

COMUNICACION

***Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913 (Nemata: Tylenchida) y su asociación con *Citrus aurantium* L. y *Citrus reshni* Hort. ex Tan.**

Marcelo E. Doucet y E. L. de Ponce de León

RESUMEN

Se evalúa la resistencia al nematodo fitófago semi-endoparásito *Tylenchulus semipenetrans* por medio del análisis de las modificaciones histológicas inducidas en dos pies de cítricos (*Citrus aurantium* L. y *Citrus reshni* Hort. ex Tan.) cultivados en la provincia de Tucumán (Argentina). El pie de *C. reshni* mostró ser el menos susceptible. Además, las alteraciones histológicas generadas por el nematodo aparecen rodeadas por una capa suberificada que aislaría la zona afectada del resto de los tejidos de la raíz atacada.

Palabras clave: *Tylenchulus semipenetrans*, *Citrus aurantium*, *Citrus reshni*, Tucumán, Argentina.

Marcelo E. Doucet y E. L. de Ponce de León, 1992. Association between *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913 (Nemata: Tylenchida) and citrus (*Citrus aurantium* L. and *Citrus reshni* Hort. ex Tan). Agriscientia IX Nº 2 : 113-116.

SUMMARY

Resistance of two different stocks of cultivated citrus trees from Tucumán, Argentina (*Citrus aurantium* L. and *C. reshni* Hort. ex Tan.) to the phytophagous semi-endoparasitic nematode *Tylenchulus semipenetrans* was evaluated by an analysis of the histological modifications produced by this species. *C. reshni* was the least susceptible. Histological alterations observed were surrounded by a suberous layer which would isolate the affected portion from the rest of the root tissues.

Key words: *Tylenchulus semipenetrans*, *Citrus aurantium*, *Citrus reshni*, Tucumán, Argentina.

Marcelo E. Doucet. Fac. de Cs. Agropecuarias. U.N.C.. C.C. 509. 5000 Córdoba. Argentina. Eugenia L. de Ponce de León. Cát. de Morfología Vegetal. Fac. de Cs. Ex., Fís.-Quím. y Nat. U.N. de Río Cuarto. 5800 Río Cuarto. Argentina.

Numerosas especies de nematodos del suelo se relacionan con la rizósfera de los cítricos (Cohn, 1972). Una de ellas —*Tylenchulus semipenetrans*— es capaz de causar serios daños en todas partes del mundo.

Este nematodo está asociado a una gran variedad de suelos y situaciones geográficas diferentes y limita en proporciones considerables el rendimiento de sus huéspedes (Duncan & Cohn, 1990). Además de los daños que ocasiona directamente, se le agregan los generados por otros patógenos que pueden asociarse con él, tales como hongos del género *Fusarium* (Chandel & Sharma, 1989; Labuschagne *et al.*, 1989) y bacterias (B'Chir et Belkadhi, 1986). Por su amplia dispersión, ese nematodo representa serios riesgos para la citricultura en general; alrededor del 10% de las superficies destinadas a cítricos está infectada (Noling & Duncan, 1988). Es capaz de parasitar distintas especies y variedades; ha sido demostrada la existencia de razas fisiológicas diferentes según sea la susceptibilidad del huésped (Gottlieb *et al.*, 1986). Esto exige un conocimiento preciso del comportamiento de las distintas poblaciones así como su relación con diferentes huéspedes a los fines de limitar el desarrollo de aquéllas y poder llevar a cabo un adecuado manejo del problema.

En la República Argentina, el nematodo fue detectado por primera vez en el Delta del Paraná, Corrientes y Santa Fe parasitando "citrus" (Fresa, 1943). Posteriormente fue hallado en asociación con diferentes variedades de cítricos en distintas localidades del país, principalmente el litoral y el noroeste (Marchionatto, 1945, 1946, 1947; Schultz, 1945; Gutiérrez, 1947; López-Cristóbal, 1965; Costilla, 1969; Moreno, 1969). En todas estas situaciones, se lo reconoce como el responsable de la disminución de rendimientos en el vegetal.

En la provincia de Tucumán, la asociación entre el nematodo y diversas variedades de cítricos es frecuente (Costilla, 1969). A los fines de evaluar la susceptibilidad de diferentes pies a la acción del nematodo, se efectuó un análisis de las alteraciones histológicas inducidas por este último en raíces de plantas infectadas.

Se utilizaron raicillas de los pies agrio (*Citrus aurantium* L.) y cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.), provenientes de una parcela homogéneamente infestada con *T. semipenetrans* de la Estación Experimental Agro-Industrial Obispo Colombres (Tucumán). Las plantas tenían las siguientes combinaciones de injertos: limón sobre Agrio, limón sobre Cleopatra y mandarina común sobre Cleopatra.

