

ASOCIACIÓN HONGOS DEL SUELO CON NEMÁTODOS FITOPARÁSITOS EN EL PATOSISTEMA ÑAME, MUNICIPIO CAMAJUANÍ

Maryluz Folgueras Montiel*, Vaniert Ventura Chávez y Jaime Simó González
Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo, CP: 53 000, Villa Clara, Cuba.

*Autora para la correspondencia: fitopatologia@inivit.cu

Recibido: 4 de diciembre de 2019; Aceptado: 28 de enero de 2020

RESUMEN

El impacto de la asociación nematodos-hongos ha sido estudiado desde hace muchos años en varios cultivos, como el plátano y el banano. Sin embargo, no existe abundante información sobre el tema para el ñame en Cuba. Por solicitud de productores del municipio Camajuaní, provincia Villa Clara, ante la presencia de severos daños en plantaciones de ñame del cultivar 'Blanco de Guinea' (*Dioscorea rotundata* L.), especialistas del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), recolectaron muestras de tubérculos con síntomas de pudriciones, que posteriormente trasladaron al Laboratorio de Nematología y Fitopatología, para ser procesadas. El aislamiento de los hongos de las lesiones superficiales de los tubérculos de ñame, demostró el predominio de *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Fusarium oxysporum* Schlecht. Dentro de los nematodos fitoparásitos, los más frecuentes fueron: *Scutellonema bradys* Andrassy y *Pratylenchus coffeae* Goodey. Se determinó que, del total de lesiones muestreadas, el 77,8 % correspondió a hongos patógenos, el 51,6 % a nematodos parásitos y el 29,4 % tenían presencia de hongos, más nematodos. La extracción de nematodos de estas lesiones arrojó que, la asociación *S. bradys*-*S. rolfsii* es más frecuente (20,5 %) que la asociación *S. bradys*-*F. oxysporum* (10,6 %), mientras que *P. coffeae* sólo se observó asociado a *F. oxysporum*. Los nematodos causaron las mayores afectaciones fitosanitarias al ñame, lo que contribuyó a la entrada de otros organismos fitopatógenos; esta asociación puede generar pudriciones en los tubérculos durante el almacenamiento.

Palabras clave: hongos, nematodos, ñame

SOIL FUNGI ASSOCIATION WITH PHYTOPARASITIC NEMATODES IN THE YAM PATHOSYSTEM, CAMAJUANÍ MUNICIPALITY

ABSTRACT

The impact of the nematodes-fungi association has been studied in several crops, such as plantain and banana for many years. However, there is not enough information on the subject for yam in Cuba. At the request of yam producers from Camajuaní municipality, Villa Clara province, due to the presence of severe damage in yam plantations of the 'Blanco de Guinea' (*Dioscorea rotundata* L.) cultivar, specialists from the Research Institute of Tropical Roots and Tuber Crops (INIVIT), collected tuber samples with symptoms of rotting, which were transferred to the Nematology and Phytopathology Laboratory to be processed later. The fungi isolation from superficial lesions of yam tubers showed the predominance of *Sclerotium rolfsii* Sacc. and *Fusarium oxysporum*

Schlecht. Among the phytoparasitic nematodes, the most frequent were: *Scutellonema bradys* Andrassy and *Pratylenchus coffeae* Goodey. It was determined that of the total lesions sampled, 77,8 % corresponded to pathogenic fungi, 51,6 % to parasitic nematodes and 29,4 % had fungi presence, plus nematodes. Nematodes extraction from these lesions showed that the *S. bradys*-*S. rolfii* association is more frequent (20,5 %) than the *S. bradys*-*F. oxysporum* association (10,6 %), while *P. coffeae* was only associated with *F. oxysporum*. Nematodes caused the greatest phytosanitary damage to yam, which contributed to the entry of other phytopathogenic organisms; this association may cause rots in the tubers during storage.

