

ALTERACIONES ANATÓMICAS INDUCIDAS POR *CACTODERA GALINSOGAE*
(NEMATA: HETERODERINAE) EN MIEMBROS DE ASTERACEAE

Jesahbel Hernández-López¹
Alejandro Tovar-Soto¹
Alicia Carvajal-Sandoval²
Rolando Torres-Coronel¹

¹ Laboratorio de Nematología Agrícola del Departamento de Parasitología
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN

² Departamento de Botánica, ENCB-IPN
E-mail: yasbelhita@yahoo.com.mx

RESUMEN

Se describieron las alteraciones anatómicas inducidas por el nematodo formador de quistes *Cactodera galinsogae* en las arvenses *Galinsoga parviflora* y *Bidens odorata*, miembros de Asteraceae, crecidas en campos de cebada naturalmente infestados en la localidad “La Raya”, Singuilucan, Hidalgo. Durante el ciclo de cultivo primavera-verano 2003, se recogieron las arvenses a los 15, 30 y 45 días posteriores a su emergencia. Las raíces de las plantas recogidas fueron lavadas y fijadas con Craff en el sitio de colecta. Una parte del material se tiñó con fucsina-lactoglicerol y transparentó en esencia de clavo; la otra parte se incluyó en parafina para efectuar cortes al microtomo y teñirlos con fucsina-verde rápido. *C. galinsogae* indujo la formación de sitios de alimentación (sincitios) de forma irregular, ubicados principalmente en el cilindro vascular y cortex de las raíces de *G. parviflora* y *B. odorata*. Las principales alteraciones a nivel celular fueron: hiperplasia de las células aledañas al sitio de alimentación, citoplasma del sincitio denso y granuloso, engro-

samiento y ruptura de células corticales por donde penetró el nematodo, suberización alrededor de las hembras maduras ubicadas en el cortex; en el cilindro vascular hubo desorganización de los vasos del xilema; se observaron además, cristales de color magenta de naturaleza desconocida en el cortex. En las raíces teñidas con fucsina-lactoglicerol, se observaron los juveniles (J2, J3, J4), y hembras maduras de *C. galinsogae*, alojados en el cortex en plano paralelo al cilindro vascular principalmente en las raíces secundarias y terciarias.

Palabras clave: nematodo formador de quistes, *Cactodera galinsogae*, cilindro vascular, sitio de alimentación, hiperplasia, suberina.

ABSTRACT

We investigated the anatomical changes induced by the cyst-forming nematode *Cactodera galinsogae* in the weeds *Galinsoga parviflora* and *Bidens odorata*, both members of the Asteraceae, growing in a naturally infested field of barley at “La Raya”, Singuilucan, Hidalgo. During the

2003 growing season, the weeds were collected at 15, 30 and 45 days after emergence. Their roots were washed and fixed in Craf in the field. Part of the material was stained with fuchsin-lactoglycerol and cleared with clove oil; the other part was embedded in paraffin for making slices with the microtome and stained with fuchsin-fast green. *Cactodera galinsogae*-induced feeding sites (sincitia of irregular form) were located mainly in the vascular cylinder and cortex. The main changes at the cellular level were: cells around the feeding sites underwent hyperplasia, cytoplasm of the sincitia became dense and granular, cortical cells thickened and ruptured where the nematodes penetrated, and a suber layer formed around the mature females located in the cortex. Furthermore, the xylem vessels of the vascular cylinder were disorganized, and magenta crystals of unknown nature were observed in the cortex. Inside the stained roots, juveniles (J2, J3, J4) and mature females of *C. galinsogae* were located in the cortex in a plane parallel to the vascular cylinder, mostly in secondary and tertiary roots.