Para detectar las hembras del nematodo y evaluar así el grado de infestación correspondiente, las raicillas fueron cuidadosamente revisadas bajo microscopio estereoscópico. A continuación fueron prolijamente lavadas con agua, cortadas en trozos de aproximadamente 5 mm. de longitud y fijadas en FAA a temperatura de laboratorio. Posteriormente se deshidrataron a través de una serie alcohol etílico-xilol y se incluyeron en parafina, efectuándose cortes de 14 μ m. de espesor. La coloración utilizada fue la de hematoxilina, safranina y verde rápido, y el montaje se realizó en Bálsamo de Canadá (Johansen, 1940).

Para el reconocimiento de suberina se utilizó Sudán IV (D'Ambrogio de Argüeso, 1986).

De la observación de las raicillas bajo microscopio estereoscópico se desprende que las provenientes de la combinación: limón sobre Cleopatra son las menos infestadas por estar parasitadas por menos cantidad de hembras.

El análisis de los cortes histológicos mostró que las porciones cefálicas de las hembras penetran en la corteza, no sobrepasando la endodermis (Fig. 1 A). En los casos de raicillas muy delgadas, la región anterior de la hembra puede situarse a proximidad de esta capa. La penetración de esa región del nematodo a través de células corticales, se efectúa por ruptura de paredes celulares. Las células, en el tejido no afectado, son aproximadamente isodiamétricas en corte transversal, de paredes celulósicas. En su interior se observa una fina capa de citoplasma parietal ya que gran parte de la célula está ocupada por una voluminosa vacuola central; el núcleo y el nucleolo miden alrededor de 4 μ m y 1,5 μ m de diámetro respectivamente.

En relación con el extremo anterior del nematodo y dispuestas en forma compacta alrededor de una cavidad que aloja la porción cefálica del parásito, aparecen una serie de células corticales (entre seis y diez) de características diferentes a las demás (Fig. 1 B). Esa cavidad resulta de la pérdida del contenido citoplasmático de una o dos células del parénquima cortical. El citoplasma de las células que rodean la cavidad (que servirán de fuente de alimento al nematodo) toma apariencia granular y elevada densidad. Las vacuolas se reducen gradualmente al punto de desaparecer, permitiendo que el citoplasma abarque todo el contenido celular. El núcleo y el nucleolo se agrandan, alcanzando dimensiones de 12 μ m - 17 μ m y 4 μ m - 5 μ m de diámetro respectivamente (Fig. 1 C). El espesor de las paredes celulares aumenta, como consecuencia de su lignificación. En estadios de parasitismo muy avanzados, se observa