Keywords: fungi, nematodes, yam

INTRODUCCIÓN

El ñame (*Dioscorea* spp. L.) constituye dentro de las raíces y tubérculos el cultivo de más desarrollo en Cuba en la última década. Se planta fundamentalmente en la región oriental y central del país. En el año 2018 se plantaron 5 304 hectáreas con una producción de 18 252 toneladas (MINAG, 2018). El mayor productor del tubérculo en el mundo es Nigeria, con el 70-75 % de la producción mundial (Omohimi *et al.*, 2019). Los tubérculos tienen una doble función agrícola, se utilizan como fuente de alimento y como material de plantación (Bekele y Bekele, 2018).

Entre los principales problemas fitosanitarios del cultivo se destaca la antracnosis, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., que constituye una de las enfermedades más ampliamente distribuidas en el mundo, la cual provoca daños considerables en el follaje, con una incidencia marcada en el rendimiento. Por otra parte, las enfermedades virales pertenecientes al grupo de los *potyvirus* y las pudriciones secas asociadas a nematodos fitoparásitos y hongos fitopatógenos habitantes del suelo, son también reconocidas dentro de los organismos causantes de plagas al ñame (INIVIT, 2018).

Se informa que nematodos fitoparásitos y hongos fitopatógenos están asociados en lesiones superficiales muy características. Los nematodos son responsables de modificaciones fisiológicas importantes a nivel de los tejidos que parasitan y además, favorecen la penetración y expansión de los hongos, dentro del sistema radical de la planta (Mateille y Folkerstsma, 1988).

Se ha observado que los nematodos fitoparásitos reducen el rendimiento, la calidad, el valor de mercado y la brotación del ñame, pues provocan una reducción del 20-30% en el peso del tubérculo en la cosecha (Kolawole *et al.* 2018).

Según Leblanc (2007) *Scutellonema bradys* Andrassy invade el tubérculo a través de las raíces; los síntomas del ataque son rajaduras en la corteza del tubérculo, asociados con pudriciones secas. El nematodo se disemina en la semilla empleada para la plantación. Por su parte *Pratylenchus coffeae* Goodey ataca las raíces y los tubérculos produciendo en ellos rajaduras en la cáscara y pudriciones secas que conducen al deterioro total de los mismos. Este último se disemina por medio del material de propagación, de ahí que la forma más segura de combatirlo es utilizando semilla certificada, libre de plagas.

Folgueras *et al.* (2016) determinaron que un complejo de hongos son los agentes causales del síntoma de la pudrición seca del tubérculo: *Fusarium* spp. Link, *Chlamydomyces* sp. Bainier, *Aspergillus niger* van Thiege, *Rhizoctonia solani* Kühn,

Mucor mucedo L., *Penicillium chrysogenum* Thom, *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizopus nigricans* Ehr., *Pythium* sp. Pringsheim y *Sclerotium rolfsii* Sacc.

El objetivo de la investigación fue realizar el análisis en 75 muestras de tubérculos de ñame, colectadas en áreas productoras del municipio Camajuaní y establecer la relación entre los hongos patógenos con nematodos fitoparásitos en el cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el período comprendido entre enero y marzo de 2019, en tres fincas de una hectárea de ñame cada una, ubicadas en el municipio Camajuaní provincia Villa Clara, situadas en las coordenadas geográficas (22,25° LN y 79,38° LO) y en los Laboratorios de Fitopatología y Nematología de la Dirección Manejo de Plagas del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT).

