MANUAL DE NEMATOLOGÍA AGRÍCOLA

Bases y procedimientos

Lopez-Nicora, H. D., Soilán-Duarte, L. C.,
Caballero-Mairesse, G. G., Grabowski-Ocampos, C. J.,
Enciso-Maldonado, G. A.

Asunción - Paraguay
2021

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
CONACYT
PROCIENCIA
PROGRAMA PARAGUAYO PARA EL DESARROLLO DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA
Universidad San Carlos
LÍDERES EN AGRONEGOCIOS
Con el apoyo de:
FEEI
Fondo para la Excelencia de la Educación y la Investigación

AUTORES:
HORACIO LOPEZ-NICORA
LAURA CONCEPCIÓN SOILÁN-DUARTE
GABRIELA GIULIANA CABALLERO-MAIRESSE
CRISTHIAN JAVIER GRABOWSKI-OCAMPOS
GUILLERMO ANDRÉS ENCISO-MALDONADO

COORDINACIÓN OPERATIVA:
MÓNICA CASANUEVA OJEDA

ILUSTRACIONES
LUCAS TADEO CAÑETE MUÑOZ

PRODUCCIÓN FOTOGRÁFICA
VÍCTOR VEGA VELILLA
VERÓNICA BARILARI AMARILLA

REVISIÓN LITERARIA
GRUPO EDITORIAL ATLAS

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN
GRUPO EDITORIAL ATLAS

CONTACTO
Email: clinicavegetal@usc.edu.py
Web: https://www.sancarlos.edu.py/
Teléfono: (59521) 615 500
Dirección: Avda. Alfredo Seiferheld n.º 4889 Asunción – Paraguay
ISBN: 978-99925-273-6-8
DOI: https://doi.org/10.53997/DFXA5914

592.57
LOPm
Lopez Nicora, Horacio
Manual de Nematología Agrícola. --Horacio Lopez Nicora, Laura Concepción Soilán Duarte, Gabriela Giuliana Caballero Mairesse, Cristhian Javier Grabowski Ocampos, Guillermo Andrés Enciso Maldonado.-- Asunción: Grupo Editorial Atlas, 2021.
90 págs.; ilus.; 15 cm x 22 cm.
ISBN: 978-99925-273-6-8
1. Manual de Nematología Agrícola. 2. Nematología. I. Tít.

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA CONACYT
PROCIENCIA
PROGRAMA PARAGUAYO PARA EL DESARROLLO DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA
Universidad San Carlos
LÍDERES EN AGRONEGOCIOS
Con el apoyo de:
Feei
Fondo para la Excelencia de la Educación y la Investigación

Agradecimientos

ESTE MANUAL FUE ELABORADO POR LA UNIVERSIDAD SAN CARLOS - PARAGUAY CON EL APOYO DEL PROGRAMA PROCIENCIA DEL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT) Y EL FONDO PARA LA EXCELENCIA DE LA EDUCACIÓN Y LA INVESTIGACIÓN (FEEI) - PARAGUAY

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
CONACYT

PROCIENCIA
PROGRAMA PARAGUAYO PARA EL DESARROLLO DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Universidad San Carlos
LÍDERES EN AGRONEGOCIOS

Con el apoyo de:
Feei
Fondo para la Excelencia de la Educación y la Investigación

Presentación

La agricultura es un pilar importante para la economía del Paraguay y de muchos países en la región. Uno de los mayores desafíos con el que la agricultura se enfrenta actualmente es generar seguridad alimentaria, para un mundo con una población que no cesa de crecer. Una limitante en la producción de alimentos, muchas veces pasada por alto, es el daño al cultivo ocasionado por patógenos de plantas. Entre estos patógenos, los nematodos fitoparásitos son importantes organismos que causan daños significativos a nuestros cultivos agrícolas, amenazando la productividad y por consiguiente impactando negativamente la economía del productor. Sin embargo, no solamente los nematodos fitoparásitos habitan la rizosfera y el suelo; también existen otros grupos de nematodos como los bacteriófagos, fungívoros, omnívoros, entomopatógenos y predadores que forman parte de la comunidad de nematodos habitantes del suelo. Entender la estructura de estas comunidades nos ayuda a evaluar la salud de nuestros suelos. Por ejemplo, un desbalance en la estructura de estas comunidades podría favorecer a una mayor presencia de nematodos fitoparásitos, provocando daños al cultivo hospedero. La nematología estudia a estos fascinantes animales que pueden ser muy perjudiciales a nuestra agricultura en el caso de los fitoparásitos, beneficiales en el caso de los de vida libre, o utilizados en biocontrol de insectos dañinos en el caso los entomopatógenos.

Sin duda, los nematodos son organismos dignos de admiración y atención por parte de productores, técnicos, e investigadores. Los nematodos siempre van a habitar en nuestros diversos nichos ecológicos, pero la ausencia de una adecuada formación en nematología impedirá que podamos descubrirlos y estudiarlos. El objetivo del este *manual de nematología agrícola*, busca servir de herramienta a productores, técnicos, investigadores, profesores y alumnos, que puedan descubrir el maravilloso universo de los nematodos que habitan nuestros suelos agrícolas. Este manual proporciona las guías y protocolos básicos para el adecuado muestreo, procesamiento, extracción e identificación de nematodos de muestras de suelo y vegetal. Nos enfocamos principalmente en los nematodos fitoparásitos, por dos motivos: 1. La presencia y abundancia de nematodos fitoparásitos en campos agrícolas pueden reducir la producción de nuestros cultivos, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria y la economía de un país predominantemente agrícola; 2. Necesitamos capacitar a más profesionales en el correcto procesamiento de muestras e identificación de nematodos fitoparásitos, pues solamente conociendo el problema se pueden proponer soluciones.

El presente *manual de nematología agrícola* es el resultado del trabajo en conjunto de un excelente equipo de investigadores. Decidimos crear algo que nos ayude y apoye a otros investigadores a capacitar más profesionales en el área de la nematología. Como equipo, pusimos mucha energía e ilusión en la producción de este manual porque estamos comprometidos con la formación de futuros nematólogos y la protección de nuestra producción agrícola. Con el presente manual ofrecemos las herramientas necesarias que permitirán abrir las puertas a un mundo de maravillas poco explorado aún en Paraguay, la *nematología agrícola*.

Horacio Lopez-Nicora, Ph.D.
La Clínica Vegetal, Universidad San Carlos, Asunción PY
Department of Plant Pathology, The Ohio State University, Ohio USA

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA CONACYT
PROCIENCIA
PROGRAMA PARAGUAYO PARA EL DESARROLLO DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA
Universidad San Carlos
LÍDERES EN AGRONEGOCIOS
Con el apoyo de: Feei
Fondo para la Excelencia de la Educación y la Investigación

Prefacio

Un problema fitosanitario creciente en los diferentes rubros agrícolas en el Paraguay es la incidencia de los nematodos. Estos fitoparásitos presentan varios géneros y especies, así como un amplio rango de hospederos, y son de difícil control, por los limitados productos existentes en el mercado.

