

MANUAL DE NEMATOLOGÍA AGRÍCOLA

Introducción al análisis y al control nematológico para agricultores y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal



Miguel Talavera Rubia

Institut de Recerca i Formació agrària i pesquera
Conselleria d'Agricultura i Pesca de les illes Balears

Octubre 2003

PREÁMBULO

Los nemátodos parásitos de plantas son un grupo de gusanos microscópicos que viven en el suelo y atacan las raíces o partes aéreas de la mayoría de los cultivos. Con frecuencia causan daños tan serios, que es imposible mantener una agricultura económicamente viable, sin el uso de alguna forma de control nematológico.

Debido a que la mayoría de los agricultores e incluso técnicos poseen sólo un conocimiento básico sobre nemátodos. La búsqueda de ayuda profesional se hace necesaria a la hora de tomar decisiones sobre el manejo de las enfermedades causadas por estos. En concreto, el agricultor busca que sus muestras de suelo y raíces sean analizadas para la detección de nemátodos, así como consejo profesional sobre si los nemátodos presentes pueden causar algún daño a sus cultivos o si serán necesarias algunas medidas de control.

La presente hoja divulgativa pretende proporcionar unas bases de conocimiento nematológico para agricultores y técnicos agrícolas y unas líneas generales de cómo llevar a cabo un servicio de ayuda al agricultor en el caso de enfermedades causadas por nemátodos.

INTRODUCCIÓN

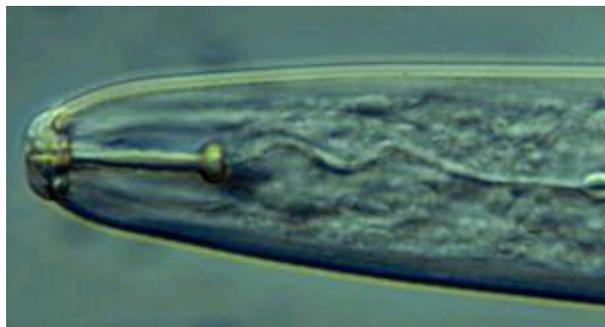
Los nemátodos son gusanos microscópicos no segmentados que constituyen el grupo más abundante de animales multicelulares en la tierra, ocupando la mayoría de hábitats. Existen nemátodos bacterívoros, fungívoros, predadores de otros nemátodos, parásitos de insectos y herbívoros o parásitos de plantas. Estos últimos causan importantes daños en los cultivos y a ellos nos referiremos principalmente en este documento.

Debido a su pequeño tamaño y a que viven en el suelo, no pueden verse a simple vista y su estudio eficaz sólo ha sido posible desde hace unas décadas, cuando la disponibilidad de microscopios de alta resolución y la puesta a punto de técnicas para extraerlos del suelo, permitió estudios cuantitativos sobre sus densidades de población y correlaciones con los daños producidos en los cultivos.

Suelen tener forma de hilo, con una longitud entre 0,1 y 2-3 mm y un diámetro unas 20 veces menor que su longitud. Están recubiertos de una cutícula protectora y lo más llamativo de su organografía es el tubo digestivo, compuesto esquemáticamente por un estilete, esófago, intestino y ano. Los adultos son fácilmente identificables por la presencia de un sistema reproductor. Las hembras presentan uno o dos ovarios, útero, vagina y vulva y una o dos espermatecas donde se almacena el espermatozoos. Los machos se distinguen fácilmente por la presencia de un aparato copulador en la cola, compuesto por las espículas, el gubernáculo y las alas caudales.



Juveniles de *Meloidogyne*



Cabeza de nematodo fitopatógeno

En general, presentan seis etapas en su ciclo de vida: huevo, cuatro estadios juveniles y adultos. Los pasos entre estadios juveniles y hasta adulto están separados por mudas. En general, la primera muda de J1 a J2 ocurre dentro del huevo, del que eclosionan como J2s, las cuales constituyen el principal estado infectivo en la mayoría de las especies.

Los nemátodos parásitos de plantas viven en la película acuosa existente en el laberinto de microtúneles del suelo y dentro de los tejidos vegetales. Todos tienen alguna forma de estilete o arpón oral, que les permite perforar la pared de las células del hospedador, e inyectar enzimas que digieren parcialmente el contenido de éstas, antes de que el nematodo lo succione hacia su sistema digestivo. Este proceso de alimentación puede realizarse desde fuera de la planta (ectoparásitos) o desde dentro de la planta (endoparásitos). La mayor parte

del daño que los nemátodos causan a las plantas está relacionado en alguna manera con el proceso de la alimentación, pues disminuye la capacidad de las raíces para captar y transportar nutrientes al resto de la planta, lo que se traduce en un debilitamiento general y en pérdidas de producción.

Los efectos de los nemátodos parásitos de plantas (fitoparásitos) sobre los cultivos se subestiman frecuentemente por agricultores y técnicos agrícolas debido a los síntomas inespecíficos que producen, que suelen confundirse con desordenes nutricionales, estrés hídrico, problemas de fertilidad del suelo, así como con otras infecciones secundarias causadas por hongos y bacterias, cuya entrada suele estar facilitada por la acción del nematodo. No obstante, estimaciones de diversas fuentes sugieren que los nemátodos parásitos de plantas reducen la producción agrícola mundial entre un 12% y un 20%.

Los nemátodos son especialmente problemáticos en condiciones marginales de suelo o irrigación, es decir en suelos muy arenosos o demasiado arcillosos, en perfiles poco profundos, cuando el agua es un factor limitante y cuando las prácticas agrícolas no son las adecuadas, (marcos de plantación demasiado altos, monocultivos y rotaciones con varios cultivos susceptibles al mismo nematodo).

SINTOMATOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES CAUSADAS POR NEMÁTODOS

En campo las enfermedades causadas por nemátodos se suelen manifestar como rodales irregulares de crecimiento pobre, de forma circular o elipsoidal, si los síntomas aparecen en campo distribuidos de una forma regular, claramente el problema no será debido a nemátodos.



Daños producidos por *Globodera* en patata



Daños producidos por *Heterodera* en trigo

Los nemátodos pueden producir síntomas característicos en el sistema radicular como agallas, lesiones necróticas en las raíces, proliferación de raíces secundarias y pobre crecimiento radicular, lo que se traduce en clorosis y en general plantas débiles con pobre crecimiento.

En cuanto a los síntomas causados por los nemátodos que atacan partes aéreas, podremos observar manchas foliares, putrefacciones y distorsiones en cuello y bulbos, así como agallas en las espigas de algunos cereales.

