

Patogenicidad del nematodo agallador *Meloidogyne enterolobii*, en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en macetas

Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii*, on sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) in pots

R. Martínez D., R. Crozzoli y Y. Aguirre

Facultad de Agronomía, Instituto de Zoología Arícola, Universidad Central de Venezuela, Laboratorio de Nematología Agrícola, Apdo. 4579, Maracay, estado Aragua, Venezuela.

Resumen

Se estudió la relación entre una serie geométrica de doce poblaciones iniciales (P_i) de *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback (0-256 huevos (hv) y juveniles de segundo estadio (J2)/cm³ de suelo) y las variables peso aéreo fresco (PAF) y seco (PAS) de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) var basilicum (blanco) y var purpurascens (morada) en macetas de 400 cm³ de capacidad. Sesenta días después de la inoculación se determinó el PAF y el PAS de las plantas y las poblaciones finales del nematodo. Los valores obtenidos se ajustaron a la ecuación de Seinhorst, $y=m+(1-m)z^{P_i-T}$. En la var basilicum el límite de tolerancia (T) para PAF y PAS fue de 0,8 y 0,7 hv+J2/cm³ de suelo, respectivamente, el rendimiento mínimo relativo (m) fue de 0,48 y 0,36 a $P_i \geq 128$ y 64 hv+J2/cm³ de suelo, respectivamente, la máxima tasa de reproducción del nematodo fue de 5,5 a $P_i = 0,25$ hv+J2/cm³ de suelo y la mayor densidad poblacional final fue de 48,3 hv+J2/cm³ de suelo a $P_i = 64$ hv+J2/cm³ de suelo. En la var purpurascens el valor de T para PAF y PAS fue de 0,2 hv+J2/cm³ de suelo en ambos casos, el valor de m fue de 0,82 y 0,63 a $P_i \geq 64$ y 32 hv+J2/cm³ de suelo, respectivamente, la máxima tasa de reproducción del nematodo fue de 9,16 a $P_i = 0,25$ hv+J2/cm³ de suelo y la mayor densidad poblacional final fue de 156,12 hv+J2/cm³ de suelo a $P_i = 128$ hv+J2/cm³ de suelo.

Palabras clave: albahaca, *Meloidogyne enterolobii*, nematodo agallador, patogenicidad, var basilicum, var purpurascens.

Abstract

The relationship between a geometric series of twelve initial populations (P_i) of *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback (0-256 eggs and second stage juveniles (J2)/cm³ soil) and fresh and dry top weight of the plants of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) var basilicum (white) and var purpurascens (purple) was investigated in 400 cm³ pots. Sixty days after inoculation fresh and dry top weight of the plants of both varieties and final nematode populations were recorded. The Seinhorst model $y=m+(1-m)z^{P_i-T}$ gave an adequate fit to the relationship between average fresh and dry top weight of the plants of both varieties and nematode population density. Tolerance limits (T) of var basilicum to the nematode for fresh and dry top weight were 0.7 and 0.8 eggs+J2/cm³ soil and the minimum relative yield (m) were 0.36 and 0.48 eggs + J2/cm³ soil at $P_i \geq 64$ and 128 eggs+J2/cm³ soil, respectively. The maximum nematode reproduction rate was 5.5 at $P_i = 0.25$ eggs+J2/cm³ soil and the largest final population density (P_f) was 48.3 eggs+J2/cm³ soil at $P_i = 64$ eggs+J2/cm³ soil. T of var purpurascens for fresh and dry top weight was 0.2 eggs+J2/cm³ soil in both cases and m were 0.82 and 0.63 at $P_i \geq 64$ and 32 eggs+J2/cm³ soil, respectively. The maximum nematode reproduction rate was 9.16 at $P_i = 0.25$ eggs+J2/cm³ soil and the largest population final density (P_f) was 156.12 eggs+J2/cm³ soil at $P_i = 128$ h.v.+J2/cm³ soil.

Key words: basil, *Meloidogyne enterolobii*, root-knot nematode, pathogenicity, var basilicum, var purpurascens.

Introducción

La albahaca, *Ocimum basilicum* L., es una hierba anual, cultivada como perenne en climas tropicales, se utiliza en forma fresca y seca, además, es usada como aromatizante en la elaboración de fragancias y en la medicina. En Venezuela, este cultivo adquiere cada vez más importancia debido a la gran diversidad de usos, en especial de sus hojas (Acosta *et al.*, 2003; Chirinos *et al.*, 2009).

La planta es afectada por varias plagas y, dentro de estas, los nemátodos tienen gran importancia. Sin embargo, mundialmente, la información nematológica en el cultivo de la albahaca es escasa. Entre las especies de nemátodos que afectan a la albahaca, y

Introduction

Basil, *Ocimum basilicum* L., it is an annual herb and it is cropped as a perennial in tropical weather, it is used fresh or dry, additionally, it is used as a flavoring in the elaboration of fragrances and medicines. In Venezuela, this crop gets more important due to the great diversity of its uses, specially its leaves (Acosta *et al.*, 2003; Chirinos *et al.*, 2009).

The plant is affected by different pests, among these, the nematodes are really important. However, worldwide the information of nematodes in the basil crop is limited. Among the nematodes species that affect basil and reduce significantly the yield are *Belonolaimus longicaudatus* Rau,

que reducen significativamente el rendimiento, se señalan a *Belonolaimus longicaudatus* Rau, *Pratylenchus scribneri* Steiner, *Paratrichodorus minor* (Colbran) Siddiqi and *Meloidogyne* spp. (Rhoades, 1988). Igualmente, Lamberti y Garibaldi (1977), señalaron graves daños causados por *Aphelenchoides ritzemabosi* (Schwartz) Steiner, que es una especie epigea, en las hojas de albahaca, las cuales no podían ser comercializadas.

Las más importantes por su patogenicidad son especies del género *Meloidogyne*, principalmente *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood y *Meloidogyne arenaria* Neal, ya que afectan negativamente el rendimiento del cultivo de la albahaca, tanto para su uso fresco como industrializado y mermando la cantidad y calidad de aceites esenciales provenientes de su destilación (Hasseb y Pandey, 1987; Vovlas *et al.*, 2008). En Venezuela, existen señalamientos de ataques de *Meloidogyne* spp., sobre todo en pequeños huertos (Crozzioli, 2010).

En el país, se han registrado ocho especies de nemátodos agalladores, siendo *M. incognita* la de mayor distribución; sin embargo, *M. enterolobii* Yang & Eisenback, identificada en los estados Aragua, Lara y Zulia (Crozzioli, 2002; Lugo *et al.*, 2005; Molinari *et al.*, 2005; Perichi y Crozzioli, 2010), es considerada una plaga importante en países tropicales y subtropicales. Su diseminación ha ocurrido rápidamente debido a factores antropogénicos y, la mayor preocupación con esta especie, radica en su capacidad de parasitar y reproducirse en plantas con resistencia a *Meloidogyne* spp. (Lugo *et al.*, 2005).