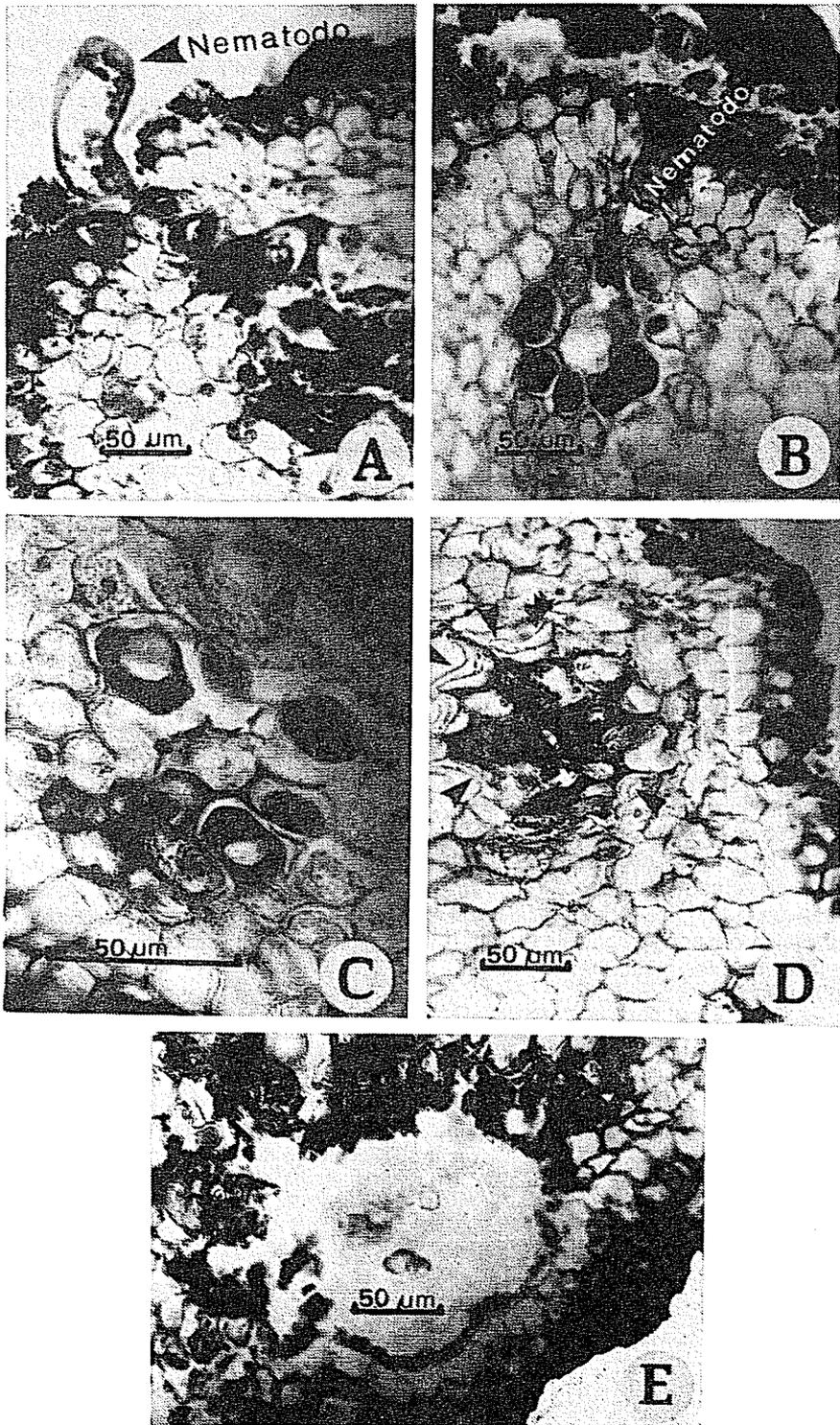


Figura 1. Alteraciones histológicas inducidas por *Tylenchulus semipenetrans* en raíces de *C. reshni* (cortes transversales). **A.** Penetración del nematodo; **B.** Región cefálica del nematodo rodeada por células corticales modificadas; **C.** Células corticales modificadas; **D.** Células corticales desorganizadas, rodeadas por células suberificadas; **E.** Cavidad resultante de la desaparición del nematodo y las células corticales desorganizadas.

ruptura de las paredes celulares y desorganización del citoplasma (Fig. 1 D).

En las raíces de la combinación: mandarino común sobre Cleopatra, se detectan series de células suberificadas que circunscriben el área modificada por efecto del parasitismo (Fig. 1 D). En los otros casos, este fenómeno no ha sido observado.

Cuando el nematodo muere, la zona ocupada por las células destinadas a su alimentación se desintegra, quedando en su lugar una cavidad de dimensiones variables (Fig. 1 E), rodeada por las células suberificadas. No se han observado fenómenos de hipertrofia ni hiperplasia, como así tampoco la penetración del extremo anterior de las hembras en el interior del periciclo.

En las dos variedades analizadas, las alteraciones observadas son las mismas excepto la aparición de series de células suberificadas.

La modalidad de acción de la población de *T. semipenetrans* estudiada coincide con lo descripto en oportunidades anteriores (Van Gundy & Kirkpatrick, 1964; Van Gundy & Meagher, 1977). De los pies analizados, Cleopatra aparece como el más resistente al nematodo; resulta menos infestado que el otro y la zona afectada por el parásito queda aislada del resto de los tejidos por una capa suberificada. La presencia de esas células suberificadas conferirían una cierta resistencia al nematodo al limitar el progreso de las alteraciones que induce. Un fenómeno equivalente ha sido descripto en claveles resistentes a *Fusarium oxysporum* (Baayen, 1987); la respuesta del huésped a la penetración del hongo consiste en la formación de tejido hiperplásico con felema suberizado que delimitan la zona atacada.

El pie Cleopatra aparece entonces como el menos susceptible a la acción de *T. semipenetrans*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Provincia de Córdoba (CONICOR) por el subsidio N° 1066 (Res. 414/88) que hizo posible este trabajo y al Ing. Agr. Miguel A. Costilla (Estación Experimental Agro-Industrial Obispo Colombares, Tucumán) por proveer raíces de cítricos.