Los principales nemátodos parásitos de plantas y los síntomas que causan se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1. Síntomas y cultivos susceptibles a los principales nemátodos fitoparásitos

nematodo	Síntomas	Cultivos
<i>Meloidogyne</i>	Agallas en raíces Debilitamiento general de la planta	Hortícolas, cereales, frutales, ornamentales
<i>Pratylenchus</i>	Lesiones y destrucción de raíces Debilitamiento general de la planta	Hortícolas, cereales, frutales, ornamentales
<i>Globodera</i> <i>Heterodera</i>	Cuentas de collar en raíces Debilitamiento general de la planta	Patata, tabaco, remolacha, leguminosas, cereales.
<i>Ditylenchus</i>	Distorsiones en hojas y bulbos Decoloración de los bulbos	Cebolla, ajo, otros bulbos, cereales
<i>Tylenchulus</i> <i>semipenetrans</i>	Deterioro radicular Debilitamiento general de la planta	Cítricos y viña
<i>Xiphinema</i> , <i>Longidorus</i>	Engrosamientos y necrosis radicular Debilitamiento general de la planta Transmisores de virus	Cultivos perennes
<i>Trichodorus</i> , <i>Paratrichodorus</i>	Engrosamientos y necrosis radicular Debilitamiento general de la planta Transmisores de virus	Numerosos cultivos
<i>Aphelenchoides</i>	Distorsiones y necrosis en las hojas	Fresa, crisantemos, lirios y otras ornamentales
<i>Anguina</i>	Distorsiones en las espigas y granos de los cereales	Cereales y pastos

***Meloidogyne* spp. (nemátodos agalladores)**

CULTIVOS SUSCEPTIBLES DE DAÑO: tienen un muy amplio rango de hospedadores, incluyendo casi todos los cultivos hortícolas.

BIOLOGÍA: Generalmente pasan el invierno en suelo en forma de huevos. En primavera conforme la temperatura del suelo se incrementa, los juveniles de segundo estado J2s, eclosionan, emigran a través del suelo y penetran en las raíces de las plantas hospedadoras, donde establecen sitios de alimentación. Durante el crecimiento, los juveniles van engrosando y mudando hasta convertirse en hembras adultas o machos. Las hembras son redondeadas e inmóviles, los machos filiformes y generalmente abandonan la raíz pues no se alimentan. Las hembras producen hasta 3000 huevos envueltos en una masa gelatinosa. Generalmente los nemátodos agalladores completan su ciclo en menos de un mes dependiendo de la temperatura del suelo y por tanto puede tener varias generaciones durante un cultivo.

SÍNTOMAS: Como otros muchos nemátodos no causan síntomas característicos en el follaje de la planta. Las plantas infectadas por *Meloidogyne* spp. muestran amarillamientos, marchitamientos y reducciones en la producción. La infección de las raíces produce

engrosamientos característicos o agallas que pueden ser de varios tamaños dependiendo del número de hembras que alberguen.

CONTROL: En primer lugar es necesaria la prevención de la entrada del nematodo, pues una vez éste se ha establecido es virtualmente imposible erradicarlo, por lo que es importante el



Agallas en raíz de tomate (*Meloidogyne* sp.)

uso de semilla y plantones certificados y material limpio de nemátodos. Aquellas parcelas en las que se encuentre *Meloidogyne* deberían mantenerse al margen de la producción hortícola por un periodo entre 2 y 4 años. Cultivos no hospedadores o resistentes pueden cultivarse para reducir las poblaciones. Las malas hierbas deben ser eliminadas para evitar que sirvan como hospedadores alternativos a los nemátodos. En general, aquellas parcelas donde se vayan a cultivar

hortícolas susceptibles al nematodo deberían ser analizadas regularmente para la presencia de nemátodos agalladores. Si los niveles detectados están por encima del umbral económico de daño se recomienda el uso de un nematicida.

***Pratylenchus* spp. (nemátodos lesionadores)**

CULTIVOS SUSCEPTIBLES DE DAÑO: Virtualmente casi todas las especies de plantas cultivadas.

BIOLOGÍA: Generalmente sobreviven la estación sin hospedador como juveniles dentro de las raíces o en suelo. Penetran en las raíces jóvenes de las plantas hospedadoras, allí migran a través de las raíces, a menudo destruyendo células. Las hembras depositan los huevos de uno en uno en el tejido radicular o en suelo y pueden producir hasta 100 huevos a lo largo de su vida. El ciclo de vida se completa generalmente en tres o cuatro semanas dependiendo de la temperatura del suelo, por lo que pueden producir varias generaciones por estación.



Lesiones en raíz
Pratylenchus sp.

SÍNTOMAS: Los síntomas en planta son los mismos que en el caso de los nemátodos agalladores. En raíces la penetración de los nemátodos produce pequeñas lesiones necróticas que sirven de entrada a otros patógenos (*Verticillium*, *Rhizoctonia*, etc.). Las plantas infectadas por nemátodos lesionadores, generalmente tienen sistemas radiculares reducidos y las raíces alimenticias destruidas.

CONTROL: El primer paso es usar semilla y plantones libres del nematodo. Debido a su amplísimo rango de hospedadores es difícil controlar sus poblaciones mediante rotación de cultivos. El espárrago se conoce como mal hospedador de casi todas las especies de *Pratylenchus*. Campos en los que se detecte la

presencia de *Pratylenchus* por encima del umbral económico de daño deberían ser mantenidos en barbecho antes de la siembra. Es muy importante mantener un barbecho limpio de malas hierbas. En algunos casos rotaciones con espárrago, sorgo o pasto del sudan pueden ayudar a reducir las poblaciones de *Pratylenchus*. En general, como control químico se recomiendan nematicidas granulados no fumigantes.

Nemátodos quísticos (*Globodera* spp. y *Heterodera* spp.)

CULTIVOS SUSCEPTIBLES DE DAÑO: En general, las especies de nemátodos quísticos presentan un rango de hospedadores bastante estrecho, *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida* parasitan solanáceas, *Heterodera avenae* gramíneas, *Heterodera glycines* leguminosas, *Heterodera schachtii* crucíferas.



Hembras de *Globodera* en raíces

BIOLOGÍA: Los quistes son sacos de huevos rodeados por los restos muertos de las hembras, pueden tener forma de limón (*Heterodera* spp.) o redondeada (*Globodera* spp.). Los nemátodos quísticos sobreviven a la estación sin cultivo como huevos dentro de los quistes, Los exudados radiculares de sus plantas hospedadoras estimulan la eclosión de los huevos, los juveniles migran en el suelo hasta las raíces donde generan sitios de alimentación y comienzan a engordar, hasta llegar a adultos. Las hembras alcanzan un tamaño que llegan a romper el tejido radicular con lo que quedan expuestas al suelo. Los machos son filiformes y salen de la raíz para fecundar a las hembras. Las hembras producen entre 50 y 100 huevos en una matriz fuera de sus cuerpos, pero muchos más huevos permanecen dentro de sus cuerpos. Los

huevos producidos en la matriz generalmente eclosionan rápidamente tras ser producidos, mientras que los que permanecen dentro del quiste, pueden tardar hasta 10 años en eclosionar.