Key words: cyst-forming nematode, *Cactodera galinsogae*, vascular cylinder, feeding site, hyperplasia, suber.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos formadores de quistes (NFQ) son un grupo muy importante de patógenos debido a que ocasionan daños significativos a muchos cultivos agrícolas en donde destacan: trigo (*Triticum aestivum* L.), avena (*Avena sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), entre otros (Tovar-Soto *et al.*, 2003). Estos fitopatógenos pueden producir defor-

maciones en las plantas y acortamiento en el sistema radical, lo que limita la absorción de agua y nutrientes, o bien inducen la proliferación de raíces, achaparramiento y muerte, con la consecuente reducción en la producción. *Cactodera* es nativo del hemisferio occidental, sus especies se encuentran asociadas a varias plantas de cultivo, donde destacan cactáceas, amarantáceas, euforbiáceas y quenopodiáceas (Evans y Rowe, 1998). Otro aspecto importante para *Cactodera* es el tipo de lesiones que sus especies inducen en sus hospedantes; la literatura refiere que los NFQ inducen dos tipos básicos de respuestas celulares: la célula gigante uninucleada (CGU) y los sitios de alimentación (sincitios) (Mundo-Ocampo, 1985). Hasta ahora ningún miembro de la familia Asteraceae está registrado como hospedante de *Cactodera* spp., tampoco se conocen las alteraciones anatómicas que *C. galinsogae* induce en arvenses de la familia Asteraceae crecidas en los campos donde se siembra cebada. Los objetivos planteados fueron: 1) Describir las alteraciones anatómicas inducidas por *Cactodera galinsogae* en las arvenses *Galinsoga parviflora* Cav. y *Bidens odorata* Cav., miembros de Asteraceae; 2) Relacionar las fases de desarrollo del nematodo con las alteraciones anatómicas en las raíces de las arvenses estudiadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el ciclo de cultivo primavera-verano 2003, se recogieron las arvenses *G. parviflora* y *B. odorata* a los 15, 30 y 45 días posteriores a su emergencia, en un campo de cultivo de cebada (*Hordeum vulgare* L.) naturalmente infestado por *C. galinsogae* en la localidad "La Raya",

municipio de Singuilucan, Hidalgo, México.

El método de muestreo utilizado fue aleatorio. Una vez recogido el material se procedió a lavar las raíces con agua destilada, posteriormente, éstas se fijaron en Craff en el sitio de colecta (este fijador está compuesto por una solución de trióxido de cromo y otra de formaldehído las cuales se mezclaron en proporción volumen a volumen antes de fijar el material, de lo contrario se pierde el efecto fijador y sólo sirve como medio de preservación y endurecimiento) donde el material puede permanecer por más de cinco años. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Nematología Agrícola en el Departamento de Parasitología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, en donde se efectuó el estudio. El material fijado se lavó al chorro de agua y posteriormente se hicieron cambios con alcohol etílico al 70%, a intervalos de 15 minutos para eliminar el exceso de fijador. Después se tiñó con fucsina-lactoglicerol (De la Jara-Alcocer *et al.*, 1994). Con ayuda de un estereomicroscopio se hizo una selección del material biológico para cada colecta de donde se eligieron raíces con y sin nematodos. Las raíces se cortaron en trozos de 1 cm; los trozos se lavaron y preservaron en alcohol al 70%. Una parte del material sirvió para describir las alteraciones anatómicas inducidas por este nematodo. Las raíces seleccionadas se deshidrataron en una serie de etanol (70°, 80°, 90°, 96°, 100°), posteriormente se transparentaron e incluyeron en parafina.

Con el material incluido se efectuaron cortes longitudinales y transversales de 10 µm de grosor en un microtomo de rotación.

Finalmente el material se deshidrató en otra serie de etanol y se montó en resina sintética para su observación y análisis (Carvajal-Sandoval, 1996). El resto de las raíces se deshidrataron en una serie de etanol, transparentándose con esencia de clavo y se efectuaron montajes en resina sintética para la observación directa de los nematodos (De la Jara-Alcocer *et al.*, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de 15 días posteriores a la emergencia de las arvenses *Galinsoga parviflora* y *Bidens odorata*, en los cortes transversales y longitudinales de los testigos (fig. 1A, B) se observó la disposición del tejido vascular perfectamente normal sin alteración aparente, en cambio, en los cortes transversales de los problemas se observó la presencia de uno o dos nematodos situados al nivel del cortex formando un sitio de alimentación que se hizo evidente abarcando células tanto del cortex como del cilindro vascular; además hubo hipertrofia de células que dieron lugar a la coalición de sus citoplasmas, el que se tornó denso y granuloso (fig. 1C).