BIBLIOGRAFIA

- Baayen, R. P. 1987. Responses related to lignification and intravascular periderm formation in carnations resistant to *Fusarium* wilt. *Can. J. Bot.* 66 : 784-792.
- B'Chir, M. M. et M. S. Belkadi, 1986. Nouvelles données sur les modifications histologiques induites par le complex *Fusarium solani-Tylenchulus semipenetrans* au niveau des racines de porte-greffe de citrus. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 9 pp.
- Cohn, E. 1972. Nematode diseases of citrus. En : Webster, J. M. (Ed.) *Economic Nematology*, Academic Press, London: 215-244.
- Costilla, M. A. 1969. Nematología agrícola. Serie Didáctica N° 5. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Universidad Nacional de Tucumán. 39 pp.
- Chandel, Y. S. & N. K. Sharma. 1989. Interaction of *Tylenchulus semipenetrans* with *Fusarium solani* on citrus. *Indian Journal of Nematology* 19 : 21-24.
- D'Ambrogio de Argüello, A. 1986. *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Ed. Hemisferio Sur. 81 pp.
- Duncan, L. W. & E. Cohn. 1990. Nematodes parasites of citrus. En : M. Luc, R. A. Sikora & J. Bridge (Eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. C. A. B. International, London : 321-346.
- Fresa, R. 1943. La presencia del nematodo *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, en las raicillas de los citrus. *Physis* XIX : 348-354.
- Gottlieb, Y., E. Cohn & P. Spiegel - Roy. 1986. Biotypes of the citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb) in Israel. *Phytoparasitica* 14 : 193 - 198.
- Gutiérrez, R. O. 1974. El nematodo de las raicillas de los citrus *Tylenchulus semipenetrans* en la República Argentina. *Revista de Investigaciones Agrícola* 1 : 119-146.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechniques*. New York, Mc Graw - Hill Book Co., XI + 523 pp.
- Labuschagne, N., F. A. Van Der Vegte & M. Koetzé. 1989. Interaction between *Fusarium solani* and *Tylenchulus semipenetrans* on citrus roots. *Phytophylactica* 21 : 29-33.
- López - Cristóbal, U. 1965. Nematodos fitófagos. Anguillosis de las plantas cultivadas en Argentina. *AGRO* (12), 31 pp.
- Marchionatto, J. B. 1945. La "podredumbre de la raicilla" del naranjo. *Corp. Frut. Arg.* (127) : 17-25.
- Marchionatto, J. B. 1946. Nota relacionada con la etiología de la "podredumbre de la raicilla" del naranjo. *Revista Argentina de Agronomía* 13 : 96-100.
- Marchionatto, J. B. 1947. La podredumbre de las raicillas de los citrus provocada por *Tylenchulus semipenetrans*. *Min. Agric. Inst. de San. Veg. Argentina, Serie A*, 3 : 1-6.
- Moreno, A. F. 1969. Nematodos hallados en raíz y tierra de plantas cítricas. *CNIA, Inst. Pat. Veg., Castellar; Hoja Informativa N° 38*.
- Noling, J. W. & L. W. Duncan, 1988. Guidelines for managing citrus nematodes. *Nematology Plant Protection Pointer* (27), 7 pp.
- Schultz, E. F. 1945. La podredumbre de las raicillas de los citrus. *Chacra, Buenos Aires*, 15 : 30-31.
- Van Gundy, S. D. & D. Kirkpatrick. 1964. Nature of resistance in certain citrus rootstocks to citrus nematode. *Phytopathology* 54 : 419-427.
- Van Gundy, S. D. & J. W. Meagher. 1977. Citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) problems worldwide. *Proc. Int. Soc. Citricultura* 3 : 823-826.

Agri&Scientia

NORMAS PARA LA PRESENTACION DE TRABAJOS

1. AGRISCIENTIA es la revista científica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba para la publicación de trabajos científicos originales o parcialmente originales sobre temas agropecuarios. Incluirá trabajos terminados, comunicaciones de trabajos en etapa de realización y notas breves.
2. Los trabajos deberán remitirse al Editor en Jefe. Constarán de un original y tres copias, escritos en castellano, inglés o francés, en papel tamaño oficio, mecanografiados a doble espacio, utilizando una sola carilla. Las hojas se numerarán correlativamente y todas deberán estar firmadas por el autor principal.
3. Los trabajos tendrán estructura lógica, siendo la secuencia de las secciones las siguientes:

Título (*en castellano e inglés*)
Autores (*incluyendo lugar de trabajo y dirección postal*)
Resumen
Palabras clave
Summary
Key words
Introducción
Materiales y métodos
Resultados y discusión
Conclusiones
Agradecimientos (*si los hubiere*)
Bibliografía

Los títulos de las secciones se colocarán en el centro de la hoja y los subtítulos hacia el margen izquierdo.