Un primer paso para manejar y reducir la población de los nematodos fitoparásitos en las parcelas de los agricultores es la realización de un diagnóstico correcto, identificando áreas en las que estén presentes estos organismos, como también a las especies predominantes. En este sentido, se requiere contar con una publicación que aborde el proceso de muestreo y de identificación de nematodos.

El presente material contiene conceptos básicos de nematología, características morfológicas de los nematodos, protocolos de muestreo, métodos de extracción de nematodos, al igual que información sobre los principales fitonematodos y su manejo.

El material se elaboró teniendo como base literatura especializada, buscando presentar las diferentes informaciones de manera didáctica, y que sea de fácil entendimiento para estudiantes, técnicos, productores e investigadores de las carreras de ciencias agrarias, profesionales de campo y laboratorio.

Prof. Ing. Agr. M. Sc. Laura C. Soilán Duarte
Docente investigadora de la Facultad de Ciencias Agrarias,
Universidad Nacional de Asunción

Índice

Agradecimientos 3

Presentación 5

Prefacio 7

Autores 13

1. Introducción 15

2. Anatomía y morfología de fitonematodos 16

3. Biología de los fitonematodos 21

3.1. Tipos de parasitismo 23

4. Síntomas y/o indicios del ataque de nematodos 24

4.1. Síntomas aéreos 25

4.2. Síntomas subterráneos 26

5. Muestreo 28

5.1. Materiales necesarios para el muestreo 28

5.2. Protocolo de muestreo 28

6. Extracción de nematodos 34

6.1. Extracción de nematodos vermiformes del suelo 35

6.1.1. Embudo de Baermann (Baermann 1917) 35

6.1.2. Decantación, tamizado y embudo de Baermann 36

6.1.3. Flotación Centrífuga en Solución de Sacarosa modificada de Jenkins (1964) 37

6.1.4. Descripción del método 37

6.1.4.1. Método Embudo de Baermann para lo colectado en los tamices 20 y 60 mesh 44

6.1.5. Extracción de quistes de *Heterodera glycines* a partir de suelo seco (Shepherd 1970) 46

6.1.6. Extracción de quistes de *Heterodera glycines* a partir de suelo húmedo: método de sacarosa densa (Dunn 1969) 46
6.2. Extracción de nematodos de las raíces 47
6.2.1. Método de Embudo de Baermann (1917) 47
6.2.2. Método de Coolen y D'Herde (1972) 50
6.2.3. Extracción de huevos de *Meloidogyne* a partir de raíces infectadas (modificado de Hussey y Barker 1973) 50
6.2.4. Extracción de hembras de *Meloidogyne* directamente de las raíces (Taylor y Netscher 1974) 54
6.3. Extracción de nematodos de partes aéreas de plantas 54
6.3.1. Método de burbujeamiento de aire en agua (Oliveira et al. 2016) 54
6.3.2. Método de Incubación de tejidos modificado 55
7. Principales géneros de nematodos fitoparásitos 55
7.1. *Meloidogyne* - Nematodo de la agalla 55
7.2. *Globodera* - Nematodo del quiste redondo 58
7.3. *Heterodera* - Nematodo del quiste 58
7.4. *Pratylenchus* - Nematodo de lesiones radiculares 59
7.5. *Radopholus* - Nematodo barrenador 61
7.6. *Ditylenchus* - Nematodo de los bulbos 61
7.7. *Rotylenchulus* - Nematodo reniforme 62
7.8. *Xiphinema* - Nematodo daga 64
7.9. *Nacobbus* - Falso agallador 65
7.10. *Aphelenchoides* 66
8. Nematodos secundarios 67
9. Morfología y anatomía para fácil identificación bajo el microscopio 71
9.1. *Meloidogyne* 71
9.2. *Globodera* y *Heterodera* 71
9.3. *Pratylenchus* 72
9.4. *Radopholus* 72
9.5. *Ditylenchus* 72

9.6. *Rotylenchulus* 72
9.7. *Xiphinema* 73
9.8. *Nacobbus* 73
9.9. *Aphelenchoides* 73
9.10. *Tylenchorhynchus* 74
9.11. *Trichodorus* 74
9.12. *Hoplolaimus* 74
9.13. *Helicotylenchus* 74
9.14. *Scutellonema* 75
9.15. *Criconemella* 75
9.16. *Hemicycliophora* 75

10. Manejo de fitonematodos 77
10.1. Prácticas culturales 77
10.2. Método físico 78
10.3. Control biológico 79
10.4. Aplicación de compuestos orgánicos 81
10.5. Control químico 82

11. Referencias bibliográficas 83

Autores

Horacio D. Lopez-Nicora, Ph.D. es profesor asistente de enfermedades en soja y nematología en The Ohio State University, profesor adjunto en la Universidad San Carlos, Paraguay y la Universidad de Caldas, Colombia. Su investigación se centra en la fitopatología y nematología de cultivos de campo y el manejo de enfermedades de las plantas.

lopez-nicora.1@osu.edu

Laura Concepción Soilán Duarte, Ing. Agr. M. Sc. es especialista en fitosanidad con énfasis en nematodos fitoparásitos. Encargada del Laboratorio de Fitopatología del Área Protección Vegetal. Docente investigadora de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción.

lsoilan@agr.una.py

Gabriela Giuliana Caballero Mairesse, Ing. Agr. es analista de laboratorio e investigadora en formación en la Clínica Vegetal de la Universidad San Carlos. Investigadora del Centro de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT). Sus investigaciones se centran en el área de la fitopatología y nematología.

gabicmairesse@gmail.com

Cristhian Javier Grabowski Ocampos, Ing. Agr. D. Sc. es especialista en fitobacteriología y control biológico de enfermedades de plantas. Docente Investigador en el Área de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción.

cgrabowski@agr.una.py

Guillermo Andrés Enciso Maldonado, Ing. Agr. M. Sc. es Vice-director de la Clínica Vegetal de la Universidad San Carlos, Investigador del Centro de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT), sus trabajos están orientados en el manejo sustentable de fungicidas y en la resistencia genética de plantas.

guillermo.enciso@usc.edu.py

1. Introducción

Los nematodos son organismos pluricelulares de tamaño microscópico. Existen dos grupos de nematodos, los de vida libre y los fitoparásitos.

Los nematodos de vida libre son aquellos que completan su ciclo de vida fuera de un hospedero, comprenden el mayor grupo del Phylum Nematoda, la mayoría son benéficos y algunos se utilizan en el control biológico. Por otro lado, los nematodos fitoparásitos dependen de las plantas para completar su ciclo de vida, pudiendo causar daños considerables en diferentes cultivos.

Los nematodos fitoparásitos habitan en la capa arable del suelo (mayor abundancia en los primeros 30 cm de profundidad) y producen daños directos causando lesiones a las raíces que se reflejan como marchitamiento o amarillamiento (clorosis) en la parte aérea de la planta **(Figura 1)**, e indirectos transmitiendo virosis. Normalmente, los síntomas causados por nematodos pueden confundirse con síntomas provocados por otros patógenos (hongos, bacterias, virus) o deficiencias nutricionales.

