relación entre las cuencas muestreadas y los géneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Helicotylenchus* (Cuadro 3).

Meloidogyne y *Helicotylenchus* aparecen distribuidos por igual en las cuatro zonas mientras que es significativa la asociación positiva de *Pratylenchus* con Vegas Bajas y negativa con Alagón. El peso de esa significación siguiendo el nivel máximo de exigencia de la corrección de Yeates, lo mar-

Cuadro 2.—Frecuencia de aparición de los principales nematodos fitoparásitos en las áreas de muestreo

	Total (110 muestras)		Tietar (20 muestras)	Alagón (41 muestras)	V. Altas (37 muestras)	V. Bajas (12 muestras)
	%	Frecuencia	Frecuencia	Frecuencia	Frecuencia	Frecuencia
<i>Meloidogyne</i>	41,8	46	8	18	16	7
<i>M. arenaria</i>	23,6	26	6	12	5	3
<i>M. incognita</i>	26,3	29	4	11	11	3
<i>M. javanica</i>	0,9	1	—	—	1	—
<i>Helicotylenchus</i>	41,8	46	5	21	13	7
<i>H. dihystra</i>	39,1	43	4	21	11	7
<i>H. pseudorobustus</i>	4,5	5	—	—	2	3
<i>H. vulgaris</i>	1,8	2	1	—	1	—
<i>Pratylenchus</i>	20,9	23	8	5	4	6
<i>P. crenatus</i>	5,4	6	3	3	—	—
<i>P. neglectus</i>	1,8	2	—	—	1	1
<i>P. penetrans</i>	4,5	5	2	2	1	—
<i>P. thornei</i>	7,3	8	2	—	1	5
<i>P. vulnus</i>	2,7	3	1	—	1	1

Cuadro 3.—Asociación de nematodos fitoparásitos con las áreas muestreadas

a) Géneros

	Tietar	Alagón	V. Altas	V. Bajas
<i>Meloidogyne</i>	NS	NS	NS	NS
<i>Helicotylenchus</i>	NS	NS	NS	NS
<i>Pratylenchus</i>	NS	(-)*	NS	(-)*

b) Especies

	Tietar	Alagón	V. Altas	V. Bajas
<i>M. arenaria</i>	NS	NS	NS	NS
<i>M. incognita</i>	NS	NS	NS	NS
<i>H. dihystra</i>	NS	(+)*	NS	NS
<i>H. pseudorobustus</i>	NS	NS	NS	(+)**
<i>H. vulgaris</i>	NS	NS	NS	NS
<i>P. crenatus</i>	(+)** NS	NS	(-)*	NS
<i>P. neglectus</i>	NS	NS	NS	NS
<i>P. penetrans</i>	NS	(-)*	NS	(+)**
<i>P. thornei</i>	NS	NS	NS	NS
<i>P. vulnus</i>			NS	

NS: No significativo.

*: p < 0,05.

**: p < 0,01.

***: p < 0,001.

can las especies *H. dihystra* (asociada positivamente con Alagón), *H. pseudorobustus* (asociada positivamente con Vegas Bajas) y *P. crenatus* (asociada positivamente con la cuenca del Tajo y negativamente con la cuenca del Guadiana).

En el Cuadro 4 se dan las frecuencias de aparición de las principales especies según huéspedes potenciales o cultivos y los resultados del análisis global χ^2 para las distintas especies según las frecuencias de aparición anteriores. Se observa que sólo *P. crenatus* aparece claramente asociado a tabaco.

DISCUSION

Se han identificado un total de doce especies pertenecientes a tres géneros de nematodos fitoparásitos diferentes. Las especies encontradas según la provincia (Badajoz, Ba; Cáceres Cc) son las siguientes: *Meloidogyne arenaria* (Ba, Cc); *M. incognita* (Ba, Cc); *M. javanica* (Ba); *Helicotylenchus dihystra* (Ba, Cc); *H. pseudorobustus* (Ba); *H. vulgaris* (Ba, Cc); *Pratylenchus crenatus*

(Cc); *P. neglectus* (Ba); *P. penetrans* (Ba, Cc); *P. thornei* (Ba, Cc); *P. vulnus* (Ba, Cc).

Más de 150 especies han sido descritas como pertenecientes al género *Helicotylenchus* sin embargo no más de 120 son aceptadas como válidas, FORTUNER (1984a, b). Los caracteres principales para la identificación de estas especies son morfométricos, existiendo como fue apuntado por FORTUNER (1979) y por FORTUNER y QUENEHERVE (1980), una gran amplitud en los intervalos de los caracteres morfométricos utilizados como diagnóstico. Esto dificulta la identificación correcta de las especies del género *Helicotylenchus* al solaparse unos intervalos con otros. La utilización del programa NE-MAID resulta de gran ayuda puesto que nos permite esclarecer el grupo o grupos con el que se relaciona la población cuestionada, facilitando la tarea de identificación.