A partir del tejido de tubérculos enfermos, se realizó el aislamiento de hongos patógenos. Para ello, se tomaron del tejido afectado rodajas de 10-12 mm de grosor que se enjuagaron en agua con detergente (5 min), se colocaron en hipoclorito de sodio (2 min) y se lavaron durante 30 minutos en agua corriente. De ellas, se cortaron secciones de 1 cm² que se sumergieron en etanol 70 % (1 min.), se enjuagaron tres veces en agua destilada estéril y se escurrieron en papel de filtro esterilizado, para ser llevadas al flujo laminar donde se sembraron en placas de Petri de 9 cm de diámetro que contenían el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar suplementado con 400 mg Penicilina G (PDA+ P). Se procedió posteriormente a la identificación, para lo que se emplearon claves y manuales especializados para estos fines (Castañeda, 2001). Para la identificación de los hongos aislados se seleccionaron los caracteres morfológicos de fácil observación y que definen a los géneros y especies, tales como: morfología, color y hábito de crecimiento de la colonia, tamaño (largo y ancho) y forma de los conidios.

Se realizaron las correspondientes pruebas de patogenicidad para demostrar la capacidad de los hongos identificados para producir síntomas en tejidos sanos de tubérculos de ñame.

Para la extracción de nematodos se colectaron al azar 20 tubérculos por área, que se colocaron en bolsas de polietileno y se identificaron con el nombre de la finca. La extracción de nematodos se realizó mediante el método de bandejas de *Whitehead*, con filtros de gasa (Ochandía *et al.*, 2016). Los tubérculos se enjuagaron con agua corriente para eliminar el suelo adherido. Con el uso de un cuchillo, se les extrajo la corteza, los fragmentos obtenidos se homogenizaron y se montaron tres repeticiones de 5 g por cada finca. Las muestras se mantuvieron en los filtros durante cinco días (Coyne *et al.*, 2009).

Los recobrados obtenidos se depositaron en pomos de cristal de 250 ml, donde se dejaron decantar durante una hora. Pasado este tiempo, con el uso de una pipeta marca Gilson se extrajo el agua sobrante, hasta quedar aproximadamente 10 ml.

Las soluciones finales obtenidas se depositaron en viales plásticos estériles de 10 ml de capacidad. Se dejó decantar durante una hora y posteriormente se extrajo el agua hasta quedar 2 ml. Finalmente se añadieron 2 ml de solución TAF (Trietanolamina 2 ml, Formalina (40% formaldehído) 7 ml y agua destilada 91 ml) a 53° C para la muerte y fijación de los nematodos (Coyne *et al.*, 2009). La identificación se realizó mediante las claves de Mai y Lyon (1975).

Por tratarse de un muestreo donde el interés fue comparar la proporción de presencia del hongo patógeno, contra la ausencia del mismo en la muestra, que tiene una

característica común (nematodos), se siguió el modelo para realizar pruebas de hipótesis de diferencia de proporciones de dos distribuciones binomiales independientes (Suárez *et al.*, 1992):

$$Z = \frac{(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) - (p_1 - p_2)}{\sqrt{\frac{\hat{p}_1 \cdot \hat{q}_1}{n_1} + \frac{\hat{p}_2 \cdot \hat{q}_2}{n_2}}}$$

Donde:

p1= proporción muestral del atributo 1 (presencia del hongo).

p2 = proporción muestral del atributo 2 (sin hongo).

Para realizar las pruebas de hipótesis se separaron las muestras en 2 grupos: Grupo 1, las que presentaban ataque del nematodo *Scutellonema bradys* y Grupo 2, las que tenían *Pratylenchus coffeae*, respectivamente. En ambos casos se estableció la relación entre géneros de nematodos y la presencia o ausencia de *Sclerotium rolfsii* y/o *Fusarium oxysporum*.

También se realizó un análisis estadístico en muestras sin nematodos fitoparásitos y la presencia de los hongos bajo estudio. En las muestras se podían encontrar aislados o mezclados los patógenos considerados, razón por la cual no coinciden los totales. Estas pruebas se hicieron para confirmar o negar la relación entre nematodos fitoparásitos y hongos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación las especies de nematodos identificadas morfológicamente fueron *Scutellonema bradys* Andrassy y *Pratylenchus coffeae* Goodey, lo que corrobora lo informado por Humphreys *et al.* (2018) acerca de que estas mismas especies son las más importantes que afectan la calidad del tubérculo en Costa Rica y pueden ocasionar un deterioro de la calidad de estos en el campo o durante el almacenaje.