Uno de los criterios para el diagnóstico correcto es detectar áreas infestadas para realizar el muestreo y colectar muestras. Además, es importante conocer los hábitos o el tipo de parasitismo de los individuos para poder seleccionar el método adecuado de extracción de nematodos, considerando la taxonomía o los tipos de nematodos y el material del que serán extraídos. Por ello, es de suma importancia realizar protocolos de muestreo y extracción con el fin de facilitar el trabajo de diagnóstico.

Figura 1. Síntomas reflejos en plantas atacadas por nematodos.

2. Anatomía y morfología de fitonematodos

Los nematodos son organismos que pertenecen al reino animal, tienen aspecto vermiforme y son de tamaño muy reducido. En general, tienen forma de gusano y con un corte transversal se ven redondos, presentan cuerpo liso, no segmentado y carecen de patas u otros apéndices. Los nematodos que se alimentan de plantas vivas producen una gran variedad de enfermedades (Agrios 2005).

Los fitonematodos son organismos alargados, no segmentados, generalmente de tamaño microscópico (0,25 mm a >1,0 mm de longitud y 15 a 50 µm de ancho), de organización muy compleja y se alimentan de células vegetales vivas (Oliveira et al. 2016). En general, los machos y las hembras son morfológicamente semejantes, diferenciándose en las estructuras de reproducción. Sin embargo, en algunas especies, las hembras pueden tener un mayor desarrollo (Ej. Hembra de *Meloidogyne incognita*) (Grassi et al. 2009).

El **cuerpo** de los nematodos está formado por una pared externa que limita la cavidad interna; la cavidad general del cuerpo es llamada **pseudoceloma**, que se diferencia del celoma por no estar internamente revestida por tejidos de origen mesodérmico (Ferraz et al. 2012).

El pseudoceloma contiene un líquido, llamado fluido pseudocelómico, donde los diversos aparatos y sistemas, incluyendo a los órganos (esófago, intestino, ovario y *testis*), están inmersos, es altamente complejo en su composición y, por estar sobre presión, funciona como esqueleto hidrostático (Ferraz et al. 2012).

La **pared** del cuerpo está constituida por **cutícula**, **hipodermis** y **células musculares**. La **cutícula** es un revestimiento compuesto por sustancias orgánicas (no celulares), principalmente por proteínas, consta de varias camadas distintas, transparente, flexible, puede ser lisa, con estrías transversales (anilladas) y longitudinales, y es secretada por la hipodermis. Esta estructura confiere resistencia a las condiciones adversas del medio.

La **hipodermis** se encuentra por debajo de la cutícula y consiste en una camada formada de células distintas. Es responsable de la síntesis de la cutícula durante la ecdi-

sis; también funciona como reservorio de nutrientes, como lípidos y glicógeno. La hipodermis forma cuatro cordones a lo largo del cuerpo del nematodo, conocidos como cuerdas longitudinales (dos laterales, una ventral y una dorsal) por donde pasan los ejes nerviosos.

Dichas cuerdas dividen la superficie interna de la hipodermis en cuatro campos. Además, la pared del cuerpo también está compuesta por **células musculares**, situadas en la parte inferior de los campos formados por las cuerdas longitudinales. Estas son grandes y alargadas y se extienden en el sentido del largo del cuerpo de los nematodos y son esenciales para su movimiento.

El **aparato digestivo** es un tubo que se extiende desde la abertura localizada en la extremidad anterior del cuerpo hasta el ano, situado en la posición subterminal ventral. La abertura oral es rodeada por labios, generalmente seis o menos. La cavidad bucal, o estoma, presenta variaciones en la forma; en el caso de fitonematodos, se encuentra sustituida por un estilete. El estilete es un órgano alargado y hueco, semejante a una aguja de inyección, adaptado para perforar células y retirar nutrientes de las plantas. Los dos tipos más comunes de estilete son odontoestilete y estomatoestilete (Grassi et al. 2009). En el aparato digestivo se encuentran los siguientes órganos:

- El esófago, cuyo lumen está conectado por el canal del estilete, es un órgano de forma variable entre los fitonematodos. El tipo más común es Tilencoide y posee cuatro regiones diferentes:

  Procuerpo: región anterior alargada del esófago, que está ligada a la cavidad bucal, el estilete y al metacuerpo.

  Metacuerpo o bulbo medio: estructura esferoidal, muscular, que funciona de forma semejante a una bomba de succión y compresión. Por medio de una pulsación muy rápida, permite en las plantas la inyección de sustancias producidas por los nematodos y la retirada de los alimentos para su sustento.

  Itsmo: región delgada y corta del esófago.

  Bulbo basal: porción terminal donde están alojadas tres glándulas, una dorsal y dos subventrales. El ducto de la glándula dorsal se abre en el lumen del esófago, próximo al estilete, y en el metacuerpo. Las sustan-

cias producidas por el bulbo basal, una vez introducidas en las plantas, pueden provocar alteraciones fisiológicas bastante pronunciadas. Un ejemplo de esto es la formación de agallas causadas por nematodos del género *Meloidogyne*. Sin embargo, en el caso de los nematodos *Xiphinema*, *Longidorus*, *Trichodorus*, entre otros, el esófago es diferente y posee dos partes; una anterior delgada y otra posterior dilatada. La **cardia** es un conjunto de células que forman una válvula, la cual se encuentra entre el esófago y el intestino, que impide la regurgitación de los alimentos (Ferraz et al. 2012).

El **intestino** es un tubo hueco cuya pared está formada por una camada única de células cuboides con proyecciones filamentosas que aumentan la superficie para la absorción de nutrientes. El **recto** es un tubo corto y delgado, que conecta el intestino y el ano, en el caso de las hembras, y se denomina **cloaca** en los machos.

Los **aparatos respiratorio y circulatorio** no existen como tales en los nematodos. El intercambio de gases se realiza directamente a través de la cutícula, mientras que el líquido pseudocelómico, además de funcionar como esqueleto hidrostático, es responsable de la circulación de las sustancias internas (Chen et al. 2003).

Los nematodos tienen dos tipos de **sistema excretor**: glandular y tubular. El primero es más primitivo y consiste en una glándula ventral conectada por un conducto a un poro ventral, cuya parte terminal está revestida por una cutícula. Mientras que el sistema excretor tubular es más complejo y consiste en una celda en forma de H con canales longitudinales que se unen por un conducto transversal al poro excretor (Chen et al. 2003).

El **sistema nervioso** central está constituido por un anillo nervioso que rodea al istmo del esófago, y rara vez al intestino. Este anillo se conecta a varios ganglios y nervios longitudinales que parten hacia la región anterior del cuerpo, donde se encuentran las papilas, que son pequeñas proyecciones con función táctil, y los anfidios, los cuales son órganos receptores de estímulos químicos. Ambos órga-

nos se exteriorizan por pequeños poros y hendiduras, próximos a la región labial, y también liberan secreciones glandulares. Los fasmidios son dos órganos localizados en la región posterior del cuerpo, uno de cada lado, y también cumplen una función quimiorreceptora (Grassi et al. 2009).