El género *Pratylenchus* es el que menos dificultades taxonómicas presenta. El número de especies válidas según las revisiones utilizadas no es muy amplio. LOOF (1978) se centra principalmente en especies con distribución en Europa (veintinueve) y con-

Cuadro 4.—Frecuencia de aparición de las especies fitoparásitas más importantes según el huésped potencial. Significación χ^2 y sentido asociación

	Total	<i>M. arenaria</i>	<i>M. incognita</i>	<i>H. dihystra</i>	<i>P. crenatus</i>	<i>P. penetrans</i>	<i>P. thornei</i>
Tabaco	40	12	8	12	5	1	2
Hortícolas							
Tomate	31	4	7	16	0	1	2
Melón	14	2	5	7	1	0	0
Pimiento	10	3	4	4	0	2	0
Sandía	2	0	1	1	0	0	0
Pepino	1	1	0	0	0	0	0
Otros							
Algodón	2	1	0	0	0	0	0
Maíz	4	1	0	3	0	0	2
Alfalfa	1	0	0	0	0	0	1
Higuera	2	1	2	1	0	0	0
Melocotón	1	1	2	1	0	0	0
Vid	2	1	1	0	0	1	1
Significación huésped		NS	NS	NS	Tabaco (+)*	NS	NS

*: $p < 0,05$.

sidera doce caracteres de diagnóstico. HAN-DOO y GOLDEN (1989) consideran sesenta y tres en todo el mundo. Casi todos los caracteres de diagnóstico son de tipo morfológico y no muestran excesiva variabilidad intraespecífica, la cual tan sólo ha sido indicada de forma significativa, por TARTE y MAI (1976) para *P. penetrans*.

Las especies del género *Meloidogyne* (cincuenta y ocho especies descritas) pueden identificarse por el patrón perineal de las hembras aunque tiene gran variabilidad. Un método más rápido de diagnóstico es mediante electroforesis en geles de poli-acrilamida no desnaturizantes. Hemos puesto a punto esta técnica a partir de un sistema de minigeles que aunque no es tan rápido (hora y media frente a media hora) como el sistema automático para geles de 4,3 x 5 cm (ESBENSHADE y TRIANTAPHYLLOU, 1990), nos permite realizar el mismo número de identificaciones con un coste diez veces menor de equipo.

Nuestros análisis están de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores (DALMASSO y BERGE, 1978; ESBENSHADE y TRIANTAPHYLLOU, 1985a, b; PAÍS y ABRANTES, 1989) sobre la utilización de las isoenzimas estererasas y malato dehidrogenasa para la identificación taxonómica de las principales especies de *Meloidogyne*. Los diagnósticos pueden ser realizados en 24 horas a partir de raíces infectadas procedentes de campo, determinando la especie o especies presentes en la población y eliminando de esta forma la gran carga de subjetividad que acompaña al estudio de los patrones perineales (HIRSCHMANN, 1985).

De las cuatro principales especies de *Meloidogyne*, se encuentran presentes en Extremadura las tres que corresponden a los climas más templados (*M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*), no habiéndose confirmado la presencia de *M. hapla* (Del MORAL y ROMERO, 1979).

Es de destacar la alta frecuencia de *M. arenaria* cuya frecuencia esperada a escala mundial es del 8% del total de *Meloidogyne* (EISENBACK *et al.*, 1981). Esta alta presencia de *M. arenaria* en Extremadura podría estar relacionada con la estructura varietal de los cultivos y en particular con el cultivo del tabaco que llega a ser monocultivo, a veces monovarietal, en amplias zonas de estos regadíos.

Las poblaciones del nematodo formador de nódulos que aparecen en los regadíos extremeños son en casi un 25% mezcla de distintas especies. Este porcentaje no es comparable al de otras áreas debido a la escasez de referencias bibliográficas sobre mezclas de poblaciones de diferentes especies (NETSCHER, 1976 ofrece un 25%). Resulta extraño que en las encuestas de campo sobre nematodos fitoparásitos no se profundice sobre la existencia de mezcla de especies ya que dependiendo de la estructura varietal de los cultivos, la presencia-ausencia de complejos parasitarios puede originar entre otros, fenómenos de ruptura de resistencia y alteraciones de la respuesta del huésped. Tal es el caso de la ruptura de resistencia a *M. incognita* del cultivar de tabaco «NC 95» en presencia de *M. arenaria* o *M. hapla* (EISENBACK, 1983).