En los cortes longitudinales se observó la formación del sincitio a lo largo del tejido conductor (fig. 1D) y la presencia del nematodo entre las células corticales (fig. 1E). Los sincitios fueron irregulares y abarcaron principalmente parte del cilindro vascular. En las raíces transparentadas en esencia de clavo, se apreciaron juveniles del segundo estadio ubicados dentro de la raíz, situados en el tejido cortical en plano paralelo al cilindro vascular (fig. 1J). A los 30 días, en los cortes transversales se observaron los nematodos embebidos en el tejido cortical.

Se apreció la disolución de las paredes de las células adyacentes al sincitio, y con ello el incremento del tamaño del mismo, dichos sincitios fueron irregulares y abarcaron parte del cilindro vascular desplazando los vasos del xilema, e invadiendo endodermis y corteza (fig. 1F). En los cortes longitudinales los sincitios abarcaron principalmente células del cilindro vascular; aparecieron además, cristales color magenta de naturaleza desconocida situados alrededor del sincitio (fig. 1G).

En las raíces transparentadas con esencia de clavo, se observó la ubicación de los nematodos (juveniles J3 y/o J4), embebidos en la raíz (fig. 1K). A los 45 días, en los cortes transversales se observó la presencia de hembras al nivel de células corticales, las que quedaron rodeadas por una capa de suberina formada por las células parenquimáticas dañadas; el sincitio se encuentra delimitado por paredes gruesas, ubicado principalmente en el sistema vascular (fig. 1H).

En los cortes longitudinales el nematodo se observó en el sistema vascular rodeado por una capa de suberina; en donde aparece nuevamente la presencia de cristales color magenta (fig. 1I). En las raíces transparentadas con esencia de clavo, se observaron estadios juveniles más avanzados, probablemente juveniles J4 y/o hembras adultas (fig. 1L). Ninguna de las alteraciones antes mencionadas se observaron en los testigos. *Cactodera galinsogae* se encontró tanto en *G. parviflora* como en *B. odorata* ubicado principalmente en las raíces secundarias y terciarias, aunque con mayor abundancia en *G. parviflora*, esto debido a que se trata de su mejor huésped natural (Tovar-Soto, 2003; Tovar-Soto *et al.*, 2003). El nematodo

indujo en las arvenses estudiadas la formación de sitios de alimentación, los que ocuparon principalmente el cilindro vascular, en donde hubo desorganización de los vasos del xilema; aunque en otras ocasiones los sincitios abarcaron parte de las células corticales y de la endodermis, lo que coincide con otros autores para algunos miembros de Heteroderinae (Endo, 1985; Mundo-Ocampo, 1985). Algunos sincitios ocuparon hasta un 50% del cilindro central debido a que las raíces por donde penetra el nematodo son muy delgadas. Los sincitios por lo general tuvieron forma irregular, lo cual coincide con la literatura donde se menciona que los sitios de alimentación producidos por algunos miembros de Heteroderinae presentan formas variables (Baldwin y Bell, 1985; Suárez *et al.*, 1985).

Las principales alteraciones histopatológicas a nivel celular inducidas por esta especie fueron: la presencia de citoplasma denso y granuloso; hipertrofia, hiperplasia y engrosamiento de las paredes celulares que delimitan el sincitio; engrosamientos de las paredes celulares que rodean al nematodo y la formación de una capa de suberina alrededor del mismo. La presencia de cristales color magenta de naturaleza desconocida ubicados en las células corticales. Las células corticales de la raíz por donde penetró el nematodo se colapsaron y rompieron, ya que al ir penetrando, éste se va abriendo espacio entre las esquinas de dichas células (Mundo-Ocampo, 1985; Cárdenas-Soriano *et al.*, 1999).