En la mayoría de las especies de nematodos los sexos son separados. Las hembras son fáciles de identificar debido a que presentan una estructura denominada vulva como órgano genital, mientras que los machos presentan espículas. Además, los machos son generalmente de menor tamaño que las hembras **(Figura 2)**.

El **sistema reproductivo** de la hembra consta de un ovario, donde se forman los oocitos y el oviducto, el cual es un tubo que conecta el ovario y el útero. Entre el oviducto y el útero puede existir una espermateca, donde los espermatozoides son almacenados; cuando los óvulos pasan por esta área son fertilizados. La fertilización del ovario da como resultado la generación de huevos, los cuales permanecen en el útero hasta que la hembra los libere. Los huevos pueden ser depositados de manera individual o en masa (Ferraz et al. 2012).

Las hembras pueden ser monodelfas y didelfas cuando tienen uno o dos ovarios, respectivamente. En cuanto a la posición del ovario con relación a la vulva, las hembras pueden ser prodelfas (ovario anterior a la vulva), opistodelfas (ovario posterior a la vulva) y anfidelfas (un ovario anterior y otro posterior a la vulva) (Grassi et al. 2009).

El aparato reproductor masculino está compuesto por el *testis*[1], vaso deferente y canal eyaculador. El *testis* es responsable de la producción de los espermatozoides. Los espermatozoides pueden ser alargados, esferoides, discoidales y conoides, no presentan flagelos, su movimiento es ameboide y se almacenan en la vesícula seminal. A lo largo del *testis* se forma el vaso deferente, que se estrecha formando el canal eyaculador. Este se abre en el recto, formando la cloaca. En la cloaca se encuentran los órganos de la cópula: las espículas, el gobernáculo y las asas caudales o bursa. Las espículas son órganos pares cortos, esclerotizados y móviles. El gobernáculo es una modificación de la cutícula que guía a las espículas hacia la cloaca.

[1] Órgano productor de espermatoziodes.

Las asas caudales son extensiones de la cutícula, dispuestas a los dos lados del cuerpo y sirven para mantener a la hembra en la posición adecuada durante la cópula, pudiendo estar ausentes en algunas especies de nematodos. Los machos pueden ser clasificados en monorquios cuando poseen un *testis* y diorquios cuando presentan dos *testis*.

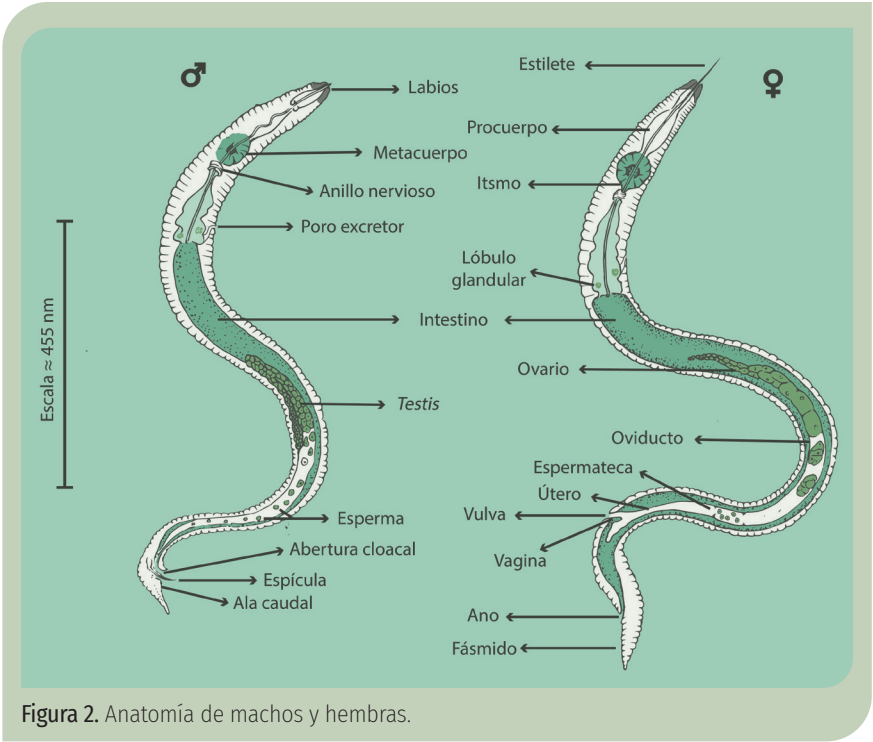


Figura 2. Anatomía de machos y hembras.

3. Biología de los fitonematodos

Los nematodos suelen tener un estadio de huevo, cuatro estadios juveniles y el macho y la hembra adultos **(Figura 3.1.)**. Sin embargo, en algunas especies del género *Xiphinema* (Longidoridade) se pueden reconocer tres estadios juveniles, hecho que probablemente ocurra en otros taxones. Las diversas etapas biológicas están separadas por ecdisis, durante las cuales se produce una nueva cutícula que sustituye a la anterior, también se reemplaza el revestimiento cuticular de los órganos que se originan en el ectodermo como el estilete bucal (Ferraz y Brown 2016).

El primer estadio juvenil se desarrolla dentro del huevo. Cuando el huevo eclosiona, emerge J2 (juvenil 2), estadio considerado infectivo, posteriormente pasa por J3 y J4. Luego, el nematodo se vuelve adulto (macho o hembra). Sin embargo, los juveniles y hembras de los géneros

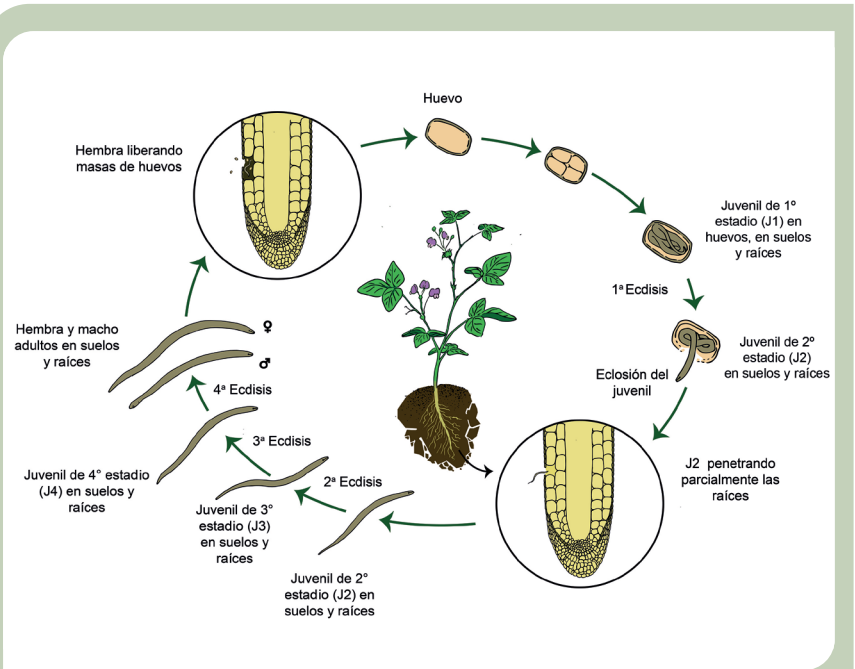


Figura 3.1. Ciclo de vida de *Pratylenchus brachyurus* en soja.