Sin embargo, Kolombia *et al.* (2017) informaron que dentro de los nematodos noduladores de la raíz, *Meloidogyne* spp., representa una amenaza importante para la producción de ñame en África occidental, hallazgo que permitió ampliar la lista de plagas de ñame en dicha región y exigió precaución al desarrollar prácticas para manejo de estos organismos en el cultivo. Estos autores realizaron encuestas en las principales zonas productoras de Nigeria, aislaron e identificaron especies de este género de nematodo fitoparásito mediante el fenotipo de enzimas (esterasas y malato deshidrogenasas) y ADN mitocondrial (ADNmt) NADH deshidrogenasa subunidad 5 (Nad5) de código de barras, lo que confirmó la precisión del método para la identificación de especies de este género.

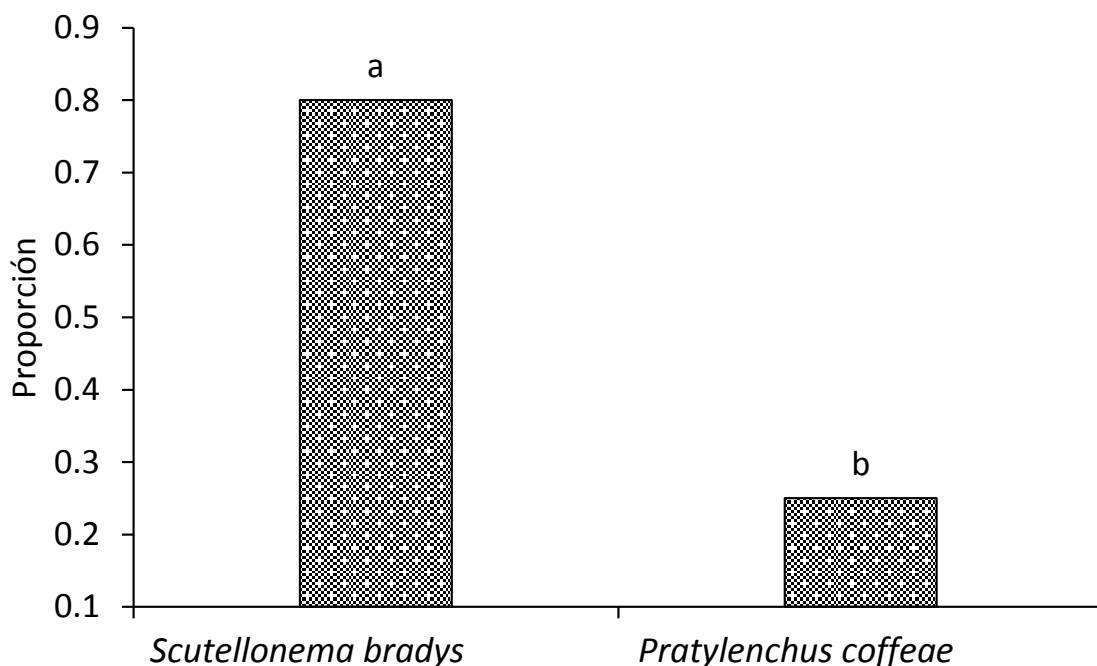
Los hongos fitopatógenos aislados e identificados en las muestras evaluadas fueron: *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Fusarium oxysporum* Schlecht. Ambos microorganismos mostraron una proporción diferente en relación con las especies de nematodos detectadas (Tabla 1).

Suárez *et al.* (1992) estudiaron la asociación de nematodos fitoparásitos con hongos del suelo en el aguacatero, y sus análisis confirmaron estrecha relación entre la incidencia de nematodos de los géneros *Helicotylenchus* Coob y *Rotylenchulus* Linford & Oliveira con la presencia de hongos *Phytophthora cinnamomi* Rands, agente causal de la pudrición de raicillas y *Pythium splendens* Baur con *Rotylenchulus*.