Pratylenchus scribneri Steiner, *Paratrichodorus minor* (Colbran) Siddiqi and *Meloidogyne* spp. (Rhoades, 1988). Likewise, Lamberti and Garibaldi (1977), mentioned serious damages caused by *Aphelenchoides ritzemabosi* (Schwartz) Steiner, which is an epigeous species in basil leaves, which could not be commercialized.

The most important by their pathogenicity are the genre species *Meloidogyne*, mainly *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood and *Meloidogyne arenaria* Neal, since affect negatively the crop yield of basil, for both is fresh and industrialized use, reducing the quantity and quality of essential oils coming from their distillation (Hasseb and Pandey, 1987; Vovlas *et al.*, 2008). In Venezuela, there are attacks of *Meloidogyne* spp., especially in small orchards (Crozzioli, 2010).

In the country eight species of root-knot nematode species have been registered, being *M. incognita* the one with more distribution; however, *M. enterolobii* Yang & Eisenback, identified in Aragua, Lara and Zulia (Crozzioli, 2002; Lugo *et al.*, 2005; Molinari *et al.*, 2005; Perichi and Crozzioli, 2010), it is considered an important pest in tropical and sub-tropical countries. Its dissemination has occurred fast due to antropogenic factors and the biggest concern with this specie is that it is able to parasite and to reproduce in plants with resistance to *Meloidogyne* spp. (Lugo *et al.*, 2005).

M. enterolobii is polyphagous specie, without any complete rank information of the hosts. It has been

M. enterolobii es una especie polífaga, desconociéndose el rango de hospedantes completo. Ha sido señalada en cultivos económicamente importantes tales como: pimentón, sandía, café, soja, batata, tomate, tabaco, caraota, guayaba, berenjena, plantas ornamentales, *Tibouchina*, cactus, *Ficus*, *Syngonium*, rosa y varias plantas silvestres. Sin embargo, son pocas las pruebas de patogenicidad realizadas (Rodríguez *et al.*, 2007; Perichi y Crozzoli, 2010).

Debido a los graves daños que causa en las plantas afectadas y a la rápida diseminación, *M. enterolobii* adquiere, para Venezuela, una importancia cada vez mayor; es imprescindible, por lo tanto, determinar su patogenicidad en diferentes cultivos y conocer cuál es la reducción de rendimiento que es capaz de causar, para poder implementar un manejo adecuado (Crozzoli, 2010).

Por lo anterior, en el presente trabajo, nos planteamos: I) evaluar el efecto de diferentes poblaciones iniciales de *M. enterolobii* sobre el peso aéreo fresco y seco de albahaca var basilicum y var purpurascens, en condiciones de umbráculo; II) estimar el límite de tolerancia y las perdidas máximas en las variables evaluadas y III) medir la capacidad reproductiva de *M. enterolobii* en ambas variedades de albahaca.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó bajo condiciones de umbráculo (temperatura promedio de 26°C) en Maracay, estado Aragua, Venezuela.

El inóculo se obtuvo de una población pura de *M. enterolobii* mante-

mented in economically important crops, such as: pepper, watermelon, coffee, soy, sweet potato, tomato, tobacco, bean, guava, eggplant, ornamental plants, *Tibouchina*, cactus, *Ficus*, *Syngonium*, rose and different wild plants. However, few pathogenicity tests have been carried out (Rodríguez *et al.*, 2007; Perichi and Crozzoli, 2010).

Due to the big damages caused in the affected plants, and to the fast dissemination, *M. enterolobii* acquires in Venezuela a lot of importance; therefore, it is mandatory to determine its pathogenicity in different crops and to know which is the yield reduction capable of causing, to implement an adequate handling (Crozzoli, 2010).

Because of the latter, the aim of this research is: I) to evaluate the effect of different initial populations of *M. enterolobii* on the fresh and dry aerial weight of basil var basilicum and var purpurascens, under greenhouse conditions; II) to estimate the tolerance limit and the maximum losses of the evaluated variables and III) to measure the reproductive capacity of *M. enterolobii* in both varieties of basil.

Materials and methods

The essay was done under greenhouse conditions (average temperature of 26°C) in Maracay, Aragua state, Venezuela.

The inoculum was obtained from a pure population of *M. enterolobii* kept in sweet potato plants (*Ipomoea batata* (L.) Lam.) and coming from *Malpighia glabra* L., cropped at the Agronomy Faculty of Universidad Cen-

nida en plantas de batata (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) y proveniente de semeruco (*Malpighia glabra* L.) cultivado en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela en Maracay. Como material vegetal se utilizó albahaca var basilicum y var purpurascens (Chirinos *et al.*, 2009).

Las raíces infestadas de las plantas de batata se lavaron, se cortaron en secciones de aprox. 0,5 cm y se trituraron en licuadora por 1 min en una solución de hipoclorito de sodio (0,5%) con la finalidad de extraer la mayor cantidad de huevos (hv) y juveniles de segundo estadio (J2) de las masas de huevos contenidas en las agallas. Lo obtenido se pasó a través de los tamices de 60 mallas (250 µm) y 100 mallas (150 µm) para eliminar los residuos vegetales grandes y se recogieron los hv y los J2 en un tamiz de 500 mallas (28 µm). Se procedió a lavar cuidadosamente con agua corriente con el fin de eliminar al hipoclorito de sodio y se colocaron los hv y los J2 en un vaso de precipitado con agua limpia para la inoculación; a esto se le consideró solución madre (Hussey y Barker, 1973).

Para la obtención de las plantas, se sembraron las semillas (4-5) de cada variedad de albahaca en macetas plásticas individuales conteniendo 400 cm³ de arena esterilizada a una temperatura de 180°C en estufa por 48 h; al germinar se dejó una sola planta por envase. Quince días después de la germinación se procedió a inocular las plantas con el nematodo.

A partir de la solución madre, y agregando alícuotas adecuadas al sustrato de cada envase, se inocularon las plantas de ambas variedades con

tral de Venezuela in Maracay. As a vegetal material, basil var basilicum and var purpurascens was used (Chirinos *et al.*, 2009).

The infected roots of sweet potato plants were washed and cut into sections of approximately 0.5 cm, and cut in a blended for 1 min, y a sodium hypochlorite solution (0.5%), with the aim of extracting the highest quantity of eggs (hv) and juvenile under second phase (J2) of the egg masses that were in the gills. The material obtained was sift in 60 meshes (250 µm) and 100 meshes (150 µm) to eliminate the big vegetal residues, and the hv and j2 were selected in a sieve with 500 meshes (28 µm). Later on, these were washed carefully with regular water with the aim of eliminating the sodium hypochlorite, and hv and j2 were added to a precipitated glass with clean water for the inoculation, considering the mother solution (Hussey and Barker, 1973).