La presencia de cristales color magenta ubicados principalmente en el cortex, ha sido observada por algunos autores en lesiones provocadas por *Nacobbus*

aberrans en Chile (*Capsicum annuum* L.), donde mencionan no conocer su naturaleza (Castillo y Marbán-Mendoza, 1984). La célula penetrada por el estilete del nematodo, se va agrandando y su citoplasma se va tornando denso y granuloso. Las células adyacentes a esa célula inicial, también se agrandan provocando el colapso, permitiendo así, su incorporación al sitio de alimentación (Jones, 1981). El sincitio se extiende longitudinalmente respecto al eje de la raíz y las paredes que lo delimitan son gruesas.

De acuerdo con Endo (1978), estos engrosamientos están formados por materia fibrosa y pueden deberse a una respuesta de defensa del hospedante para restringir al patógeno en el tejido vegetal; o bien, ser un mecanismo inducido por el propio nematodo con el fin de facilitar el movimiento de sustancias de la raíz para su alimentación. Los engrosamientos y la formación de suberina de las células que rodean al nematodo probablemente se deban a una reacción de defensa (Endo, 1978; Agrios, 1998), lo que permite resguardar a la planta huésped. Paralelo al estudio histopatológico, se hizo la trasparencia de raíces en esencia de clavo para la observación directa y completa de los nematodos, lo que dio una gran perspectiva acerca de la ubicación de éstos en las mismas. A los 15 días posteriores a la emergencia de las arvenses, se observaron los estadios juveniles J2 y J3. A la siguiente fecha de colecta se observaron juveniles J3 y J4, y en la última colecta aparecieron las hembras maduras globosas; esto concuerda con Gutiérrez-Aguilar y García-Zúñiga (2002) y Tovar-Soto (2003) quienes encontraron que el ciclo de vida de *Cactodera galinsogae*, tarda aproximadamente 50 días bajo condiciones de campo.

AGRADECIMIENTOS

Al IPN por brindar el apoyo económico al proyecto: CGPI/20040957; Alejandro Tovar-Soto es becario COFAA-IPN.

LITERATURA CITADA

- Agrios, N. G., 1998. *Fitopatología*. 3ª ed. UTEHA, Noriega Editores. México, D.F. 838 pp.
- Baldwin, G. J. and Bell, A. H., 1985. “*Cactodera eremica* n. sp., *Afenestrata africana* (Luc, *et al.*, 1973) n. gen., n. comb. and an emended diagnosis of *Sarisodera* Wouts and Sher, 1971. (Heteroderidae)”. *Journal of Nematology*, **17**:187-201.
- Castillo, G. y Marbán-Mendoza, N., 1984. “Histopatología y desarrollo de *Nacobus aberrans* Thorne y Allen 1994, en raíces de *Capsicum annuum* y *C. baccatum*”. *Agrociencia*, **56**:85-93.
- Cárdenas-Soriano, E., Cid del Prado-Vera, I. y Flores-Camacho, R., 1999. “Respuestas celulares inducidas por *Cactodera* sp. en raíces de clavel (*Dianthus cariophyllus* L.)”. *Avances de Investigación*, Instituto de Fitosanidad. Colegio de posgraduados. Montecillo, Edo. de México. pp. 97-98.
- Carvajal-Sandoval, A., 1996. *Manual de Histología Vegetal*. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. 42 pp.
- De la Jara-Alcocer, F., Zeron-Bravo, F., Torres-Coronel, R. y Tovar-Soto, A., 1994. *Manual de Prácticas de Nematología Agrícola*. 2ª ed. Departamen-