Tabla1. Frecuencia de aparición de hongos deuteromicetos y nematodos fitoparásitos en muestras de tubérculos de ñame.

Nematodos	Hongos		
	<i>Sclerotium rolfsii</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Sin hongos
<i>Scutellonema bradys</i>	25	13	7
<i>Pratylenchus coffeae</i>	-	12	6
No fitoparásitos	27	18	14

El nematodo del ñame *Scutellonema bradys* fue la especie detectada en la mayor cantidad de muestras evaluadas, con respecto al nematodo lesionador *Pratylenchus coffeae* (Figura 1).



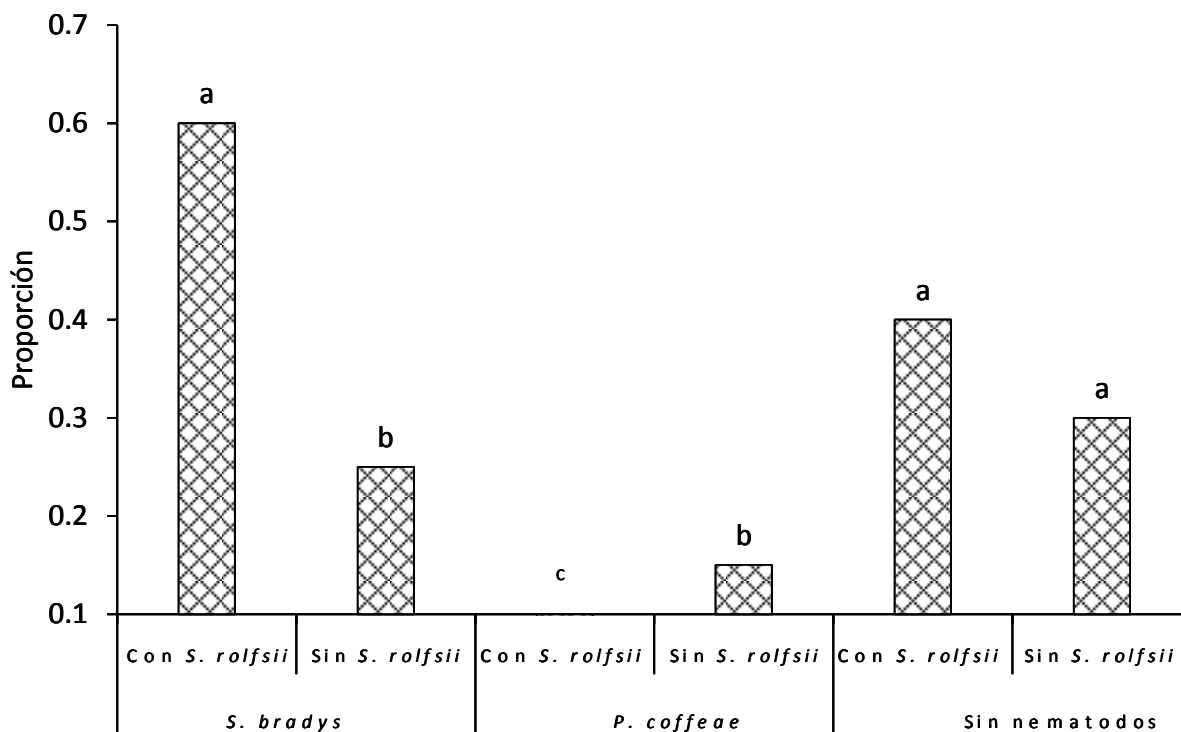
Proporción con letras diferentes indican diferencias significativas al nivel $\alpha = 0,05$.

Figura 1. Comparación de proporciones de muestras en tubérculos con relación a afectaciones por nematodos.