Globodera, *Heterodera* y *Meloidogyne* se convierten en sedentarios y cambian de forma volviéndose obesas, mientras que los juveniles masculinos, cuando llegan al estadio J4, cambian de ecdisis y recuperan su forma filiforme convirtiéndose en machos adultos (Figura 3.2.). La duración del ciclo de vida de los nematodos depende de las especies y de las condiciones ambientales (Ferraz y Brown 2016).

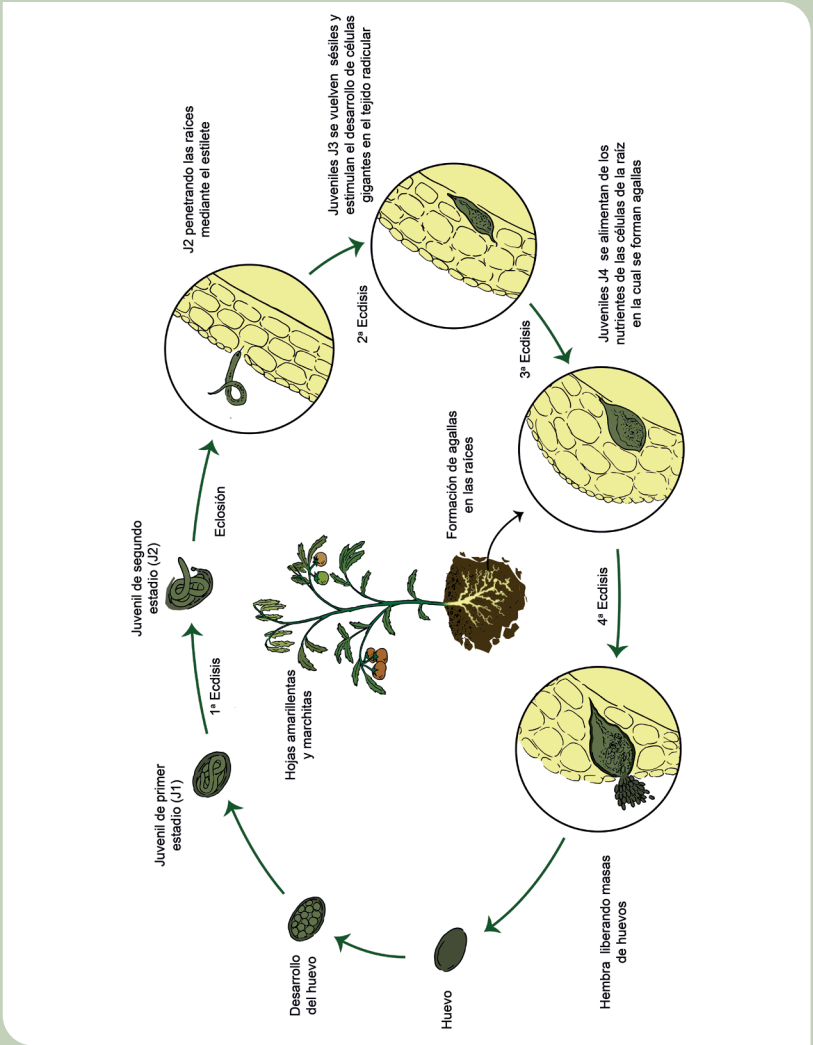


Figura 3.2. Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. en tomate.

3.1. Tipos de parasitismo

El 15 % de las especies son consideradas nematodos parásitos obligados de vegetales, incluyendo a los órdenes Aphelenchida, Tylenchida, Dorylaimida y Triplonchida.

Algunos nematodos fitoparásitos se localizan en las yemas, en los tallos y en las hojas, pero la mayoría se aloja y alimenta en las raíces u otros órganos subterráneos. De acuerdo con Coyne et al. (2009), los nematodos se clasifican según el tipo de parasitismo en endoparásitos migratorios o sedentarios y ectoparásitos.

En el caso de los nematodos **endoparásitos migratorios** todos sus estadios son móviles, menos el huevo; de esta forma su alimentación está dada dentro del tejido radicular. Luego de la perforación del tejido vegetal estos nematodos se desplazan de una célula a otra, pudiendo ocurrir el abandono de este tejido para ir a nuevos sitios de alimentación. En el tejido cortical de la planta son colocados los huevos en cuanto se alimentan, pudiendo ser depositados también en el suelo alrededor de la raíz.

Luego del daño celular, ocurre la liberación de toxinas por parte de las células afectadas ocasionando la muerte de otras células que están a su alrededor, produciendo manchas o lesiones necróticas. A menudo, la zona del tejido por donde penetran los nematodos migratorios da lugar a la infección de hongos y bacterias que producen podredumbre de las raíces.

Por otro lado, los **endoparásitos sedentarios** son nematodos que, una vez alcanzado el sitio de alimentación dentro de la planta, dejan de moverse y se alimentan desde un sitio fijo. Los juveniles J2 corresponden al estadio infectivo, ya que luego de movilizarse entre las partículas del suelo llegan a las raíces y habitualmente las penetran e invaden, definiendo un sitio de alimentación. La hembra se desarrolla en dicho sitio, en cuanto que su cuerpo se va hinchando y tomando una forma esférica, de limón, riñón u ovoide, perdurando allí durante todo su ciclo de vida. Consecuentemente, estos nematodos causan quistes y agallas inducidas en el hospedero por las “células alimenticias gigantes”.

Las hembras tienen la particularidad de producir un elevado número de huevos. En el caso de

la hembra del nematodo del quiste (*Heterodera* spp.), estos se mantienen en el interior de su cuerpo, si bien en el nematodo de las agallas (*Meloidogyne* spp.) pueden acumularse en masas de huevos unidas a su cuerpo.

Sin embargo, los machos no cambian su forma, son vermiformes durante todo su ciclo, mueren en el suelo luego de fecundar o no a las hembras en el corto periodo que estuvieron en el tejido superficial de las raíces de las cuales se alimentaron.

Se pueden nombrar algunos individuos **semiendoparásitos**, que de forma parcial se encuentran dentro del tejido radicular, como por ejemplo el nematodo reniforme (*Rotylenchulus* spp.) y el de los cítricos (*Tylenchulus semipenetrans*).