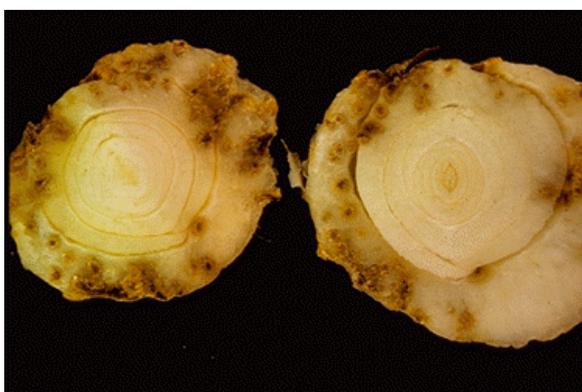
SÍNTOMAS: En general producen los mismos síntomas inespecíficos que nemátodos agalladores y lesionadores. Las hembras formadas pueden observarse durante el cultivo en las raíces del cultivo hospedador como cuentas de collar.

CONTROL: Debido a que los quistes pueden contener huevos viables durante más de 10 años las medidas preventivas para evitar la contaminación del suelo son de especial importancia. Si el nematodo se establece en un campo, el agricultor debe aprender a manejar sus poblaciones y optimizar su producción en presencia de los nemátodos. Gracias al estrecho margen de hospedadores que presentan los nemátodos quísticos, la rotación de cultivos es en la mayoría de los casos una buena estrategia para controlar sus poblaciones. El uso de nematicidas no es tan efectivo como con otros nemátodos debido a la capacidad del quiste para proteger a los huevos.

Nemátodos del tallo y los bulbos (*Ditylenchus* spp.)

CULTIVOS SUSCEPTIBLES DE DAÑO: Cebolla, remolacha, ajo, zanahoria, tomate, algunos cereales y bulbos.

BIOLOGÍA: *Ditylenchus* sobrevive la estación sin hospedador como juveniles de 4 estadio J4s y adultos en un estado criptobiótico, ya sea en tejido vegetal o en suelo. Cuando la humedad es la adecuada, los nemátodos migran hacia las hojas y tallos de las plantas jóvenes. Las hembras pueden producir hasta 500 huevos y sobrevivir hasta 10 semanas. En condiciones óptimas el ciclo de vida puede durar unas tres semanas. Los nemátodos de los tallos y bulbos pueden persistir durante largo tiempo en suelo y son bastante resistentes a la sequía y a las bajas temperaturas. A menudo forman agregados de un gran número de individuos que se conocen como algodón de gusanos, que actúan como forma de resistencia. No obstante, las poblaciones decrecen rápidamente en ausencia de hospedador.



SÍNTOMAS: Deformaciones en hojas y bulbos son el síntoma más característico de las infecciones por *Ditylenchus*. A menudo, las plantas jóvenes pueden morir cuando las infecciones son altas. Los bulbos infectados presentan capas concéntricas de hojas marrones y a menudo se pudren durante el almacenaje, por infecciones secundarias causadas por bacterias.

Daños en cebolla causados por *Ditylenchus* sp.

CONTROL: Evitar plantar semilla o plántones infectados. El uso de rotaciones o barbechos reduce considerablemente las poblaciones de nemátodos de los tallos y bulbos. El tratamiento con agua caliente de bulbos y semilla mata a los nemátodos, no obstante la temperatura del agua debe ser cuidadosamente mantenida entre 43-46 °C durante una o dos horas. Como estos nemátodos se mueven por la superficie de las hojas con el agua, la humedad sobre las hojas también debe ser controlada.

PRINCIPIOS DE CONTROL NEMATOLÓGICO

Hasta hace poco las opciones disponibles para el control de nemátodos dependían de la intensidad y rentabilidad del cultivo. En cultivos hortícolas y ornamentales de alta rentabilidad se usaban rutinariamente desinfecciones del suelo con nematicidas, mientras que en otros cultivos de menor rendimiento económico se usaban programas de manejo integrado, incluyendo rotaciones y/o variedades resistentes. No obstante, la preocupación entre consumidores y organizaciones por los riesgos ambientales de los nematicidas, así como el énfasis puesto en una agricultura sostenible por organismos europeos e internacionales ha

cambiado drásticamente la situación y de una excesiva confianza en los nematicidas, se debe pasar urgentemente a otros sistemas que integren métodos alternativos de control compatibles con el respeto al medio ambiente.

Existen diversos métodos de control nematológico alternativos al control químico, desde los tradicionales como el barbecho o la rotación de cultivos, hasta los más novedosos como resistencias incorporadas mediante biología molecular. Todos ellos tienen ventajas e inconvenientes y ninguna estrategia por si sola, parece ser satisfactoriamente efectiva, por lo que el acercamiento más productivo al control nematológico debería involucrar la integración de varios métodos, como prevención, medidas culturales, resistencia y control biológico.

Prevención

En general, control nematológico es esencialmente prevención, porque una vez una planta es parasitada, es imposible eliminar el nematodo sin destruir también el hospedador. No obstante, se entienden como medidas preventivas aquellas encaminadas a impedir la extensión de un problema nematológico en una determinada área.

Debido a que la mayoría de los nemátodos entra o se extiende en nuevas áreas por movimiento de tierras o plantas infectadas, el control fronterizo es fundamental para evitar la introducción en el país de nuevos organismos patógenos procedentes de otros países. Plantones y semillas certificadas deberían ser usados siempre.

Una vez que la plaga es detectada en el campo las medidas de cuarentena e higienización del material de labranza permiten controlar su expansión.

Control químico

Aunque sigue siendo el método de control nematológico más efectivo, la mayoría de los productos químicos utilizados como nematicidas, ya sean fumigantes o no fumigantes (granulares y emulsiones) presentan riesgos medioambientales, por lo que su uso debe ser limitado siempre que existan alternativas. Por otra parte la economía de producción de la cosecha no permite en muchos casos un retorno suficiente de la inversión para justificar el uso de nematicidas.

Plantas y productos alelopáticos

Existen plantas que liberan productos nematicidas al suelo, bien durante su crecimiento o bien como resultado de la descomposición de sus residuos. Estos productos se conocen como aleloquímicos, por ejemplo las raíces de sorgo contienen un compuesto químico, dhurrin, que se degrada en cianuro de hidrógeno que es un nematicida poderoso. Otro ejemplo son los glucosinatos e isothiocianatos, resultado de la descomposición de las Brasicas. No obstante, existe una tremenda variabilidad dentro las especies de plantas antagonistas respecto a la supresión a las diversas razas de nemátodos, por lo que su uso debe estar siempre supervisado por personal técnico especializado.