En general, todas estas especies pueden ser consideradas potencialmente perjudiciales para la producción de tabaco y hortalizas en todas las áreas de muestreo lo que no es de extrañar dado el amplio espectro de huéspedes, la amplia distribución geográfica así como la naturaleza destructiva de las enfermedades causadas por estos nematodos y en especial por los del género *Meloidogyne*.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Pablo Castillo por la ayuda prestada para la identificación de nematodos de los géneros *Pratylenchus* y *Helicotylenchus*.

ABSTRACT

ESPARRAGO, G. y NAVAS, A., 1995: Nematofauna fitoparásita asociada a cultivos hortícolas y tabaco en regadíos de Extremadura. *Bol. San. Veg. Plagas*, **21**(3): 303-317.

A survey of plant parasitic nematodes of the order Tylenchida in the Extremadurian irrigated lands located in the Tajo and Guadiana river basins was carried out.

A stratified sampling method is designed and the areas are divided in environmental units according to mapped criteria of soil type and climate. Samples are taken in each of the environmental units. A random or leaded criterion which is conditioned by the type and crop importance is followed.

Morphometric and biochemical methods (polyacrylamide gel electrophoresis) have been used for species diagnosis. Species belonging to genera *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* and *Pratylenchus* have been recorded: *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *H. dihystera*, *H. pseudorobustus*, *H. vulgaris*, *P. crenatus*, *P. neglectus*, *P. penetrans*, *P. thornei* and *P. vulnus*.

Geographic coordinates and potential host of species are pointed out.

Key words: Distribution, electrophoresis, *Helicotylenchus*, identification, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, irrigated land, tobacco, vegetable crops, Spanish Extremadurian.

REFERENCIAS

- BARKER, K. R., 1985: Sampling nematode communities. En, *An Advanced Treatise on Meloidogyne. Vol 2: Methodology*. K.R. Barker, C. C. Carter y J. N. Sasser (eds.). pp 3-17. North Carolina State University Graphics. Raleigh.
- COURTNEY, W. D.; POLLEY, D. y MILLER, V. L., 1955: TAF, an improved fixative in nematode technique. *Pl. Dis. Repr.*, **39**: 570-571.
- DALMASSO, A. y BERGE, J. B., 1978: Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: Application to the taxonomy of *Meloidogyne*. *J. Nematol.*, **10**: 323-332.
- DE GRISSE, A. T., 1969: Vergelijking van resultaten bekomen met de opspoevattenfiltermethode (OWFM) en met de suiker-centrifuge-drijmethode (SCDM) voor de extractie van plantenparasitaire nematoden uit de bodem. *Meded. Rijksfa. Landbouwwetenschappen Gent*, **34**: 57-69.
- EISENBACK, J. D., 1983: Loss of resistance in tobacco cultivar «NC 95» by infection of *Meloidogyne arenaria* or *M. hapla*. *J. Nematol.*, **15**: 478.
- EISENBACK, J. D.; HIRSCHMANN, H.; SASSER, J. N. y TRIANTAPHYLLOU, A. C., 1981: *A Guide to the Four Most Common Species of Root-knot Nematodes (Meloidogyne spp.)*, with a Pictorial Key. Coop. Publ. Dep. Plant Pathol., North Carolina State Univ., and U.S. Agency Int. Dev. Raleigh, N.C. North Carolina State Graphics. 48 pp.
- El Mercado Español de Fitosanitarios en 1992. 1993. *Hortofruticultura* 1993 (9): 79-80
- ESBENSHADE, P. R. y TRIANTAPHYLLOU, A. C., 1985a: Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *J. Nematol.*, **17**: 6-20.
- ESBENSHADE, P. R. y TRIANTAPHYLLOU, A. C., 1985b: Identification of major *Meloidogyne* species employing enzyme phenotypes as differentiating characters. En, *An Advanced Treatise on Meloidogyne. Vol 1: Biology and Control*. J. N. Sasser y C. C. Carter (eds.). pp 135-140. North Carolina State University Graphics. Raleigh.
- ESBENSHADE, P. R. y TRIANTAPHYLLOU, A. C., 1985c: Electrophoretic methods for the study of root-knot nematode enzymes. En, *An Advanced Treatise on Meloidogyne. Vol. 2: Methodology*. K. R. Barker, C. C. Carter y J. N. Sasser (eds.). pp 115-126. North Carolina State University Graphics. Raleigh.
- ESBENSHADE, P. R. y TRIANTAPHYLLOU, A. C., 1990: Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *J. Nematol.*, **22**: 10-15.
- FORTUNER, R., 1979: Morphometrical variability in *Helicotylenchus* Steiner, 1945. I The progeny of a single female. *Revue Nématol.*, **2**: 197-202.
- FORTUNER, R., 1984a: Morphometrical variability in *Helicotylenchus* Steiner, 1945. 5: On the validity of ratios. *Revue Nématol.*, **7**: 137-146.
- FORTUNER, R., 1984b: Morphometrical variability in *Helicotylenchus* Steiner, 1945. 6: Value of the characters used for specific identification. *Revue Nématol.*, **7**: 245-264.
- FORTUNER, R. y QUENEHERVE, P., 1980: Morphometrical variability in *Helicotylenchus* Steiner, 1945. 2: Influence of the host on *H. dihystera* (Cobb, 1893) Sher, 1961. *Revue Nématol.*, **3**: 291-296.
- GUERRA, A. y colaboradores, 1968: *Mapa de Suelos de España*. Escala 1:1.000.000. Inst. de Edafología y Biología Vegetal. CSIC. Madrid. 119 pp.
- HANDOO, Z. A. y GOLDEN, A. M., 1989: A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (lesion nematodes). *J. Nematol.*, **21**: 202-218.
- HARRIS, H. y HOPKINSON, D. A., 1976: *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North-Holland Publ. Co., New York. 356 pp.
- HIRSCHMANN, H. 1985. The genus *Meloidogyne* and morphometrical characters differentiating its species. En, *An Advanced Treatise on Meloidogyne. Vol 1:*