Por último, los nematodos **ectoparásitos** se alimentan de la planta desde el exterior sin invadirla. Para ello, utilizan el estilete para perforar las células vegetales; cuanto más largo es el estilete, más profundamente puede alimentarse dentro de los tejidos de la planta. La mayoría de las especies ectoparásitas permanecen móviles, mientras que otras se adhieren permanentemente a la raíz por el estilete profundamente incrustado.

4. Síntomas y/o indicios del ataque de nematodos

En las parcelas de producción los daños ocasionados por los fitonematodos se pueden observar a simple vista, debido a la formación de manchones generalmente con forma irregular, en donde las plantas presentan un menor crecimiento y desarrollo empobrecido (Talavera 2003).

Uno de los desafíos del diagnóstico de nematodos fitoparásitos es la producción de síntomas o daños inespecíficos. **Los síntomas varían según:** el tipo de parasitismo del nematodo, la relación parásito-hospedero, la edad de la planta y su fisiología. Manifestándose a través de síntomas en la parte aérea **(Figuras 4)** y en las raíces de las plantas **(Figuras 5, 6 y 7).**

4.1. Síntomas aéreos

- Formación de agallas, o hinchamiento anormal de las semillas hojas.
- Estrías en las hojas, decoloración de las hojas.
- Hinchamiento, crecimiento arrugado o desorganizado del tejido.
- Necrosis interna del tallo manifestándose por un anillo rojo.
- Necrosis de las inflorescencias.
- Clorosis/pardeado de las hojas (agujas de los pinos) y muerte eventual de los árboles (Coyne et al. 2009).

Figura 4. Síntomas de marchitez y plantas subdesarrolladas a causa de nematodos.

4.2. Síntomas subterráneos

- Formación de agallas.
- Formación de quistes, dando lugar a la raíz "perlada".
- Engrosamiento y achaparramiento de las raíces.
- Escasez de raíces.
- Lesiones en las raíces.
- Necrosis en las raíces o tubérculos, podredumbre o muerte.
- Agrietado de las raíces o tubérculos.
- Deformación de raíces.
- Alteración de la arquitectura de la raíz (Coyne et al. 2009).

Además de causar daños diversos en las plantas, los nematodos participan en complejos de enfermedades de diferentes maneras, ya que pueden favorecer el desarrollo de patógenos, abriéndoles puertas de entrada y modificando la rizósfera, pudiendo ser vectores de virus y también alterar la susceptibilidad del hospedero, lo que consecuentemente causa una senescencia prematura.

Figura 5. Formación de agallas en zanahorias.

Figura 6. Formación de agallas en raíces de pepino.

Figura 7. Formación de agallas en raíces de tomate.

5. Muestreo

Para un diagnóstico más preciso es fundamental realizar un correcto muestreo de suelo y raíces que permita una representación confiable de la situación de la parcela con relación a la distribución y abundancia de los nematodos identificados. De esta manera, se podrán tomar medidas que permitan un manejo eficiente y sostenible.

El muestreo inicia con el monitoreo de la parcela. Cuando se detecten síntomas que indiquen la presencia o infestación de nematodos (como manchones irregulares con plantas marchitas o débiles), se deben tomar muestras de las plantas afectadas y del suelo alrededor de las raíces. Estas muestras deben remitirse al laboratorio en donde se realizará la extracción de nematodos, su posterior identificación a nivel de género y la determinación de la población de los mismos.

Se debe registrar la mayor cantidad de información del área de muestreo debido a que esta puede complementar el diagnóstico. Esta información consiste en:

- Antecedentes de la parcela
- Tipo de cultivo e historial del mismo
- Áreas plantadas con diferentes variedades
- Estados fenológicos de la planta
- Tipo de suelo
- Compactación del suelo
- Humedad del suelo
- Temperatura y cambios estacionales

5.1. Materiales necesarios para el muestreo

- Pala o palita de jardinería
- Barreno
- Balde
- Bolsas de plástico
- Pinceles indelebles
- Conservadoras o cajas de isopor
- Cepillos de cerdas duras

5.2. Protocolo de muestreo

- **Época de muestreo**

La época de muestreo más recomendable dependerá de la etapa de producción en la que se encuentre. Si la intención es hacer un muestreo

predictivo, este debe realizarse antes de sembrar o plantar un cultivo o al finalizar el ciclo del cultivo precedente.

Con fines de diagnóstico, para cultivos anuales, se recomienda muestrear durante el periodo de floración y/o al finalizar el ciclo del cultivo, es decir, en el periodo de cosecha. Sin embargo, el muestreo en cultivos perennes debe realizarse en el periodo de mayor crecimiento vegetativo y emisión de raíces, coincidiendo en temporadas lluviosas.

- **Planificación del muestreo**

Es recomendable identificar sectores del lote o parcela que presenten plantas visiblemente sanas y otras, poco desarrolladas o con las hojas amarillentas. Luego, dependiendo de la extensión del terreno, se lo puede dividir en zonas o lotes que presenten características homogéneas separándolas de acuerdo al tipo de suelo, topografía, tipo de cultivo, tratamientos a evaluar, etcétera **(Figura 8).**

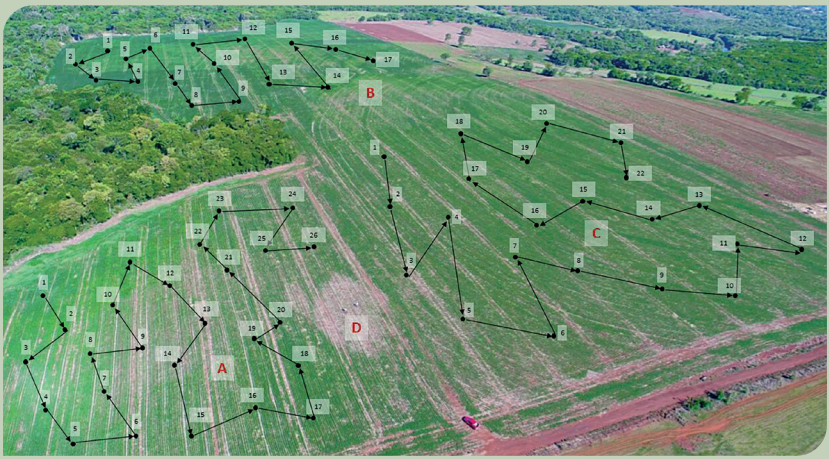


Figura 8. Toma de muestras de suelo en campos de producción. El recorrido de muestreo debe ser en forma de zig-zag de tal forma que se cubra toda la superficie, y el terreno debe dividirse en áreas homogéneas de entre 10 a 50 ha. Cortesía: Ing. Agr. Diego Bonussi.

- **Recolección de muestras**

Con el auxilio de un barreno, pala o, incluso, palita de jardinería, realizar la colecta de muestras de suelo de forma aleatoria y en zigzag **(Figuras 8, 9 y 10)**, a una profundidad de 0 a 20-30 cm; para cultivos perennes, la profundidad de muestreo puede ser mayor. Los puntos de muestreo tienen que estar bien dispersos unos de otros, como a unos 20 pasos de distancia.