Medios culturales

BARBECHO: Un barbecho estricto por 1-2 años normalmente reducirá las poblaciones de nemátodos en un 80-90 por ciento. Este efecto puede lograrse en tan sólo una estación introduciendo otras medidas culturales. Sin embargo, barbechar puede ser inaceptable para el agricultor debido a la potencial pérdida de materia orgánica, peligro de erosión y pérdida de tiempo productivo. Además si se permite el crecimiento de malezas durante el barbecho, algunos nemátodos pueden sobrevivir y reproducirse en ellas, haciendo esta práctica ineficaz.

ROTACIONES: La rotación con cultivos no hospedadores es a menudo adecuada por sí misma para impedir que las poblaciones nematológicas alcancen niveles perjudiciales económicamente. Sin embargo es necesario disponer de una amplia base de datos incluyendo variabilidad entre cultivares y razas de nemátodos.

SOLARIZACIÓN: La solarización es un método de pasteurización del suelo que permite suprimir la mayoría de las especies de nemátodos patógenos eficazmente. Sin embargo sólo es consistente en lugares con veranos cálidos y calurosos. La técnica básica consiste en poner una o dos láminas de plástico transparente encima del suelo ligeramente humedecido durante el verano y aproximadamente de seis a ocho semanas.



Prueba de solarización en campo

VAPOR DE AGUA: Vapor a 80-100 °C por 30 minutos controla efectivamente algunos nemátodos patógenos. No obstante produce un impacto severo en la zona del suelo donde se desarrollan las raíces (rizosfera), a la que deja con un vacío biológico fácilmente reinfecible por otros patógenos.

ENCHARCAMIENTO: Donde el agua es abundante, el encharcamiento del campo se puede usar para el control de nemátodos. La inundación del suelo durante 7-9 meses mata a los nemátodos reduciendo la cantidad de oxígeno disponible para la respiración y aumentando la concentración de sustancias tóxicas como ácidos orgánicos, metano y sulfuro de hidrógeno. Sin embargo puede llevar varios años destruir todas las masas de huevos de *Meloidogyne*. Una alternativa al encharcamiento continuo es utilizar ciclos de inundación, (mínimo dos semanas) alternando secado y pases de disco. No obstante un insuficiente o pobre manejo puede empeorar la situación, ya que algunas plagas y enfermedades se pueden extender fácilmente cuando el suelo está encharcado.

ADICIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y BIOFUMIGACIÓN: Hay evidencias sustanciales de que la adición de materia orgánica o materiales quitinosos en forma de abono o estiércol disminuyen las poblaciones de nemátodos y el daño asociado a ellas, lo que parece ser debido a un incremento en las poblaciones de microorganismos antagonistas de los nemátodos.

Resistencia

Las variedades resistentes son un método de control más eficaz contra las especies de endoparásitos sedentarias como *Meloidogyne* o los nemátodos quísticos (*Globodera*, *Heterodera*) que pasan la mayor parte de su ciclo de vida dentro de las raíces. Tomates y sojas, en particular, han sido intensivamente seleccionados para resistencia a los nemátodos.

No obstante, la obtención de nuevas variedades resistentes es complicada por la habilidad de las especies de nemátodos de desarrollar razas o biotipos que superen la resistencia. Cuando una variedad resistente se planta, las poblaciones de nemátodos generalmente disminuyen, pero en la estación siguiente, los pocos nemátodos en una población capaces de superar la resistencia empiezan a aumentar, con lo que al cabo de unas generaciones la resistencia ha sido rota, más del 80% de las poblaciones de *Meloidogyne incognita* muestreadas en invernaderos japoneses rompe la resistencia proporcionada por el gen Mi.

Por otra parte las fuentes de resistencia natural están limitadas a unas pocas especies de nemátodos y en ocasiones sólo son eficaces frente a una raza de ese patógeno.