Los síntomas detectados coinciden con los informados por Humphreys *et al.* (2018) referentes a áreas de coloración amarillenta que se tornan de café claro a café oscuro y luego negro, y usualmente profundizan en el tubérculo hasta 2 cm y en estados avanzados se logran observar grietas principalmente en la parte anterior tubérculo.

La proporción de muestras (nivel $\alpha = 0,05$) con la presencia de *S. rolfsii* estuvo asociada solamente a la presencia del nematodo fitoparásito *Scutellonema bradys*, así como al daño ocasionado por otras especies no parásitas (Figura 2). Este organismo patógeno (*S. rolfsii*) es un hongo habitante del suelo, muy destructivo, con un amplio rango de hospederos, favorecido por climas cálidos y para el que el suelo es un factor ambiental importante en su desarrollo y patogenicidad. Según González (2015), si las previsiones

sobre cambio climático se cumplen, patógenos como este hongo van a ir siendo cada vez más habituales en nuestros cultivos.



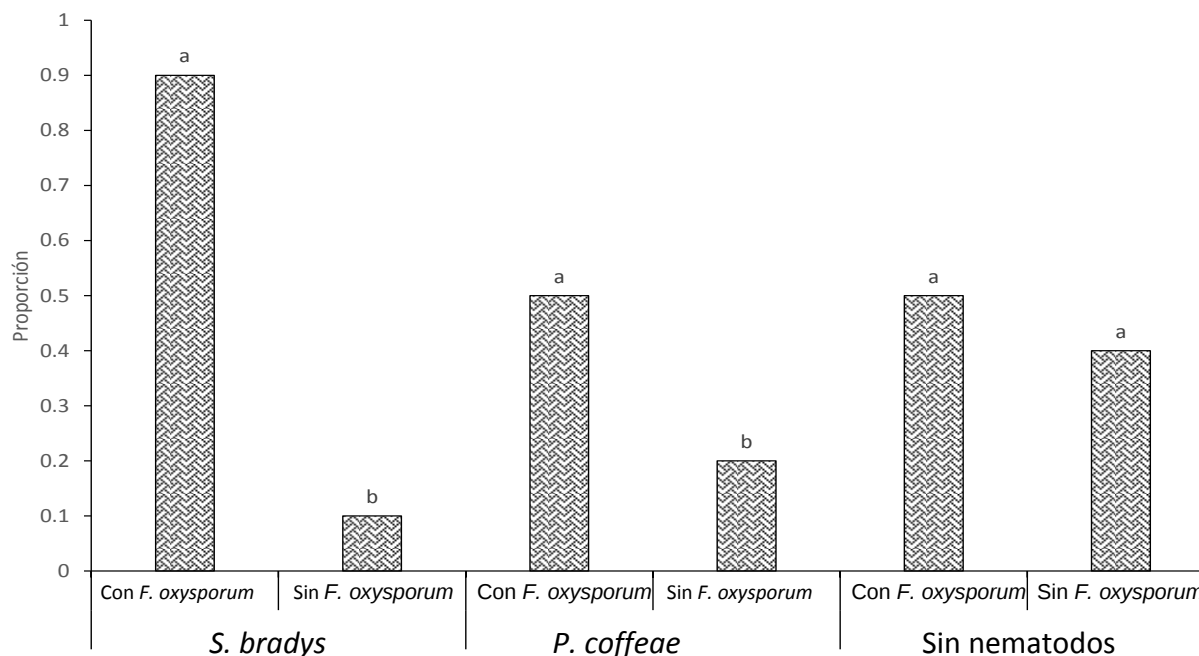
Proporción con letras diferentes indican diferencias significativas al nivel $\alpha = 0,05$

Figura 2. Comparación de proporciones de muestras en tubérculos con relación a afectaciones por *Sclerotium rolfsii* Sacc. y los nematodos.