For obtaining the plants, seeds (4-5) of each basil variety were sowed in individual plastic bags with 400 cm³ of sterile sand at a temperature of 180°C in a stove for 48h, and when germinated only one plant was left per jar. Fifteen days after the germination, the plants inoculated with the nematode.

After the mother solution and adding adequate aliquots to the substrate of each jar, the plants of both varieties inoculated with the same inoculum levels: 0; 0.25; 0.5; 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128; 256 hv + J2/cm³ of the soil. For the inoculation, 4 small holes were opened close to the stem of the plants, and the solution with the nematodes was added and covered.

los siguientes niveles de inóculo: 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128; 256 $\text{hv} + \text{J2}/\text{cm}^3$ de suelo. Para la inoculación se abrieron 4 pequeños orificios cerca de la base del tallo de las plantas, se vertió la solución con los nematodos y posteriormente se taparon. Cada nivel de inóculo fue replicado 6 veces. Las plantas se colocaron de forma completamente al azar sobre mesas y se regaron periódicamente con la finalidad de mantener una humedad adecuada para el crecimiento de las mismas y, cada 15 días, se realizaron aplicaciones del fertilizante foliar Nitrofoska al suelo (2 mL/L de agua). Sesenta días más tarde se determinó el peso aéreo fresco (PAF) y seco (PAS) y se cuantificó la población del nematodo, tanto en el suelo como en las raíces de cada planta de ambas variedades de albahaca. Para la determinación del PAS, las plantas se colocaron dentro de bolsas de papel en estufa a 80°C, dejándose hasta alcanzar peso constante.

Para estudiar el comportamiento de las plantas de albahaca con relación a los diferentes niveles de inóculo del nematodo, los datos de PAF, PAS y las poblaciones iniciales fueron analizados utilizando la ecuación arbitraria de Seinhorst (Seinhorst, 1965; 1986): $y=m+(1-m)z^{P_i-T}$ (A) donde y es la producción relativa ($y = 1$ para $P_i < T$); m es la producción mínima relativa y corresponde al valor de y cuando las poblaciones del nematodo son muy elevadas; P_i es la población del nematodo a la siembra expresada en huevos o ejemplares/ cm^3 de suelo; T es el límite de tolerancia o población máxima que soporta una planta sin que su rendimiento o variable

Each inoculum level was replicated 6 times. The plants were put at random on tables and were irrigated periodically with the aim of keeping an adequate humidity for their growing, and every 15 days foliar fertilizer Nitrofoska was applied to the soil (2 mL/L of water). Sixty days later, the fresh aerial weight (FAW) and dry aerial weight (DAW) were determined, and the nematode population was quantified in both the soil and the roots of each plant of both basil varieties. For determining DAW, the plants were put in paper bags in a stove at 80°C, leaving there until obtaining constant weight.

To study the behavior of basil plants in relation to the different inoculum levels of the nematode, the data of FAW, DAW and the initial population were analyzed using Seinhorst arbitrary equation (Seinhorst, 1965; 1986): $y=m+(1-m)z^{P_i-T}$ (A) where y is the relative production ($y = 1$ for $P_i < T$); m is the minimum relative production and corresponds to the value y when the nematode populations are high; P_i is the nematode population to the sow expressed in eggs or exemplars/ cm^3 of the soil; T is the tolerance limit or maximum population that a plant stands without its yield or evaluated agronomical variable be reduced; z is a constant lower to 1, generally z^T is almost equal to 1.05.

To determine the final populations of the nematode, 100 cm^3 of the soil coming from individual jars were extracted, which were processed using the modified Cobb method, and its cleaning was done with the modified cotton filter (s'Jacob and van Bezooijen,

agronómica evaluada sean reducidas; z es una constante menor a 1, generalmente z^T es medianamente igual a 1,05.

Para determinar las poblaciones finales del nematodo, se extrajeron 100 cm³ de suelo provenientes de los envases individuales, los cuales fueron procesados por el método de Cobb modificado y su limpieza se realizó con el filtro de algodón modificado (s'Jacob y van Bezooijen, 1971; Crozzoli y Rivas, 1987). La extracción de los huevos y J2 del nematodo presentes en las raíces se realizó de la misma forma descrita para la preparación del inóculo, triturando el total de las raíces de cada planta. Para comparar la variación poblacional del nematodo, los valores de las poblaciones que se inocularon a la siembra (P_i) y los correspondientes que se determinaron al final del ensayo (P_f) se compararon, y se calculó la tasa de multiplicación (P_f/P_i). Se estimó también el índice de agallamiento según una escala de 1 a 5, donde 1=0% de raíces afectadas y 5>70% de raíces afectadas (Taylor y Sasser, 1983).

Para comparar la variación poblacional del nematodo, los valores de las poblaciones que se inocularon a la siembra (P_i), y los correspondientes que se determinaron al final del ensayo (P_f), fueron introducidos en la segunda ecuación de Seinhorst (Seinhorst, 1965; 1970): $P_f = axy(1-q^{P_i}) / -e \log q + (1-x)P_i + sx(1-y)P_i$ (B) donde a es la tasa de reproducción máxima; x es la proporción de nematodos que pueden afectar a la planta (estado infectivo y huevos que pueden eclosionar y es, como máximo, igual a uno); y es la cantidad relativa de alimento disponible para los nematodos al nivel

1971; Crozzoli and Rivas, 1987). The eggs extraction and J2 of the nematode present in the roots was done as described for the preparation of the inoculum, mashing the total of the roots of each plant. To compare the population variation of the nematode, the values of the populations that inoculated to the sow (P_i) and those that determined at the end of the essay (P_f) compared in between, and the multiplication rate was calculated (P_f/P_i). Also, the root-knot index was estimated, according to a 1 to 5 scale, where 1=0% of affected roots and 5>70% of affected roots (Taylor and Sasser, 1983).