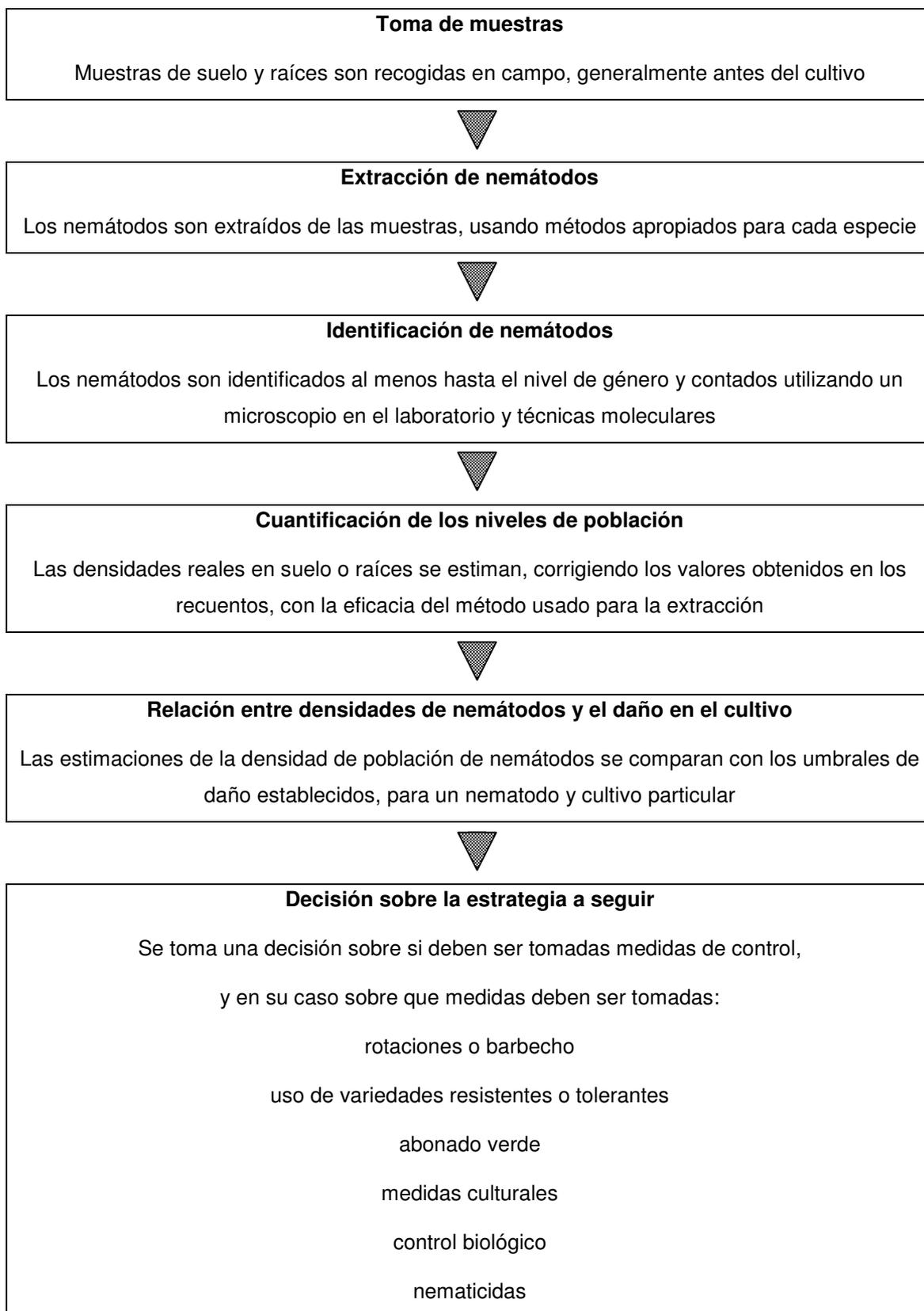
Control Biológico

Microorganismos antagonistas establecidos en el lugar de siembra antes o a la vez que el patógeno pueden ser usados para prevenir la infestación. Varios microorganismos han sido identificados como enemigos naturales de los nemátodos. Éstos incluyen las bacterias *Pasteuria penetrans* y *Bacillus thuringiensis* y los hongos *Paecilomyces lilacinus*, *Verticillium chlamydosporium*, *Hirsutella rhossiliensis*, *Catenaria* spp. Sin embargo, para la mayoría de ellos las formulaciones comerciales no están todavía disponibles.

MANEJO INTEGRADO DE LAS ENFERMEDADES NEMATOLÓGICAS

Con el desarrollo del concepto de manejo integrado de plagas, el seguimiento de las plagas y enfermedades en campo se ha convertido en un componente importante de la agricultura moderna. Mediante la toma de muestras periódica se determinan los niveles de infestación en suelo, infección en planta y los modelos de distribución en campo. Esta información se usa para determinar la estrategia de protección del cultivo de forma que las poblaciones se mantengan a niveles que no causen pérdidas o bien que éstas sean tolerables.

En general un programa de control integrado de nemátodos sigue el siguiente esquema:



No obstante, las dificultades del proceso de diagnóstico nematológica y la creciente complejidad de los programas de manejo integrado, implican que haya una creciente demanda por parte del agricultor de ayuda profesional en la toma de decisiones sobre control nematológico. Generalmente, esta ayuda es proporcionada en un primer nivel por técnicos agrícolas que trabajan en campo y poseen un conocimiento profundo del sistema de cultivo empleado, los cuales, enviando muestras a un laboratorio de diagnóstico y en colaboración con un nematólogo recomendarán al agricultor las medidas de control apropiadas.

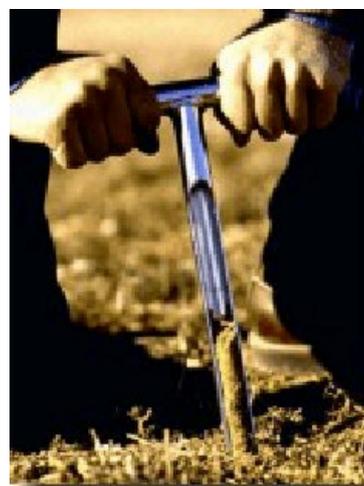
Toma de muestras para diagnóstico nematológico

Para la confirmación de un diagnóstico en campo, siempre será necesario el análisis de muestras de suelo y raíces en el laboratorio que nos permitan confirmar la presencia de los nemátodos sospechados. Debido a que los nemátodos no pueden ser observados directamente en campo, deben ser extraídos del suelo o muestras vegetales y luego identificados y contados al microscopio.

Si el cultivo está en pie, deberán tomarse muestras de raíces y suelo, para confirmar que los nemátodos son la causa del problema. En tal caso, el mejor momento para hacer un muestreo de las poblaciones de nemátodos en campo es desde la mitad hasta el final de la estación de crecimiento del cultivo hospedador, cuando los nemátodos están más activos y las densidades son más elevadas.

Cuando el muestreo se realiza previo al cultivo, las muestras deben ser tomadas antes de la siembra y siempre antes de cualquier tratamiento con plaguicidas o fertilizantes. Las densidades de nemátodos obtenidas permitirán predecir si los niveles en suelo son suficientemente altos como para causar daños a los cultivos y si algunas medidas de control son necesarias. Del mismo modo, estos muestreos predictivos son útiles en cultivos perennes en los que se efectúa un seguimiento regular de las densidades nematológicas y según los datos decidir en que momento aplicar los nematicidas.

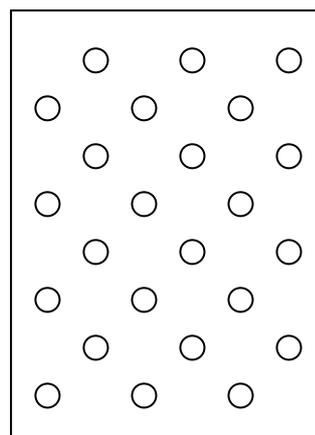
Para la toma de muestras de suelo se pueden utilizar tanto una palita de jardinero como diversos tomadores especialmente diseñados. El tomador de tipo Auger, es de los más utilizados y consiste en un cilindro de unos 2-3 cm de diámetro y entre 20 y 40 cm de longitud, abierto por un lado lo que permite obtener catas de estas profundidades. El auger se introduce en el suelo hasta la profundidad deseada se gira varias vueltas para cortar un cilindro de suelo y se saca. La columna de suelo se deposita en una bolsa de plástico con la ayuda de una uña metálica o de madera. En general una muestra se compone de varias catas.



Tomador de suelo o auger

Para obtener resultados precisos es necesario tomar las siguientes precauciones:

1. En caso de cultivos establecidos, tomar las muestras de suelo en las áreas periféricas a las zonas dañadas. No tomar nunca muestras en zonas donde las plantas estén muertas. En caso de muestreos previos a un cultivo, tomar las muestra con distintas catas distribuidas regularmente por la superficie de la parcela.