Humphreys *et al.* (2017) realizaron el primer informe de individuos mostrando presencia concomitante de especies de los géneros *Meloidogyne* y *Pratylenchus*, en ñames del grupo blanco en las principales áreas de producción de Costa Rica, utilizando rápidos y precisos métodos moleculares.

Al evaluar la comparación de proporciones de muestras (nivel $\alpha = 0,05$) en tubérculos con relación a afectaciones por *Fusarium oxysporum* Schlecht y nematodos (Figura 3), se observó que la presencia del hongo patógeno fue siempre superior tanto para la existencia como en ausencia de nematodos. Estos resultados demuestran la capacidad infectiva del hongo.

Se han atribuido pérdidas poscosecha en ñame producidas por insectos, nematodos, roedores, respiración del tubérculo latente, pérdida de agua por evaporación, brotación y ataque microbiano, por lo que se emplean métodos de control biológico de la pudrición fúngica en esta etapa con la bacteria benéfica *Bacillus subtilis* Cohn, estudio que se discute en muchos países con agricultores en zonas de desarrollo. Después de la cosecha, las pérdidas debidas a la podredumbre microbiana por hongos, representan una desventaja mayor que cualquier otra causa y son las responsables de las mayores pérdidas en tubérculos de ñame durante el almacenamiento (Okigbo, 2005).



Proporción con letras diferentes indican diferencias significativas al nivel $\alpha = 0,05$

Figura 3. Comparación de proporciones de muestras en tubérculos con relación a afectaciones por *Fusarium oxysporum* Schlecht y nematodos.

Es necesario realizar investigaciones en relación a este tipo de asociación, que permitan diseñar medidas de combate para hongos oomicetes y nematodos, pues existe desconocimiento de esta problemática por parte de muchos agricultores. Este tema abre la posibilidad de efectuar un control integrado de ambos grupos organismos y por ende lograr mayor sanidad de las plantaciones de ñame.

CONCLUSIONES

1. En la asociación nematodos-hongos patógenos en áreas de ñame del municipio Camajuaní, reveló la prevalencia de *Scutellonema bradys* sobre el nematodo lesionador *Pratylenchus coffeae*. Ambas especies parecen causar predisposición en la planta, que permite a los hongos colonizar las raíces en forma más rápida.
2. Del total de lesiones muestreadas, el 77,8 % correspondió a hongos patógenos, el 51,6 % a nematodos parásitos y el 29,4 % tenían presencia de hongos, más nematodos.
3. Las proporciones muestrales evaluadas evidenciaron que la incidencia de *Sclerotium rolfsii* resultó estrechamente relacionada con la presencia de *Scutellonema bradys*, mientras que *Fusarium oxysporum* estuvo asociado a dicha especie fitoparásita y, además, a *Pratylenchus coffeae*.

BIBLIOGRAFIA

BEKELE, A. y E. BEKELE. 2018. Proximate and Mineral Composition Variability in Ethiopian Yam (*Dioscorea* spp). *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 6(1): 12-17.