To compare the population variation of the nematode, the population values that inoculated to the sow (P_i), and the corresponded that were determined at the end of the essay (P_f), were introduced in the second equation of Seinhorst (Seinhorst, 1965; 1970): $P_f = axy(1-q^{P_i}) / -e \log q + (1-x)P_i + sx(1-y)P_i$ (B) where a is the maximum reproduction rate; x is the nematode proportion that might affect the plant (infective phase and eggs that might hatch and it is, as maximum, equal to one); y es the relative available food quantity for the nematodes at the population level P_i (generally equal to y of the first equation), s is the J2 proportion and non-influenced eggs by the plant, which behaves as in absence of the host. In this equation $axy(1-q^{P_i}) / -e \log q$ represents the quantity of nematodes coming from the reproduction, meanwhile, the quantity $(1-x) P_i + sx (1-y) P_i$ is a proportion of inoculated nematodes to the sow (P_i) that have not been affected by the host and that might remain in the soil until

poblacional P_i (generalmente es igual a y de la primera ecuación); s es la proporción de J_2 y huevos no influenciados por la planta, que se comportan como en ausencia de hospedante. En esta ecuación $axy(1-q^{P_i}) \cdot \text{elog}q$ representa la cantidad de nematodos provenientes de verdadera reproducción, mientras que la cantidad $(1-x)P_i + sx(1-y)P_i$ es una proporción de los nematodos inoculados a la siembra (P_i) que no han sido afectados por el hospedante y que pueden permanecer en el suelo hasta el final del ciclo del cultivo o al momento de la evaluación.

Resultados y discusión

La acción del nematodo afectó negativamente las variables agronómicas medidas en las plantas de albahaca de ambas variedades. La sintomatología asociada con el ataque del nematodo en el cultivo está relacionada con un decaimiento generalizado de la planta, amarillamiento del follaje, reducción del sistema radical y presencia de agallas en las raíces, lo cual también fue señalado por Crozzoli *et al.* (2012) en plantas de lulo infestadas por *M. enterolobii* y común en *Ocimum* spp. atacadas por especies del género *Meloidogyne* (Hasseb *et al.*, 1998; Vovlas *et al.*, 2008).

La interpolación de los datos de peso aéreo fresco y aéreo seco con la primera ecuación de Seinhorst (A), demostró claramente que están bien representados por dicha ecuación, lo cual permite determinar el límite de tolerancia (T) al nematodo y la pérdida máxima de la variable medida (m) y permite establecer, de manera adecuada, la

the end of the crop cycle or at the moment of the evaluation.

Results and discussion

The action of the nematode affected negatively the agronomic variables measured in both varieties of basil plants. He symptoms regarding to the attack of the nematode in the crop are related to a generalized decay of the plant, yellowish of the foliage, reduction of the radical system and presence of root-knots in the roots, which was also mentioned by Crozzoli *et al.* (2012) in lulo plants infected by *enterolobii* and common in *Ocimum* spp. attacked by genre species of *Meloidogyne* (Hasseb *et al.*, 1998; Vovlas *et al.*, 2008).

The interpolation of the fresh aerial weight data and dry aerial data to the first equation of Seinhorst (A), clearly showed that the data is well represented by such equation, which allows determining the tolerance limit (T) towards the nematode and the maximum lost of the measure variable (m) and allows establishing adequately the relation among the initial populations of the nematode in the soil and the agronomic parameter considered.

The tolerance limit (T) for the FAW of basil plants var *basilicum* has been estimated in $0.8 \text{ hv} + J_2/\text{cm}^3$ of the soil, meanwhile, the minimum relative yield (m) was 0.48 to $P_i \geq 128 \text{ hv} + J_2/\text{cm}^3$ of the soil; for var *purpureascens*, the T value has been estimated in $0.2 \text{ eggs} + J_2/\text{cm}^3$ of the soil, meanwhile the value of m was of 0.82 to $P_i \geq 64 \text{ hv} + J_2/\text{cm}^3$ of the soil. The latter indicates that reductions of FAW of 52 and 18% can

relación entre las poblaciones iniciales del nematodo en el suelo y el parámetro agronómico considerado.

El límite de tolerancia (T) para el PAF de las plantas de albahaca var basilicum ha sido estimado en 0,8 hv+J2/cm³ de suelo, mientras que el rendimiento mínimo relativo (m) fue de 0,48 a $Pi \geq 128$ hv+J2/cm³ de suelo; para la var purpureascens, el valor de T ha sido estimado en 0,2 huevos+J2/cm³ de suelo, mientras que el valor de m fue de 0,82 a $Pi \geq 64$ hv+J2/cm³ de suelo. Lo anterior indica que se pueden esperar reducciones de PAF de hasta 52 y 18%, para las vars basilicum y purpureascens, a partir de poblaciones iniciales de *M. enterolobii* de 128 y 64 hv+J2/cm³ de suelo, respectivamente (figura 1).

En cuanto al PAS, el límite de tolerancia (T), para la var basilicum ha sido estimado en 0,7 hv+J2/cm³ de suelo, mientras que el rendimiento mínimo relativo (m) fue de 0,36 a $Pi \geq 128$ hv+J2/cm³ de suelo; para la var purpureascens, el valor de T ha sido estimado en 0,2 hv+J2/cm³ de suelo, mientras que el valor de m fue de 0,63 a $Pi \geq 32$ hv+J2/cm³ de suelo. Lo anterior indica que se pueden esperar reducciones de PAS de hasta 64 y 37%, para las vars basilicum y purpureascens, a partir de poblaciones iniciales de *M. enterolobii* de 64 y 32 hv+J2/cm³ de suelo, respectivamente (figura 2).

Al comparar los resultados obtenidos en ambas variedades de albahaca, podemos observar que el valor de T es menor en la var purpureascens con respecto a la var basilicum para ambas variables agronómicas y, las reducciones de PAF y PAS hasta una Pi

be expected for the var vars basilicum and purpureascens, after the initial populations of *M. enterolobii* of 128 and 64 hv+J2/cm³ of the soil, respectively (figure 1).

Regarding DAW, the tolerance limit (T) for var basilicum has been estimated in 0.7 hv+J2/cm³ of the soil, meanwhile, the minimum relative yield (m) was 0.36 to $Pi \geq 128$ hv+J2/cm³ of the soil; for the var purpureascens, the value of T has been estimated in 0.2 hv+J2/cm³ of the soil meanwhile, for m was of 0.63 a $Pi \geq 32$ hv+J2/cm³ of the soil. The latter indicates that there might reductions of FAW of even 64 and 37% for the vars basilicum and purpureascens, after the initial populations of *M. enterolobii* of 64 and 32 hv+J2/cm³ of the soil, respectively (figure 2).

When comparing the results obtained in different varieties of basil, it can be observed that the T value is lower in the var purpureascens regarding the var basilicum for both agronomic variables, and the FAW and DAW reductions until a Pi of approximately 8 and 16 hv+J2/cm³ of the soil, respectively, slightly superior in the var purpureascens. However, the variables FAW and DAW to $Pi > 8$ and 16 hv+J2/cm³ of the soil, respectively, are more affected in the var basilicum regarding the var purpureascens reaching a maximum reduction of 52 and 64% vs 18 and 37% for FAW and DAW with $Pi \geq 64$ and 128 hv+J2/cm³ of the soil in the vars basilicum and purpureascens, respectively (figures 1 and 2). It is evident how the var purpureascens stands much better the elevate populations of *M. enterolobii* than the var basilicum.