Figura 9. La toma de muestras dentro de una parcela debe realizarse en zig-zag con la finalidad de cubrir la mayor cantidad de puntos dentro del área de muestreo.

Cada muestra final estará formada por submuestras; por lo general, se recomiendan 10 a 30 submuestras por hectárea. Con un mayor número de submuestras se tendrá una mejor representación de la población de nematodos en la parcela. Cada muestra debe contener alrededor de 1 a 2 kg de suelo. Se pueden tomar submuestras del sector de la rizósfera de las plantas (zona en donde se encuentran las raíces principales y secundarias de las plantas), de esta forma, se obtendrán muestras que contengan suelo y raicillas.

Un aspecto para considerar es que los nematodos pueden distribuirse de manera irregular en el suelo, y dicha distribución, algunas veces, puede ser observada a simple vista debido a la formación de manchones, los cuales son sectores del terreno donde las plantas poseen menor crecimiento y un amarillamiento de las hojas. Se recomienda que los puntos de colecta no sean localizados dentro de estos manchones y sí en sus bordes, ya que una colecta dirigida a estos o a solo plantas sintomáticas puede llevar a resultados contradictorios o dudosos **(Figura 10)**.

La calidad de las muestras es fundamental, por lo que las muestras de suelo no pueden estar encharcadas o muy secas; se requiere que tengan su humedad natural.

Las submuestras de cada muestra se depositan en el balde o recipiente limpio y seco, luego se mezcla hasta obtener una muestra homogénea, después se debe tomar la cantidad requerida (1 a 2 kg) y colocarla en las bolsas plásticas correspondientes. Se

recomienda limpiar las herramientas utilizadas en la extracción, entre una muestra y otra, para evitar contaminaciones. Estas bolsas se deben etiquetar e identificar correctamente con el mayor número de datos que sean importantes como el nombre de la muestra, nombre del productor, distrito, ciudad, departamento, coordenadas, cultivo y variedad, cultivo precedente y siguiente, superficie muestreada, descripción de los síntomas y su distribución, textura del suelo, profundidad, frecuencia de riego y/o lluvia, tratamientos con fertilizantes, fitosanitarios y respuesta obtenida, entre otros **(Figuras 11, 12 y 13)**.

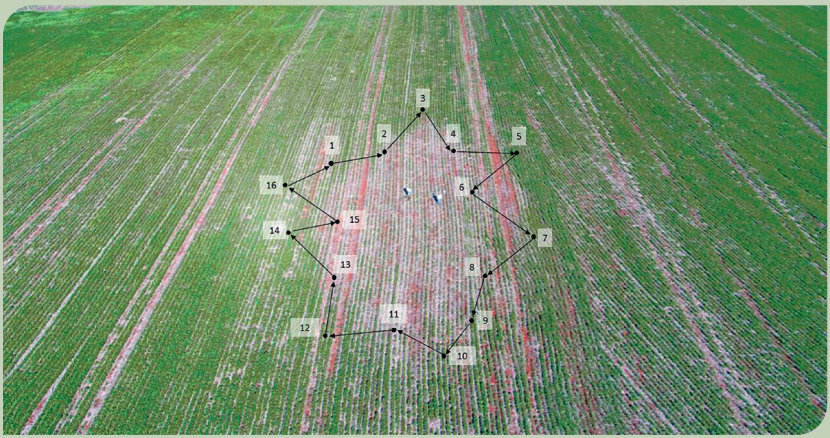


Figura 10. En los manchones se deben tomar muestras en los bordes del manchón, muestreando dentro y fuera del recorrido en zig-zag. Cortesía: Ing. Agr. Diego Bonussi.

Figura 11. Herramientas para la toma de muestra de suelo.

Figura 12. Toma de muestra de suelo con pala.

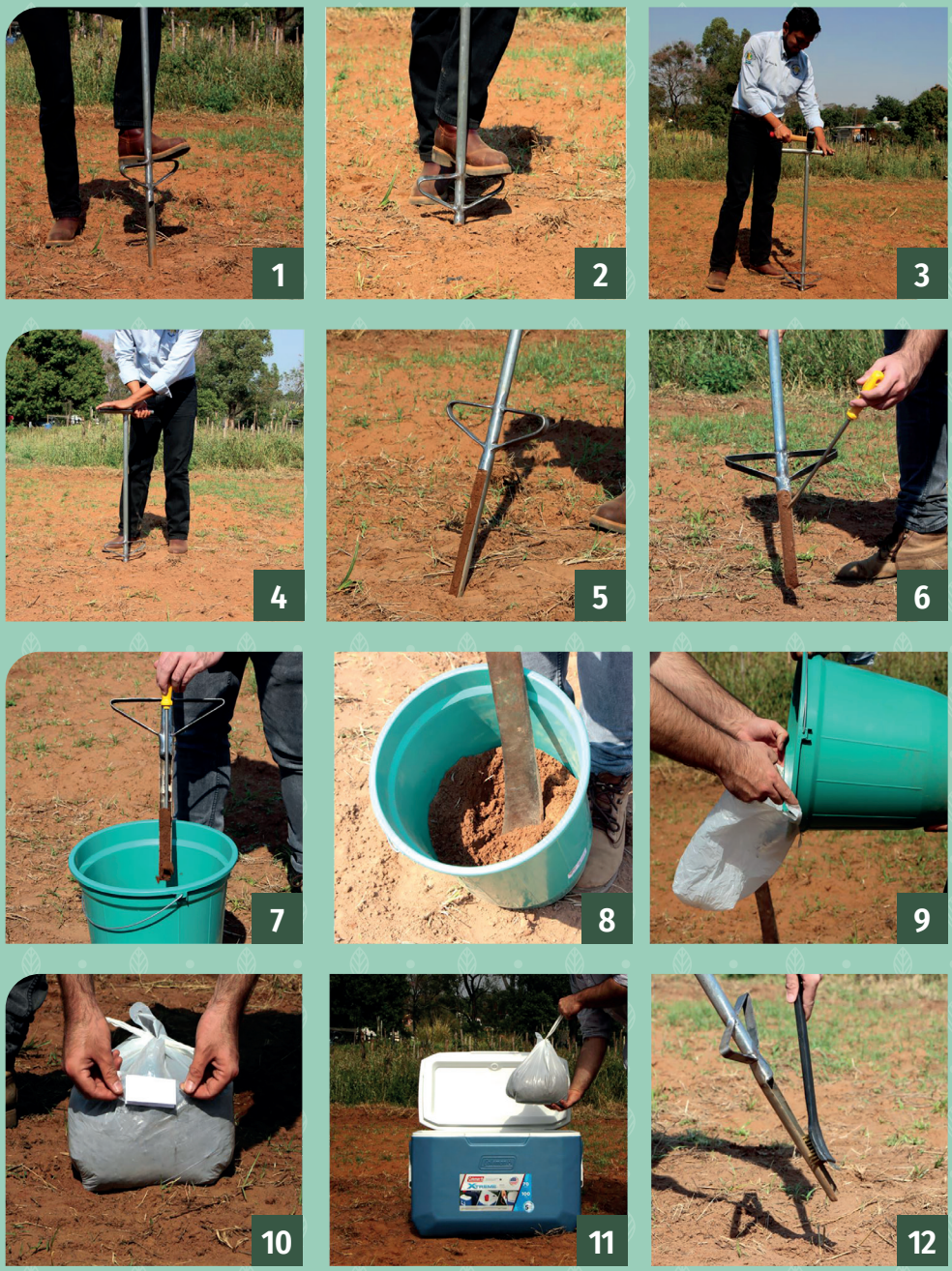


Figura 13. Toma de muestra de suelo con barreno.