2. La precisión de nuestra estimación mejorará con el incremento en el número de catas. Sin embargo para minimizar costes y tiempo es importante también reducir el número de catas tomadas. El método seguido para disminuir errores en la estimación, es el de tomar un número elevado de catas en diferentes puntos del campo a muestrear y agruparlas en una muestra sencilla, en la que se estimará el número medio de nemátodos. La superficie a incluir en una muestra no debe sobrepasar 2 Ha y debe representar un área homogénea dentro de un campo según historial de cultivo, tipo de suelo u otras variables. Campos más grandes deben ser divididos en subparcelas y muestreados separadamente. En general se recomiendan densidades de toma alrededor de 60 catas por Ha. Combinar todas las catas en una bolsa o cubo de plástico, mezclar bien y traspasar aproximadamente 500 cm³ de suelo a una bolsa de plástico para enviar al laboratorio.
3. Las muestras deben ser tomadas preferentemente alrededor de las zonas de crecimiento radicular, en general entre 5 y 30 cm. de profundidad, y deben incluir suelo y raíces. El suelo no debe estar muy húmedo ni muy seco. En el caso de cultivos arbóreos se muestreará la llamada zona de goteo del árbol, en la vertical del borde marcado por la copa de este.
4. Cuando tratemos de investigar la presencia de nemátodos en material vegetal, se seleccionarán trozos del mismo, procurando que pertenezcan a las partes afectadas, preferentemente en sus límites con zonas sanas.
5. Las muestras deben colocarse en bolsas de plástico cerradas para prevenir su secado, mantenerse a temperatura fresca durante el transporte y evitar el contacto directo con la luz solar.
6. Cerrar la bolsa e incluir nombre y número de muestra en una etiqueta dentro de la bolsa y con un rotulador fuera de la bolsa, colocar la bolsa en un contenedor fuerte para prevenir roturas y enviarlo al laboratorio de análisis, junto a un formulario semejante al siguiente, en el que se debe incluir la mayor cantidad de información disponible, respecto al cultivo, parcela, síntomas, etc.

Datos sobre la parcela muestreada para análisis de nematodos

NOMBRE DEL CAMPO		AGRICULTOR	
POLÍGONO		TÉCNICO	
PARCELA		DIRECCIÓN	
NUMERO DE MUESTRA		MUNICIPIO	
SUPERFICIE DE LA PARCELA		PROVINCIA	
SUPERFICIE MUESTREADA		TELÉFONO	
CULTIVO EN PIE		FAX	
CULTIVO SIGUIENTE		E-MAIL	
CULTIVO ANTERIOR		FECHA	
TIPO DE SUELO		SÍNTOMAS	

Observaciones:

Protocolo de diagnóstico nematológico en cultivos establecidos

Objetivo: Determinar si los nemátodos están implicados en los problemas observados en un determinado cultivo.

¿Que muestrear?

- Identificar los síntomas y anotar su distribución (al azar, regular, etc.).
- Buscar una gradación en los síntomas (i.e. suave, moderado, severo) y muestrear plantas con diferentes grados de severidad separadamente. Tomar adicionalmente muestras de plantas sanas. No tomar muestras muy dañadas o muertas.
- Recolectar muestras de raíces y suelo. Cuando se sospeche de nemátodos que atacan flores, hojas y tallos, recolectar también tejidos afectados

¿Dónde muestrear?

Muestrear en los bordes de las zonas afectadas y en aquellas zonas donde se concentra el crecimiento radicular

La profundidad de muestreo varía según los cultivos: Pastos: 0-10 cm.; Hortícolas y cereales: 0-20 cm.; Frutales, viñas y ornamentales: 10-30 cm. (eliminar los 5 cm. superiores para minimizar la influencia de la sequía, malas hierbas y cultivos de cobertura).

¿Cómo muestrear?

Usar una pala, o un tubo hueco para recolectar suelo y raíces y depositarlas en un cubo, Tomar entre 30 y 60 muestras de 100 cc por Ha y depositarlas en un cubo, mezclar cuidadosamente y retener unos 500 g de suelo y unos 100 g de raíces si es posible para el análisis en laboratorio.

Cuidado de las muestras

Las muestras deben ir cerradas en bolsas de plástico para retener la humedad. No deben ser expuestas directamente al sol. Temperaturas entre 10-20 °C son ideales para la conservación.

Información requerida

Formularios completos con la mayor información posible deben ser enviados junto a la muestra. En particular los siguientes datos son importantes

- Cultivo y variedad, del cultivo anterior, presente y siguiente
- Superficie muestreada
- Descripción de los síntomas y su distribución
- Textura del suelo, profundidad, y variabilidad
- Frecuencia de riego y/o lluvia
- Tratamientos con fertilizantes, fitosanitarios y respuesta obtenida.

Protocolo de diagnóstico para la prevención de problemas nematológicos

Objetivo: Determinar las densidades de nemátodos para predecir si podrán causar problemas en el cultivo establecido o los siguientes.

¿Que muestrear?

- Recolectar muestras de suelo.

¿Dónde muestrear?

Dividir el campo en áreas que tengan un historial de cultivos común, o que sean homogéneas respecto a otras variables como textura del suelo.

La profundidad de muestreo varía según los cultivos: Pastos: 0-10 cm; Hortícolas y cereales: 0-20 cm; Frutales y viñas: 10-30 cm (eliminar los 5 cm superiores para minimizar la influencia de la sequía, malas hierbas y cultivos de cobertura).

¿Cómo muestrear?

Usar una pala, o un tubo hueco para recolectar suelo y raíces y depositarlas en un cubo, Tomar entre 30 y 60 muestras de 100 cc por Ha y depositarlas en un cubo, mezclar cuidadosamente y retener unos 500 g de suelo y unos 100 g de raíces si es posible para el análisis en laboratorio.

¿Cuándo muestrear?

Las muestras previas a un cultivo, deben ser recolectadas unas 4-6 semanas antes de plantarlo, con vistas a la toma de decisiones en función de los resultados obtenidos.

Cuidado de las muestras

Las muestras deben ir cerradas en bolsas de plástico para retener la humedad. No deben ser expuestas directamente al sol. Temperaturas entre 10-20 °C son ideales para la conservación.

Información requerida

Formularios completos con la mayor información posible deben ser enviados junto a la muestra. En particular los siguientes datos son importantes

- Cultivo y variedad: anterior y a sembrar
- Superficie muestreada
- Descripción de síntomas y su distribución en cultivos anteriores
- Textura del suelo, profundidad, y variabilidad
- Frecuencia de riego y/o lluvia
- Tratamientos con fertilizantes, fitosanitarios y respuesta obtenida.

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE LOS NEMÁTODOS DEL SUELO Y DE MUESTRAS VEGETALES

Una vez realizada la toma de muestras de suelo y plantas, los nemátodos deben ser extraídos para su recuento. Si este no se va a realizar inmediatamente, deben guardarse en sitio fresco hasta su procesamiento.