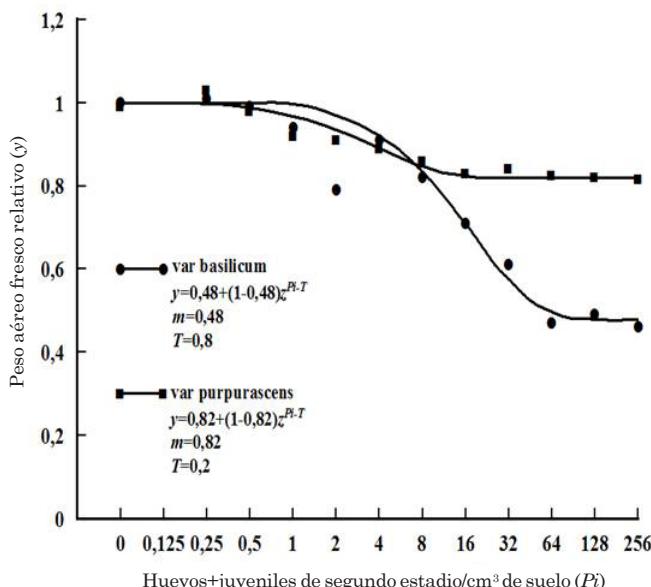


Figura 1. Relación entre la población inicial (P_i) de *Meloidogyne enterolobii* y el peso aéreo fresco relativo (y) de las dos variedades de albahaca en maceta.

Figure 1. Relation between the initial population (P_i) of *Meloidogyne enterolobii* and the relative aerial fresh weight (y) of both basil varieties in pot.

de aprox. 8 y 16 $\text{hv+J2}/\text{cm}^3$ de suelo, respectivamente, son ligeramente superiores en la var purpureascens. Sin embargo, las variables PAF y PAS a $P_i > 8$ y 16 $\text{hv+J2}/\text{cm}^3$ de suelo, respectivamente, son más afectadas en la var basilicum respecto a la var purpurascens alcanzando un máximo de reducción de 52 y 64% vs 18 y 37% para PAF y PAS con $P_i \geq 64$ y 128 $\text{hv+J2}/\text{cm}^3$ de suelo en las vars basilicum y purpurascens, respectivamente (figuras 1 y 2). Es evidente como la var purpurascens soporta mejor poblaciones elevadas de *M. enterolobii* que la var basilicum.

Según la bibliografía disponible, este parece ser el primer trabajo que

According to the bibliography available, this seems to be the same research that relates initial growing populations of *M. enterolobii* with agronomic variables in basil. When comparing the results obtained in both variables of basil to the results obtained by Voylas *et al.* (2008), in pathogenicity tests with *M. arenaria* in basil "Genovesa", the authors observed that the tolerance level (T) for FAW is 0.15 $\text{hv+J2}/\text{cm}^3$ of the soil, meanwhile, the minimum relative yield (m) is 0.39 after $P_i \geq 64$ $\text{hv+J2}/\text{cm}^3$ of the soil. With this information, it is understood that basil "Genoveva" has a tolerance limit lower to *M. arenaria*, regarding the tolerance limit in the var

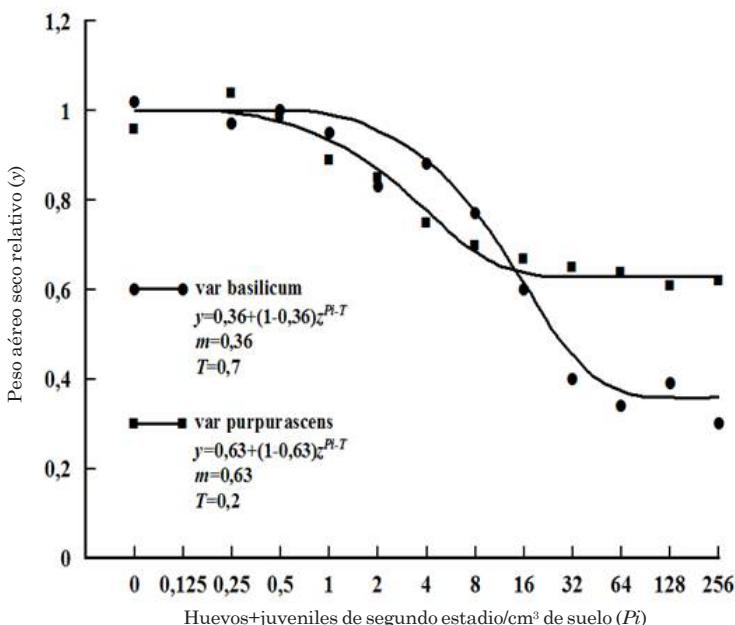


Figura 2. Relación entre la población inicial (*Pi*) de *Meloidogyne enterolobii* y el peso aéreo seco relativo (y) de las dos variedades de albahaca en maceta.

Figure 2. Relation between the initial population (*Pi*) of *Meloidogyne enterolobii* and the relative dry aerial weight (y) of both basil varieties in pot.

relaciona poblaciones iniciales crecientes de *M. enterolobii* con variables agronómicas en albahaca. Al comparar los resultados obtenidos en las dos variedades de albahaca con los resultados obtenidos por Vovlas *et al.* (2008), en pruebas de patogenicidad con *M. arenaria* en albahaca “Genovesa”, observamos que el límite de tolerancia (*T*), para PAF es de 0,15 hv+J2/cm³ de suelo, mientras que el rendimiento mínimo relativo (*m*) es de 0,39 a partir de *Pi*≥64 hv+J2/cm³ de suelo. De lo anterior se desprende que la albahaca “Genovesa” posee un límite de tolerancia menor a *M. arenaria*, con respecto

basiculum to *M. enterolobii*, which is 0.8 hv+J2/cm³ of the soil, and similar to var. *purpurascens* which is 0.2 hv+J2/cm³ of the soil. Likewise, the minimum relative yield of the FAW variable is also higher (*m* of 0.48 and 0.82 in the vars *basilicum* and *purpurascens*, respectively), to the same initial population (*Pi*≥64 hv+J2/cm³ of the soil).

When observing the results obtained by Hasseb *et al.* (1998) in the crop of *Ocimum kilimandscharicum* Guerke affected by *M. incognita*, are seen observations in the variables FAW and DAW of even 68%, at an

al límite de tolerancia en la var basilicum a *M. enterolobii*, que es de 0,8 hv+J2/cm³ de suelo, y similar al de la var purpurascens que es de 0,2 hv+J2/cm³ de suelo. Asimismo, el rendimiento mínimo relativo de la variable PAF también es mayor (*m* de 0,48 y 0,82 en las vars basilicum y purpurascens, respectivamente), a una misma población inicial ($P_i \geq 64$ hv+J2/cm³ de suelo).