- to de Parasitología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. México, DF, 107 pp.
- Endo, B.Y., 1978. "Feeding plug formation in soybean roots infected with the soybean cyst nematode". *Phytopathology*, **68**:102-122.
- Endo, B. Y., 1985. "Histopathology and ultrastructural modification induced by cyst nematodes". pp. 133-146. In: Lamberti F. and Taylor C. E. (eds). *Cyst Nematodes*. Plenum Press. New York.
- Evans, K. and Rowe, J. A., 1998. "Distribution and economic importance". pp. 1-30. In: Sharma, B. S. (ed). *The Cyst Nematodes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- Gutiérrez-Aguilar, M. y García-Zúñiga, J., 2002. *Gama de hospedantes y ciclo de vida de Cactodera sp. (Nemata: Heteroderidae) asociada a cebada Hordeum vulgare en los Valles Altos del estado de Hidalgo*. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico Agropecuario No. 29. Xocoyucan, Tlaxcala. 74 pp.
- Jones, M. G. K., 1981. "The development and function of plant cells modified by endoparasitic nematodes". pp. 255-279. In: Zuckerman, B. M. and Rohde, R. A. (eds). *Plant Parasitic Nematodes*. Academic Press, New York.
- Mundo-Ocampo, M., 1985. "Cambios celulares inducidos por algunos géneros de la familia Heteroderidae en sus hospedantes". pp. 37-45. In: Marbán, M. N. y Thomason, J. I. (eds.). *Fitonematología Avanzada I*. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Edo. de México, México.
- Suárez, Z., Sosa-Moss, C. and Inserra, N. R., 1985. "Anatomical changes induced by *Punctodera chacoensis* in corn roots". *Journal of Nematology*, **17**:242-244.
- Tovar-Soto, A., 2003. *Nematodos formadores de quistes (Nemata: Heteroderinae) en cereales de los Valles Altos de México: Taxonomía, dinámica poblacional, histopatología y gama de hospedantes*. Tesis Doctoral. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Edo. de México. 107 pp.
- Tovar-Soto, A., Cid del Prado-Vera, I., Nicol, J. M., Evans, K., Sandoval-Islas, J. S. and Martínez-Garza, A., 2003. "*Cactodera galinsogae* n. sp. (Tylenchida: Heteroderinae) on barley (*Hordeum vulgare* L.) of the High Valleys of Mexico". *Nematropica*, **33**:41-54.

Recibido: 31 enero 2006. Aceptado: 6 septiembre 2006.