Existen muchas técnicas diferentes para la extracción de los nemátodos del suelo. En general, las más utilizadas son aquellas basadas en la capacidad de los nemátodos de migrar del suelo al agua a través de un filtro (embudo de Baermann) o aquellas basadas en su densidad específica (centrifugaciones diferenciales en gradientes de sacarosa o sales). A continuación se describe la técnica del embudo de Baermann modificada, pues no requiere ningún equipamiento específico y puede ser empleada fácilmente sin la necesidad de conocimientos técnicos en el manejo de aparatos de laboratorio.

MATERIAL NECESARIO

- 100 g de suelo o 25 g de material vegetal
- Embudo de vidrio de 10 cm. de diámetro o placa de Petri
- Soporte de madera o metal para los embudos
- Filtro de tela, algodón o celulosa
- manguerita de goma o silicona de 10 a 15 cm. de largo
- Clips para las mangueritas

PROCEDIMIENTO

1. Coloque los embudos sobre los soportes de madera o metal, coloque las mangueritas en la parte final del embudo y ciérrelas con el clip.
2. La muestra de suelo se tamiza a través de una malla de 0,5-1 cm., se mezcla cuidadosamente y se toman unos 100 g para ser colocados sobre el filtro de tela, algodón o celulosa, sostenido por un tamiz o malla de unos 2 mm de apertura, todo ello sumergido en el o placa de Petri con agua. El material vegetal se macera o trocea finamente y se toman entre 5 y 25 g que se colocan sobre el filtro.
3. Al cabo de 48 horas los nemátodos pasaran por el filtro hacia el fondo del embudo. Se permite la migración de los nemátodos del suelo al agua durante 48 horas como mínimo, aunque en algunos casos puede durar hasta 7-14 días. Es preciso revisar el nivel de agua periódicamente a fin de evitar la desecación y que el tamiz con el suelo esté siempre sumergido en agua.
4. Abrimos el clip y recolectamos los nemátodos en una placa Petri.
5. Contamos en el estereoscopio.

Los quistes de *Globodera* y *Heterodera* se extraen mediante la técnica del embudo de Fenwick, la cual se basa en la propiedad de los quistes de flotar en agua, ayudados por una burbuja de aire que se forma en su interior. Para que esta técnica sea eficaz es necesario que el suelo que contiene los quistes haya sido desecado previamente. Los quistes se recogen en un tamiz de unas 150 μm de apertura de malla y luego sobre un papel de filtro del que se pescan y cuentan. Para obtener el número de huevos viables es necesario abrirlos individualmente o triturarlos y contar el número de juveniles vivos.

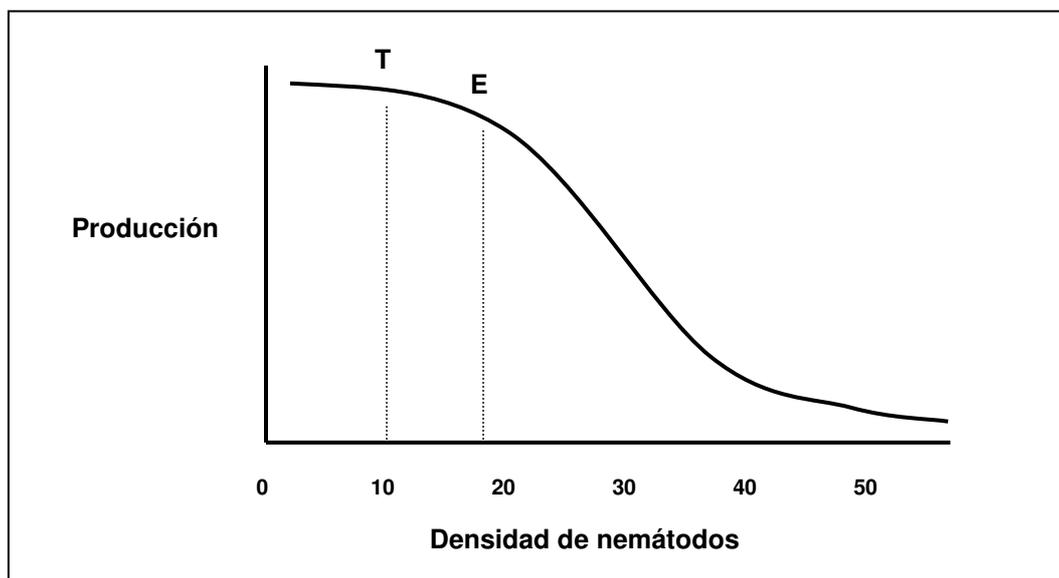


Embudo de Fenwick

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS NEMATOLÓGICOS

Los análisis nematológicos son una herramienta fundamental a la hora de tomar decisiones sobre control nematológico. Sin embargo, estos análisis no tienen gran valor si la toma de muestras no se ha realizado de forma que sean representativas del área seleccionada, o si las muestras no llegan al laboratorio bien conservadas.

En general, la relación entre producción vegetal y las densidades de nemátodos en suelo al inicio del cultivo suele ser como la mostrada en la siguiente figura:



En este ejemplo hay pequeñas pérdidas de producción a densidades menores de 10 nemátodos por g de suelo, (este es el llamado límite de tolerancia **T**), las pérdidas aumentan conforme las densidades de nemátodos pasan a ser mayores. Aunque se observan pérdidas a densidades entre 10 y 20 nemátodos por g de suelo, estas no serían suficientes como para

justificar el uso de un tratamiento (este es el llamado umbral económico de daño **E**) por encima de él, el tratamiento del suelo con un nematicida sería recomendable.

Tanto el límite de tolerancia como el umbral económico dependen de las condiciones agronómicas y ambientales locales, por lo que el éxito de un sistema predictivo estará supeditado a la existencia de datos locales sobre las pérdidas causadas por nemátodos. No obstante, y simplemente a modo orientativo la siguiente tabla muestra límites de tolerancia y umbrales económicos de daño, expresados en nemátodos o huevos por 100 g de suelo, para diversos cultivos y nemátodos en áreas de clima mediterráneo. Los valores están basados en diversas publicaciones con datos sobre umbrales de daño en zonas de clima mediterráneo.

Tabla 2. Valores orientativos de los límites de tolerancia y umbrales económicos para diversos cultivos y nemátodos. Niveles de nemátodos por 100 g de suelo en el momento de la siembra.