Al observar los resultados obtenidos por Hasseb *et al.* (1998) en el cultivo de *Ocimum kilimandscharicum* Guerke afectado por *M. incognita*, apreciamos reducciones en las variables PAF y PAS de hasta 68%, a un nivel de inóculo de 16000 J2/7,5 kg de suelo, valor comparable con el nivel de inóculo de 2 hv+J2/cm³ de suelo de nuestra investigación. Al parecer la población de *M. incognita* utilizada por esos autores en sus estudios es extremadamente patogénica en *O. kilimandscharicum*; a ese mismo nivel de inóculo, *M. enterolobii* reduce en aproximadamente 10% el PAF y PAS de ambas variedades.

En resultados obtenidos por Crozzoli *et al.* (2012) en un ensayo con el cultivo de lulo infestado por *M. enterolobii* (el único de este tipo con esta especie de nematodo) el límite de tolerancia (*T*) para PAF y PAS de plantas en crecimiento fue estimado en 2 hv+J2/cm³ de suelo, mientras que el rendimiento mínimo relativo (*m*) fue de 0,6 y 0,25, respectivamente, a partir de $P_i \geq 256$ hv+J2/cm³ de suelo.

Al compararse los resultados obtenidos en albahaca con *M. enterolobii*, con los obtenidos bajo condiciones similares con otras especies de nematodos agalladores en Venezuela

inoculum level of 16000 J2/7.5 kg of the soil, value compared to the inoculum level of 2 hv+J2/cm³ of the soil in the current research. Apparently, the population of *M. incognita* used by these authors in their researches is extremely pathogenic in *O. kilimandscharicum*; likewise, at the same level of the inoculum, *M. enterolobii* reduces approximately 10% the FAW and DAW in both varieties.

In the results obtained by Crozzoli *et al.* (2012) in a essay with lulo crop infected by *M. enterolobii* (the only of this type with this nematode species), the tolerance limit (*T*) for FAW and DAW of growing plants was estimated in 2 hv+J2/cm³ of the soil, meanwhile, the minimum relative yield (*m*) was of 0.6 and 0.25, respectively, after $P_i \geq 256$ hv+J2/cm³ of the soil.

When comparing the results obtained in basil with *M. enterolobii* with the results under similar conditions to other root-knot nematode species in Venezuela, it is observed that for FAW and DAW, the tolerance limit in parsley "Double Courled" at *M. incognita* is of 0.17 and 0.025 hv+J2/cm³ of the soil, respectively, with maximum losses of 50% and 66% (Aguirre *et al.*, 2003). In different varieties of lettuce, *T* value with the same nematode species for FAW and DAW oscillated from 0.25 to 0.8 and from 0.25 and 0.5 hv+J2/cm³ of the soil, respectively, with FAW losses from 20 to 70% after the initial populations of 32-128 hv+J2/cm³ of the soil (Asuaje *et al.*, 2004). Therefore, it can be said that for basil var basilicum, the estimated *T* values are slightly higher

la, observamos que para PAF y PAS el límite de tolerancia en perejil “Double Courled” a *M. incognita*, es de 0,17 y 0,025 hv+J2/cm³ de suelo, respectivamente, con pérdidas máximas de 50% y 66% (Aguirre *et al.*, 2003). En diferentes variedades de lechuga, el valor de *T*, con la misma especie de nematodo, para PAF y PAS, osciló entre 0,25 y 0,8 y entre 0,25 y 0,5 hv+J2/cm³ de suelo, respectivamente, con pérdidas de PAF de entre 20 y 70% a partir de poblaciones iniciales de 32-128 hv+J2/cm³ de suelo (Asuaje *et al.*, 2004). Podemos señalar, por lo tanto, que para la albahaca var basilicum los valores de *T* estimados son ligeramente superiores a los obtenidos en la mayoría de estos ensayos con *M. incognita*, mientras que para el var purpurascens los valores de *T* son similares.

Las diferencias observadas en cuanto al límite de tolerancia de la albahaca a *M. enterolobii*, además de la especie de nematodo y planta, pueden deberse al tipo de inóculo utilizado (Greco y Di Vito, 2009). En nuestra investigación como inóculo fueron utilizados huevos, los cuales fueron obtenidos disolviendo las masas en hipoclorito de sodio (Hussey y Barker, 1973) debido a que el uso de masas de huevos enteras no era posible ya que, una única masa de huevos podía contener más huevos que los necesarios para inocular una maceta con los niveles más bajos de inóculo utilizados. Di Vito *et al.* (1985) estimaron un límite de tolerancia en pimentón a *M. incognita* de 2,2 hv+J2/cm³ de suelo utilizando huevos, como en este experimento, y de 0,16 hv+J2/cm³ de suelo, utilizando raíces con masas de hue-

than the ones obtained in many of the essays with *M. incognita*, meanwhile, for var purpurascens, the *T* values are similar.

The differences observed regarding the tolerance limit of basil to *M. enterolobii*, besides the nematode species and the plant, might be due to the type of the inoculum used (Greco and Di Vito, 2009). In the current research, eggs were used as inoculum, which were obtained dissolving the sodium hypochlorite masses (Hussey and Barker, 1973), since the use of mass with entire eggs was not possible, because an unique mass of eggs might have had more eggs than the necessary to inoculate a pot with the lowest levels of the inoculum used. Di Vito *et al.* (1985) estimated a tolerance limit in pepper at *M. incognita* of 2.2 hv+J2/cm³ of the soil using eggs as in this experiment, and 0.16 hv+J2/cm³ of the soil, using roots with masses of complete eggs. Also, Di Vito *et al.* (1986), showed that the viability of eggs in the egg mass is superior (58%) than the one of eggs diluted in sodium hypochlorite (12%). Therefore, in field conditions the tolerance of basil might be inferior than the one estimated in the current research. However, to obtain useful information from the practical point of view and to foresight accurately the production losses of basil in the field, according to the population of the nematode, it is appropriate to carry out a similar experiment under micro-plot conditions. The damage of the roots for forming the root-knots was remarkable and similar among both varieties of basil, evidencing root-knotting indexes from 1.3 to 3.5

vos completas. Además, Di Vito *et al.* (1986), demostraron que la viabilidad de los huevos contenidos en las masas de huevos es superior (58%) a la de los huevos disueltos con hipoclorito de sodio (12%). Por lo tanto, en condiciones de campo el límite de tolerancia de la albahaca podría ser inferior al estimado en este estudio. Sin embargo, para obtener informaciones útiles desde el punto de vista práctico y prever con exactitud las pérdidas de producción de la albahaca en campo, según la población del nematodo, sería oportuno efectuar un experimento similar bajo condiciones de micro parcelas.