4. En el texto, las menciones/citas de autores se harán de la siguiente forma: (Sánchez, P., 1970) si se trata de un solo autor; (Scott and Aldrich, 1984) cuando sean dos; (Iglesias, J. *et al.*, 1988) para el caso de tres o más autores. Cuando las citas sean más de una se ordenarán cronológicamente. Para el caso de distintos trabajos de un mismo autor en un mismo año, éstos deberán identificarse por el agregado secuencial de una letra: (Sánchez, P., 1986 a, b). Toda transcripción se pondrá entre comillas citando al autor.
5. Los nombres científicos completos deberán ser citados en su primera mención. En posteriores menciones podrá usarse solamente la inicial del género más la especie, sin agregar el clasificador. De utilizar el nombre común, éste deberá ser acompañado por el nombre científico en su primera mención. Todas las locuciones latinas deberán ir subrayadas o en negrita o cursiva.
6. Los símbolos químicos podrán ser utilizados en el texto (Ej.: N por nitrógeno, C por carbono); en cambio no deberán emplearse las fórmulas químicas corrientes en reemplazo de las correspondientes palabras (Ej.: agua y no H₂O). Se podrán utilizar las abreviaturas de uso corriente, como ATP, DNA, RNA, etc.
7. Cuando en el texto se haga referencia a cantidades, éstas deberán expresarse en términos arábigos (Ej.: 4 parcelas), excepto al referirse a "uno" o cuando el párrafo se inicie con una cifra.
8. Los resultados de los trabajos podrán presentarse en tablas y figuras. La numeración de éstas se hará en forma independiente y correlativa, con números arábigos. Tanto los títulos como los textos explicativos deberán ir todos juntos en hoja aparte. En el reverso o debajo de cada tabla o figura deberá consignarse su número con lápiz a los efectos de identificar el título y/o texto expli-

cativo que le corresponde, y el nombre del autor principal y título abreviado del trabajo para evitar su pérdida.

Las figuras deberán permitir su reducción al ancho de una columna (según la diagramación de la revista, 7 cm) o —sólo si fuese preciso— a doble columna (15 cm). Si las dimensiones de los originales son superiores a estas dimensiones, se deberán adecuar el espesor de las líneas y el tamaño de los símbolos para que no pierdan legibilidad con la reducción. Se aceptarán figuras realizadas en tinta negra o en impresora láser o chorro de tinta.

Las fotografías se incluirán sólo cuando sean imprescindibles. En tal caso se presentarán sin pegar, en papel blanco y negro brillante.

Las tablas y figuras no deberán sumar más de la tercera parte del total del trabajo.

9. En la bibliografía sólo se consignarán los autores citados en el texto, ordenados alfabéticamente por el autor principal. Cuando un autor(es) es citado varias veces, se repetirá el o los nombres tantas veces como sea necesario, ordenándose los trabajos por orden cronológico. Toda cita bibliográfica se iniciará con el apellido e iniciales del autor principal y luego iniciales y apellido de los coautores.
10. Las referencias bibliográficas para artículos de publicaciones periódicas (revistas) deberán incluir los siguientes datos:

Autor/es
 Año de publicación (*sin paréntesis, en números arábigos*)
 Título del artículo
 Nombre de la publicación periódica en la que apareció
 Volumen y número de la publicación periódica
 Página inicial y final del artículo

11. Las referencias bibliográficas para un libro o folleto deben incluir los siguientes datos:

Autor/es
 Año de publicación (*sin paréntesis, en números arábigos*)
 Título
 Número de edición (*si no es la primera*)
 Lugar de publicación
 Editor
 Paginación

12. Las comunicaciones no tendrán estructura lógica, pero su texto deberá reflejar sintéticamente los objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones.
13. Los trabajos serán revisados por un mínimo de tres consultores. Estos serán designados por el Editor en Jefe con el asesoramiento del Comité Asesor, y serán investigadores de probada trayectoria y experiencia en el tema. Será necesaria la aprobación de al menos dos de ellos para que un trabajo sea aceptado para su publicación. Las modificaciones que los consultores pudieren sugerir serán remitidas al autor; una vez realizadas se considerará como versión final y se fijará la fecha de aceptación.
14. La versión final del manuscrito se enviará por duplicado en papel y diskette de sistemas compatibles con IBM PC o Apple Macintosh. Los trabajos o documentos deberán ser elaborados en los procesadores de textos Word Star, Word o Word Perfect, o en su defecto en formato ASCII.
15. Previo a la publicación se enviará una prueba de galera al primer autor, quien deberá devolverla dentro de los siete días de recibida; en caso contrario el Editor se hará cargo de la corrección. Las pruebas son sólo para correcciones de errores tipográficos.