- Biology and Control*. J. N. Sasser y C. C. Carter (eds.). pp 79-93. North Carolina State University Graphics. Raleigh.
- JEPSON, S. B., 1987: *Identification of Root-Knot Nematodes (Meloidogyne species)*. CAB International, Oxon, United Kingdom. 265 pp.
- La Agricultura y la Ganadería Extremeña en 1992. 1993. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales. Universidad de Extremadura. 351 pp.
- LITTLE, T. M. y HILLS, F. J., 1976: *Métodos Estadísticos para la Investigación en la Agricultura*. Ed. Trillas. México. 270 pp.
- LOOF, P. A. A., 1978: *The Genus Pratylenchus Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae): A Review of its Anatomy, Morphology, Distribution, Systematics and Identification*. Swedish University of Agricultural Sciences, Jordbruk 5, Upsala. 50 pp.
- MAI, W. F., 1983: The importance of taxonomy to nematode control strategies. *Plant Dis.*, **67**: 716.
- Mapa del Agua de Extremadura. 1987. Escala 1:300.000. Consejería de Obras Públicas, Urbanismo y Medio Ambiente. Junta de Extremadura.
- MORAL, J. del y ROMERO, M. D., 1979: Técnicas de separación, morfometría y control de *Meloidogyne hapla* Chitwood en tomate, mediante diversos nematocidas. Badajoz 1977. *Bol. Serv. Plagas*, **5**: 165-176.
- NETSCHER, C., 1976: Observations and preliminary studies on the occurrence of resistant-breaking biotypes of *Meloidogyne* spp. on tomato. *Cah. ORSTOM Ser. Biol.*, **11**: 173-178.
- PAÍS, C. S. y ABRANTES, I. M. de O., 1989: Esterase and malate dehydrogenase phenotypes in Portuguese populations of *Meloidogyne* species. *J. Nematol.*, **21**: 342-346.
- PAÍS, C. S.; ABRANTES, I. M. de O.; FERNÁNDES, M. F. M. y SANTOS, M. S. N. de A., 1986: Técnica de electroforesis aplicada ao estudio das enzimas dos nemátodes-das-galhas-radiculades, *Meloidogyne* spp. *Ciênc. Biol. Ecol. Syst.*, **6**: 19-34.
- SASSER, J. N. y FRECKMAN, D. W., 1987: A world perspective on nematology: The role of the society. En, *Vistas on Nematology: A Commemoration of the Twenty-fifth Anniversary of the Society of Nematologists*. J. A. Veech y D. W. Dickson (eds.) pp. 7-14. Society of Nematologists, Inc. Maryland.
- TARTE, R. y MAI, W. F., 1976: Morphological variation in *Pratylenchus penetrans*. *J. Nematol.*, **8**: 185-200.
- THORNTHWAITE, C. W., 1948: An approach toward a rational classification of climate. *Geogr. Rev.*, **38**: 55-94.

(Aceptado para su publicación: 5 julio 1994)