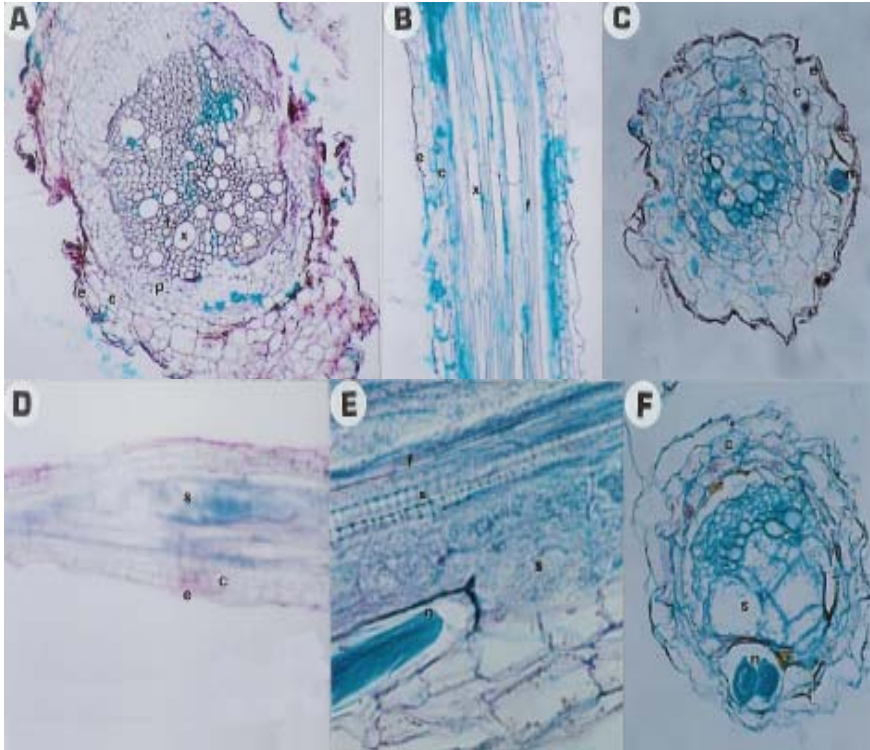
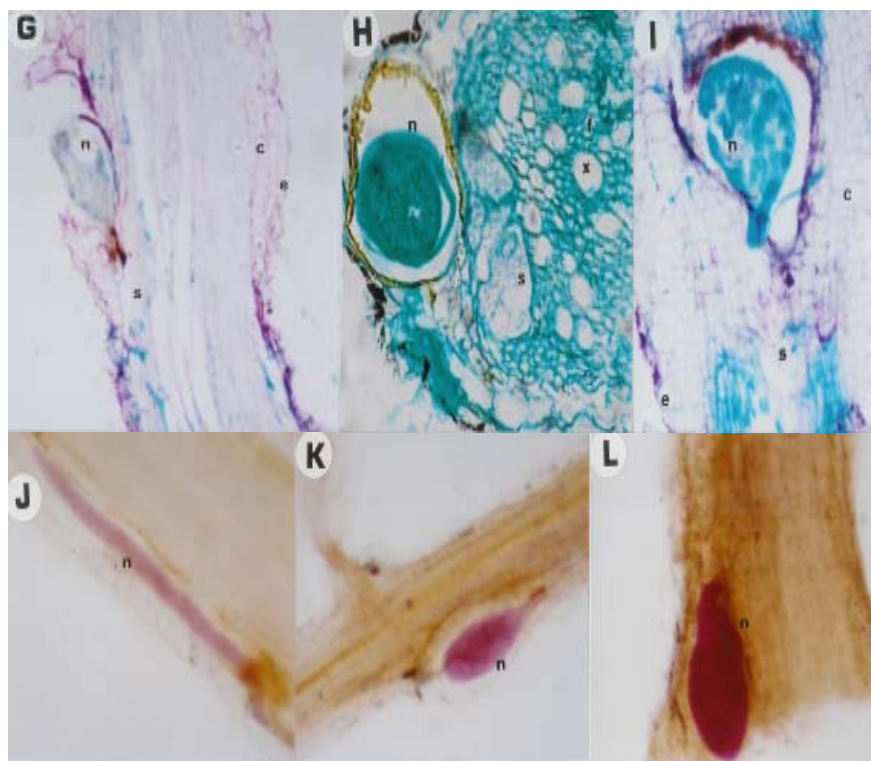


Fig. 1. Micrografías de las alteraciones anatómicas inducidas por *Cactodera galinsogae* en las raíces de las arvenses *Galinsoga parviflora* y *Bidens odorata*: A) Corte transversal de raíz de *B. odorata* sin nematodos (40x). B) Corte longitudinal de raíz de *G. parviflora* sin nematodos (40x). C-E) Raíces recogidas a los 15 días posteriores a su emergencia: C) Corte transversal de *G. parviflora* (100x), D) Corte longitudinal de *B. odorata* (40x) y E) Corte longitudinal de *G. parviflora* (200x). F-G) Raíces recogidas a los 30 días posteriores a la emergencia: F) Corte transversal de *G. parviflora* (100x).



Continuación Fig. 1. G) Corte longitudinal de *B. odorata* (40x). H-I) Raíces recogidas a los 45 días posteriores a su emergencia: H) Corte transversal de *G. parviflora* (100x) e I) Corte longitudinal de *B. odorata* (40x). J-L) Raíces de *G. parviflora* transparentadas con aceite de clavo: J) Juvenil J2 (40x), K) Juvenil J4 (40x) y L) Hembra adulta (40x).