- Disponible en: <http://www.sciencepublishinggroup.com/j/jfns>. doi: 10.11648/j.jfns.20180601.12. ISSN: 2330-7285 (Print); ISSN: 2330-7293 (Online).
- COYNE, D.; J.M. NICOL y B. CLAUDIUS-COLE. 2014. Nematología práctica: Una guía de campo y laboratorio. 2^{da} Edición, SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Cotonou, Benín. 82pp. 2014. (Versión Traducida por S. Verdejo- Lucas).
- FOLGUERAS, M.; L. HERRERA y L. MORALES. 2016. Microorganismos fitopatógenos y asociados a tubérculos de cultivares de ñame (*Dioscorea* spp.). *Agricultura Tropical*, 2(1):61-68. Disponible en: http://ojs.inivit.cu/index.php?journal=inivit&page=article&op=download&path%5B%5D=46&path%5B%5D=AT02012016_7MP-011.pdf.
- GONZÁLEZ, A.J. 2015. *Sclerotium rolfsii*, un patógeno de judía que produce daños de forma ocasional. *Tecnología Agroalimentaria*, No. 11, pág. 19-22. Disponible en: <http://www.serida.org/pdfs/5362.pdf>.
- HERNÁNDEZ-OCHANDÍA, D.; H.M. RODRÍGUEZ; C.I. MIRANDA y R. HOLGADO. 2016. Métodos para la extracción de nematodos presentes en suelos del agrupamiento Ferralítico en Cuba. *Revista Protección Vegetal*, 31(3):228-232.
- HUMPHREYS, D.A.; L. FLORES; L. SALAZAR and L. GÓMEZ. 2017. Plant-parasitic nematodes associated with yams (*Dioscorea* spp.) and identification of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species in three yam-growing regions of Costa Rica. *Nematropica* 47(2): 120-134.
- HUMPHREYS, D.; L. FLORES y J. CASTRO. 2018. Deterioro de la calidad de tubérculos de ñame por nematodos fitoparásitos. Disponible en: <https://www.fittacori.or.cr/contenido/deterioro-de-la-calidad-de-tuberculos-de-name-por-nematodos-fitoparasitos/>.
- INIVIT. Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales. Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales. 2018. Instructivo Técnico del cultivo del cultivo del ñame (*Dioscorea* spp). Biblioteca ACTAF, 20 p.
- KOLAWOLE, G.O.; T.M. HAASTRUP and T.I. OLABIYI. 2018. Can arbuscular mycorrhiza fungi and NPK fertilizer suppress nematodes and improve tuber yield of yam (*Dioscorea rotundata* 'cv' ewuru)? *Eurasian J Soil Sci*, 7(2):181-186.
- KOLOMBIA, Y.A.; G. KARSSSEN; N. VIAENE; P.L. KUMAR, N. SUTTER; L. JOOS; D.L. COYNE and W. BERT. 2017. Diversity of Root-knot Nematodes Associated with Tubers of Yam (*Dioscorea* spp.) Established Using Isozyme Analysis and Mitochondrial DNA-based Identification. *Journal of Nematology* 49(2):177-188.
- LEBLANC, H.A. 2007. Producción de raíces y tubérculos: los ñames cultivados en la región atlántica de Costa Rica / Humberto A. Leblanc, Jorge Arce P. – Guácimo, CR: Universidad EARTH, 39 p. – (Serie Documentos Técnicos; no. 5) ISBN 978-9977-84-006-2.
- MAI, W. and H. LYON. 1975. Pictorial key to Genera of Plant-Parasitic Nematodes. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- MATEILLE, T. and S. FOLKERSTMA. 1989. Nematode-fungi associations on banana in Ivory Coast. *Fruits*, Volumen IV. No. 3: 153-158.
- MINAG. Ministerio de la Agricultura. 2018. Resumen Estadístico hasta diciembre de 2018 de la Dirección de Agricultura del MINAG. República de Cuba.
- OKIGBO, R.N. 2005. Biological control of postharvest fungal rot of yam (*Dioscorea* spp.) with *Bacillus subtilis*. *Mycopathologia*, 159: 307-314.

- OMOHIMI, C.; C. PICCIRILLO; V. FERRARO; M.C. RORIZ; M.A. OMEMU; S.D. SANTOS; S. RESSURREIÇÃO; L. ABAYOMI; A. ADEBOWALE; M. VASCONCELOS; O. OBADINA; L. SANNI and M. E. PINTADO. 2019. Safety of Yam-Derived (*Dioscorea rotundata*) Foodstuffs-Chips, Flakes and Flour: Effect of Processing and Post-Processing Conditions. *Foods*, 8(12): 2-19.
- SUÁREZ, Z.; A. RONDÓN; V. TELLECHEA; R. SOLÓRZANO y R. NAVAS. 1992. Asociación de hongos del suelo con nematodos fitoparásitos en aguacatero. *Agronomía Tropical*, 42 (5-6): 321-328.