El daño en las raíces por la formación de agallas fue notable y similar entre ambas variedades de albahaca, apreciándose índices de agallamiento que oscilaron entre 1,3 y 3,5 según la escala 1-5 de Taylor y Sasser (1983) con la población menor y mayor del nematodo, respectivamente (cuadro 1).

La relación entre las poblaciones iniciales (P_i) y finales (P_f) de *M. enterolobii* está adecuadamente representada por la segunda ecuación de Seinhorst (B) y demostró que la tasa máxima de multiplicación en la var basilicum fue de 5,5, alcanzada por el nematodo a $P_i = 0,25 \text{ hv+J2/cm}^3$ de suelo, la menor tasa de multiplicación fue de 0,083 a $P_i = 256 \text{ hv+J2/cm}^3$ de suelo y la mayor población final fue de 48,3 hv+J2/cm^3 de suelo alcanzada a $P_i = 64 \text{ hv+J2/cm}^3$ de suelo. En la var purpurascens la tasa máxima de multiplicación fue de 9,2; alcanzada por el nematodo a $P_i = 0,25 \text{ hv+J2/cm}^3$ de suelo, la menor tasa de multiplicación fue de 0,58 a $P_i = 256 \text{ hv+J2/cm}^3$ de suelo, la mayor población final fue de

according to Taylor and Sasser (1983) with the lowest and highest population of the nematode, respectively (table 1).

The relation among the initial (P_i) and final (P_f) populations of *M. enterolobii* is adequately represented by the second equation of Seinhorst (B) and showed that the maximum multiplication rate in the var basilicum was of 5.5 reached by the nematode $P_i = 0.25 \text{ hv+J2/cm}^3$ of the soil, the lowest multiplication rate was of 0.083 to $P_i = 256 \text{ hv+J2/cm}^3$ of the soil and the highest final population was of 48.3 hv+J2/cm^3 of the soil reached at $P_i = 64 \text{ hv+J2/cm}^3$ of the soil. In the var purpurascens the maximum multiplication rate was of 9.2 reached by the nematode $P_i = 0.25 \text{ hv+J2/cm}^3$ of the soil, the lowest multiplication rate was of 0.58 to $P_i = 256 \text{ hv+J2/cm}^3$ of the soil, the highest final population was of 156.12 hv+J2/cm^3 of the soil reached at $P_i = 128 \text{ hv+J2/cm}^3$ of the soil.

The equilibrium densities located in 35 and 128 hv+J2/cm^3 of the soil for the varieties basilicum and purpurascens, respectively, showing this last to be the best nematode host (table 1 and figure 3). In the only similar research done with this nematode specie, Crozzoli *et al.* (2012) estimated in 350 hv+J2/cm^3 of the soil the equilibrium population in lulo, a lot over the one estimated in both varieties of basil.

Conclusions

The results confirm the harmful effect of *M. enterolobii* in growing basil plants, observing low tolerance levels of FAW and DAW, being the last va-

Cuadro 1. Efecto de la población inicial de *Meloidogyne enterolobii* sobre la población final, tasa de multiplicación e índice de agallamiento, en plantas de albahaca vars basilicum (B) y purpurascaens (P) en maceta.

Table 1. Effect of the initial population of *Meloidogyne enterolobii* on the final population, multiplication rate and root-knot index in basil plants of the vars basilicum (B) and purpurascaens (P) in pots.

Población inicial (hv +J2/cm ³ de suelo)	Población final (hv +J2/cm ³ de suelo)		Tasa de multiplicación (Pf/Pi)		Índice de agallamiento (1-5)	
	B	P	B	P	B	P
0					1	1
0,25	1,4	2,3	5,50	9,20	1,3	1,3
0,5	2,6	2,9	5,25	5,82	1,3	1,3
1	5,2	4,3	5,16	4,33	1,8	2
2	8,3	4,8	4,13	2,39	2,0	2,3
4	20,8	7,9	5,24	1,96	2,3	2,5
8	23,5	19,8	2,94	2,47	2,8	2,8
16	29,0	41,2	1,82	2,57	2,7	3
32	35,5	69,6	1,11	2,17	3,3	3,2
64	48,3	71,6	0,75	1,11	3,2	3,5
128	26,9	156,1	0,21	1,21	3,2	3,5
256	21,3	150,0	0,083	0,58	3,5	3,5

156,12 hv+J2/cm³ de suelo alcanzada a $P_i = 128$ hv+J2/cm³ de suelo. Las densidades de equilibrio se ubicaron en 35 y 128 hv+J2/cm³ de suelo, para las variedades basilicum y purpurascens, respectivamente, demostrando ser, esta última, un mejor hospedante del nematodo (cuadro 1 y figura 3). En el único trabajo similar realizado con esta especie de nematodo, Crozzoli *et al.* (2012) estimaron en 350 hv+J2/cm³ de suelo la población de equilibrio en lulo, muy por encima de la estimada en ambas variedades de albahaca.

variable the most affected. However, to obtain useful information from the practical point of view, and to foresight with accuracy the production losses of basil according to the population of the nematode, it would be important to carry out a similar experiment under field conditions and to use a similar inoculum that could be present. Consequently, it is important to perform nematologic researches in potential areas for establishing basil orchards and the use of plants free of infection by nematodes, as a previous

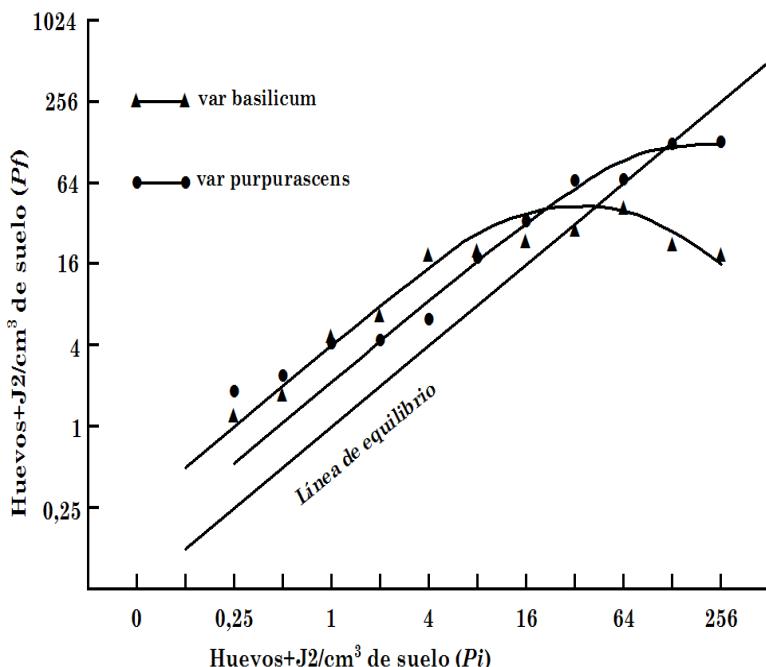


Figura 3. Relación entre las poblaciones iniciales (P_i) y finales (P_f) de *Meloidogyne enterolobii* en plantas de ambas variedades de albahaca en maceta.