Cultivo	nematodo	Límite de tolerancia	Umbral económico
Avena	<i>Ditylenchus dipsaci</i>	1	25
Cítricos	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	10	100
Coles	<i>Meloidogyne</i> spp.	1	5
Coles	<i>Pratylenchus</i> spp.	20	100
Cucurbitáceas	<i>Meloidogyne</i> spp.	2	50
Fresa	<i>Meloidogyne</i> spp.	1	2
Fresa	<i>Pratylenchus</i> spp.	2	5
Frutales hueso	<i>Meloidogyne</i> spp.	10	200
Frutales hueso	<i>Pratylenchus</i> spp.	10	300
Maíz	<i>Meloidogyne</i> spp.	10	100
Maíz	<i>Pratylenchus</i> spp.	40	100
Patata	<i>Meloidogyne</i> spp.	10	100
Patata	<i>Globodera rostochiensis</i>	50	1500
Patata	<i>Globodera pallida</i>	10	300
Pimiento	<i>Meloidogyne</i> spp.	3	30
Tabaco	<i>Meloidogyne</i> spp.	1	40
Tabaco	<i>Pratylenchus</i> spp.	2	50
Tabaco	<i>Globodera tabacum</i>	1	5
Tomate	<i>Meloidogyne</i> spp.	2	20
Tomate	<i>Pratylenchus</i> spp.	10	100
Trigo	<i>Heterodera avenae</i>	250	1.000
Trigo	<i>Pratylenchus thornei</i>	1.000	3.000
Trigo	<i>Pratylenchus neglectus</i>	500	2.000
Viña	<i>Meloidogyne</i> spp.	20	200
Viña	<i>Pratylenchus</i> spp.	20	300
Viña	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	50	400
Viña	<i>Xiphinema</i> spp.	1	4
Zanahoria	<i>Meloidogyne</i> spp.	1	10

BIBLIOGRAFÍA

Nematología general

- Brown, R.H. and Kerry, B.R. (1987). Eds. 'Principles and Practice of Nematode Control in Crops'. Academic Press, Sydney, Australia, 447 pp.
- Duncan, L.W. (1991). Current options for nematode management. *Annual Review of Phytopathology* 29: 469-490.
- Evans, D., Trudgill, D.L. and Webster J.M. (1993). *Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK, 648 pp.
- Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. (1991). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK, 629 pp.
- Nickle, W.R. (1991). *Manual of Agricultural Nematology*. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1035 pp.
- Whitehead, A.G. (1997). *Plant Nematode Control*. CAB International, Wallingford, UK, 400 pp.

Umbrales de daño

- Ferris, H. (1981). Dynamic action thresholds for diseases induced by nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 19: 427-436.
- Shurtleff, M.C. and Averre, C.W. III. (1997). *The Plant Disease Clinic and Field Diagnosis of Abiotic Diseases*. The American Phytopathological Society, St. Paul, 245 pp.

Toma de muestras

- Barker, K.R. (1985). Sampling nematode communities. In 'An Advanced Treatise on *Meloidogyne* Volume II. Methodology (Eds. K.R. Barker, C.C. Carter and J.N. Sasser). North Carolina State University Graphics, USA, pp 3-17.
- Southey, J.F. (1986). *Laboratory methods for work with plant nematodes*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London. HMSO. UK. 202 pp.
- Zuckerman, B.M., Mai, W.F. and Krusberg, L.R. (1990). Eds. 'Plant Nematology Laboratory Manual - Revised Edition 1990'. University of Massachusetts Agricultural Experiment Station, Massachusetts. USA. 252 pp.

Métodos de extracción de nemátodos

- Barker, K.R. (1985). Nematode extraction and bioassays. In 'Advanced Treatise on *Meloidogyne* Volume II' (Eds. K. R. Barker, C. C. Carter and J. N. Sasser). North Carolina State University Graphics, USA, pp 3-17.

- Byrd, D.W.Jr., Kirkpatrick, T. and Barker, K.R. (1983). An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15: 142-143.
- Coolen, W.A. (1979). Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. In 'Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)' (Eds. F. Lamberti and C.E. Taylor). Academic Press, London, UK, pp. 317-329.
- Ferris, H. (1987). Extraction efficiencies and population estimation. In 'Vistas on Nematology' (Eds. J.A. Veech and D.W. Dickson). Society of Nematologists, Hyattsville, Maryland, USA, pp. 59-63.
- Flegg, J.J.M.. (1967). Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting and sieving technique. *Annals of Applied Biology* 60: 429-437.
- Jenkins, W.R. (1964). A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 15: 692.
- McSorley, R. and Pohronezny, K. (1981). A simple bioassay as a supplement to soil extraction for detection of root-knot nematodes. *Proceedings, Soil and Crop Science Society of Florida* 40: 121-123.
- Simon, A. (1980). A plant assay of soil to assess potential damage to wheat by *Heterodera avenae*. *Plant Disease* 64: 917-919.
- Southey, J.F. (1986). Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Her Majesty's Stationery Office, London, UK, 202 pp.
- Viglierchio, D.R. and Schmitt, V. (1983a). On the methodology of nematode extraction from field samples: comparison of methods for soil extraction. *Journal of Nematology* 15: 450-454.
- Viglierchio, D.R. and Schmitt, V. (1983b). On the methodology of nematode extraction from field samples: Baermann funnel modifications. *Journal of Nematology* 15: 438-444.
- Viglierchio, D.R. and Schmitt, V. (1983c). On the methodology of nematode extraction from field samples: density flotation techniques. *Journal of Nematology* 15: 444-449.

Identificación y diagnóstico

- Burrows, P.R. and Perry, R.N. (1988). Two cloned DNA fragments which differentiate *Globodera pallida* from *G. rostochiensis*. *Revue de Nématologie* 11: 441-445.
- Curran, J. and Robinson, M.P. (1993). Molecular aids to nematode diagnosis. In 'Plant Parasitic nematodes in temperate agriculture' (Eds K. Evans, D.L. Trudgill and J.M. Webster). CAB International, Wallingford, UK, pp 545-564.
- Esbenshade, P.R. and Triantaphyllou, A.C. (1990). Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22: 10-15.

- Fargette, M. (1987a). Use of the esterase phenotype in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. 1. Stability of the esterase phenotype. *Revue de Nematologie* 10: 39-43.
- Fargette, M. (1987b). Use of the esterase phenotype in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. 2. Esterase phenotypes observed in West African populations and their characterisation. *Revue de Nematologie* 10: 45-56.
- Hunt, D.J. (1993). Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae. Their systematics and bionomics. CAB International, Wallingford, UK, 352 pp.
- Hyman, B.C. (1990). Molecular diagnosis of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22: 24-30.
- Mai, W.F. and Mullin, P.G. (1996). 'Plant-parasitic nematodes- a pictorial key to genera'. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA. 277 pp.
- Palmer, H.M., Atkinson, H.J. and Perry, R.N. (1991). The use of DNA probes to identify *Ditylenchus dipsaci*. *Revue de Nematologie* 14: 625-628.
- Powers, T.O. & Harris, T.S. (1993). A polymerase chain reaction method for identification of five major *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 25: 1-6.
- Siddiqi, M.R. (1986). 'Tylenchida, Parasites of Plants and Insects'. Commonwealth Institute of Parasitology, CAB, UK. 645 pp.