Figure 3. Relation among the initial populations (P_i) and final population of *Meloidogyne enterolobii* in both basil varieties in pot.

Conclusiones

Los resultados confirman el efecto dañino de *M. enterolobii* en plantas de albahaca en crecimiento, al observarse límites de tolerancia de PAF y PAS bajos, siendo esta última variable la más afectada. Sin embargo, para obtener informaciones útiles desde el punto de vista práctico y prever con exactitud las pérdidas de producción de albahaca, según la población del nematodo, sería oportuno efectuar un experimento similar bajo condiciones de campo y utilizar un inóculo similar al que esté presente en el mismo. Por consiguiente, es importante realizar estudios nematológicos en áreas potenciales para el establecimiento de huer-
tos de albahaca y el uso de plantas libre de infecciones por nematodos es un requisito previo para asegurar una buena productividad. La var basilicum es menos tolerante a *M. enterolobii* que la var purpurascens a partir de $P_i \geq 8$ y 16 hv + J2/cm³ de suelo para las variables PAF y PAS, respectivamente.

Literatura citada

- Acosta, M., M. González, M. Araque, E. Velazco, N. Khouri, L. Rojas y A. Usubillaga. 2003. Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. var *basilicum*, *O. basilicum* L. var *purpureascens*, *O. gratissimum* L., y *O. tenuiflorum* L., y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multirresistentes de origen nosocomial. Revista de la Facultad de Farmacia (ULA) 45(1):19-24.
- Aguirre, Y., R. Crozzoli y N. Greco. 2003. Effect of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on parsley. Russian J. Nematol. 11:27-31.
- Asuaje, L., M.A. Jiménez, N. Jiménez-P. y R. Crozzoli. 2004. Efecto del nematodo requirement to assure a good productivity. Var *basilicum* is less tolerant to *M. enterolobii* than var *purpurascens* after $P_i \geq 8$ and 16 hv + J2/cm³ of the soil for the variables FAW and DAW, respectively.
- End of english version
-
- agallador *Meloidogyne incognita* sobre el crecimiento de tres cultivares de lechuga. Fitopatol. Venez. 17:2-5.
- Chirinos, M., R. Velásquez, C. Ascanio, J. Mata y A. Carrasquero. 2009. Obtención de aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) a partir de tejidos cultivados *in vitro*. Rev. Fac. Agron. (Maracay) 35: 28-33.
- Crozzoli, R. 2002. Especies de nematodos fitoparasíticos en Venezuela. Interciencia 27:354-364.
- Crozzoli, R. 2010. La nematología agrícola en Venezuela. Trabajo de Ascenso. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Maracay. 534 pp.
- Crozzoli, R. y D. Rivas. 1987. Uso de toallas faciales de producción nacional como alternativa al filtro de algodón en la limpieza de muestras nematológicas. Fitopatol. Venez. 1:32-33.
- Crozzoli, R., Y. Aguirre y L. Ángel. 2012. Patogenicidad del nematodo agallador, *Meloidogyne enterolobii*, en lulo (*Solanum quitoense* Lam.) en macetas. Nematol. medit. 40:153-156.
- Di Vito, M., N. Greco y A. Carella. 1985. Population densities of *Meloidogyne incognita* and yield of *Capsicum annuum*. J. Nematol. 17:45-49.
- Di Vito, M., N. Greco y A. Carella. 1986. Effect of *Meloidogyne incognita* and importance of the inoculum on the yield of eggplant. J. Nematol. 18:487-490.
- Greco N. y M. Di Vito. 2009. Population dynamics and damage levels. In: Root Knot Nematodes (Perry R.N., Moens

- M. y Starr J.L., eds). CABI, Wallingford, UK. Pp. 246-274.
- Hasseb, A. y R. Pandey. 1987. Incidence of root knot nematodes in medicinal and aromatic plants, new host records. *Nematropica* 17:209-212.
- Hasseb, A., F. Butool y P. Shukla. 1998. Relationship between initial inoculum density of *Meloidogyne incognita* and growth, physiology and oil yield of *Ocimum kilimandscharicum*. *Nematol. Medit.* 26:19-22.
- Hussey R.S. y K.R. Barker. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025-1028.
- s'Jacob, S.J. y J. van Bezooijen. 1971. A manual for practical work in nematology. Agricultural University, Wageningen, Holland. Pp. 11-15.
- Lamberti, F. y A. Garibaldi. 1977. Danni da nematodi fogliari su basilico. *Nematol. Medit.* 5:335-338.
- Lugo Z., R. Crozzoli, S. Molinari, N. Greco, G. Perichi y N. Jiménez. 2005. Patrones isoenzimáticos de poblaciones venezolanas de *Meloidogyne* spp. *Fitopatol. Venez.* 18:30-33.
- Molinari, S., F. Lamberti, R. Crozzoli, S.B. Sharma y L. Sánchez-Portales. 2005. Isozyme patterns of exotic *Meloidogyne* spp. populations. *Nematol. medit.* 33:61-65.
- Perichi, G. y R. Crozzoli. 2010. Morfología, morfometría y hospedantes diferenciales de poblaciones de *Meloidogyne* de los estados Aragua y Zulia, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 23:5-15.
- Rhoades, H.L. 1988. Effects of several phytoparasitic nematodes on the growth of basil, *Ocimum basilicum* L. *Annals of Applied Nematology* 2:22-24.
- Rodríguez, M., L. Gómez y B. Peteira. 2007. *Meloidogyne mayagüensis* Rammah & Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. *Rev. Protección Veg.* 22:183-198.
- Seinhorst J.W. 1965. The relation between nematode density and damage to plant. *Nematologica* 11: 137-154.
- Seinhorst J.W. 1970. Dynamics of populations of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 8:131-156.
- Seinhorst J.W. 1986. Effect of nematode attack on the growth and yield of crop plants. Pp. 191-209. En: *Cyst nematodes* (Lamberti F. and Taylor C.E., eds). Plenum Press, London, UK.
- Taylor, A. y J.N. Sasser. 1983. Biology identification and control of root knot nematode (*Meloidogyne* sp.). International *Meloidogyne* Project. North Carolina State University Graphics. 111 pp.
- Vovlas, N., A. Troccoli, A. Minuto, C. Bruzzone, N. Sasanelli y P. Castillo. 2008. Pathogenicity and host parasite relationships of *Meloidogyne arenaria* in sweet basil. *Plant Dis.* 92:1329-1335.