- **Conservación de las muestras**

Las bolsas plásticas conteniendo las muestras se almacenan en conservadoras o cajas de isopor **(Figuras 12 y 13)**, a fin de que se mantengan frescas, protegiéndolas de las altas temperaturas y de la exposición a la luz solar, para así enviarlas lo más pronto posible al laboratorio de análisis.

En el caso de que el envío no sea inmediato, las muestras se pueden almacenar en la parte inferior de una heladera, nunca en el congelador, pudiendo almacenarse por 4 a 5 días en estas condiciones.

6. Extracción de nematodos

Existen varios métodos de extracción de nematodos a partir del suelo y del material vegetal. La eficiencia de cada método depende del tipo de material vegetal del cual se extraiga, mientras que otros métodos son más utilizados por su practicidad, costo, tiempo y eficiencia (Alfenas y Mafia 2016).

Los tamices son utilizados en varios métodos de extracción de nematodos con diferentes diámetros de abertura de malla, según su propósito. Los tamices se clasifican según el número de aberturas por pulgada lineal de la malla (mesh) o por el diámetro de la abertura de la malla del tamiz en milímetros o micrómetros. En la **Tabla 1** se muestra la relación entre mesh a milímetros de abertura de la malla de los tamices más comúnmente utilizados en nematología agrícola.

Tabla 1. Relación del tamaño de abertura de las mallas de los tamices entre mesh y mm.

Mesh	mm
20	0,840
60	0,250
80	0,177
100	0,150
200	0,074
325	0,044
400	0,037
500	0,025

6.1. Extracción de nematodos vermiformes del suelo

Los métodos más utilizados en la extracción de nematodos del suelo son el embudo de Baermann y sus modificaciones, la decantación y el tamizado asociado al embudo y el método de flotación centrífuga en suspensión de sacarosa. La extracción de especies poco móviles, como *Mesocriconema* sp., o de fases inmóviles, como quistes de *Heterodera* spp., así como de nematodos muy largos como *Longidorus* sp., por el embudo de Baermann es ineficiente. Por lo que se deben adoptar métodos como la flotación centrífuga en solución sacarosa, que son independientes al movimiento o al tamaño del nematodo, para la extracción (Alfenas y Mafia 2016).

6.1.1. Embudo de Baermann (Baermann 1917)

- **Materiales necesarios:**
  - Soporte para embudo
  - Malla plástica
  - Papel absorbente
  - Suelo o material vegetal (muestra)
  - Agua
  - Embudo
  - Manguera de goma
  - Pinza
  - Vaso de precipitados o recipiente
- **Principio:** Este método se basa en el movimiento de los nematodos asociado a la acción de la gravedad. El agua del embudo en contacto con el suelo es absorbida por capilaridad, y los nematodos inmersos en el agua descienden debido a que son más densos, pasan por los poros de la toalla de papel y se depositan en la base del vástago del embudo hasta que se recogen después de 24 a 48 h.
- **Ventajas:** Barato, sencillo y la suspensión de nematodos obtenida es limpia.
- **Desventajas:** No recupera nematodos inmóviles, muertos o poco activos; la falta de aireación puede ser un problema en la calidad de los nematodos; y la temperatura puede influenciar la actividad de los mismos, afectando la eficiencia de la extracción.
- **Descripción del método:** Se prepara el embudo, encajando la manguera de goma en la parte inferior del vástago, y se coloca la

pinza en su extremo para cerrarla. Montar el embudo en el soporte y cargar agua en su interior, casi llenándolo. Colocar una porción de papel absorbente sobre el colador o rejilla y depositar encima la muestra de 50 cm^3 de suelo. Completar con agua hasta que cubra la muestra y taparlo con algún elemento que se tenga a disposición que pueda prevenir la evaporación. Luego de 24 a 48 h se recoge el contenido líquido del embudo, sacando la pinza y liberándolo en un vaso precipitado.

6.1.2. Decantación, tamizado y embudo de Baermann

- **Materiales necesarios:**
  - Mismos materiales utilizados en el método del embudo de Baermann
  - Balde
  - Tamiz de 400 mesh
  - Piseta
- **Principio:** Agitación y decantación de piedras y arena, tamizado para separar partículas muy finas de arcilla, para reducir el volumen de suelo a ser recorrido por los nematodos. El embudo de Baermann ocurre por el estímulo del movimiento de estos animales asociado a la acción de gravedad, los nematodos pasan por el filtro de papel y caen en el embudo, siendo recolectados después de 24 a 48 horas.
- **Descripción del método:**
  - Colocar 100 cm^3 de la muestra de suelo en un balde con 2 L de capacidad y agregar agua de grifo hasta la mitad. Homogeneizar la suspensión con las manos o con un agitador mecánico liberando los nematodos en la suspensión, agitando en dirección circular. Se esperan aproximadamente 20 s para que la arena y las piedras se depositen en el fondo del balde.
  - Verter la suspensión de suelo y nematodos sobre un tamiz 20 mesh acoplado sobre otro de 400 mesh para eliminar el exceso de agua y retener el material orgánico como hojas y raíces, tener cuidado de no verter el suelo que se encuentra en el fondo del balde.
  - Con la ayuda de una piseta con chorros fuertes de agua, se recoge la suspensión de nematodos que se encuentran en el tamiz de 400 mesh en un recipiente o un vaso de precipitados.
  - El contenido recogido es depositado en un embudo, los

nematodos se obtienen sin las impurezas del suelo después de 24 a 48 horas.

6.1.3. Flotación Centrífuga en Solución de Sacarosa modificada de Jenkins (1964)

Este método es el más utilizado mundialmente en los Laboratorios de Nematología por su rapidez y eficiencia (Figura 14).

- **Materiales necesarios:**
  - Tamices de 20, 60, 100 y 400 mesh
  - Vasos precipitados de plástico con capacidad de 1 L
  - Balde con capacidad de 2 a 5 L
  - Cucharas, espátulas
  - Tubos de 50 ml
  - Pipetas de 50 ml
  - Centrífuga
  - Solución de azúcar al 45 %
- **Principio:** Método rápido para separar los nematodos del suelo por la diferencia de gravedades específicas del agua (1,0), del nematodo (1,02 a 1,09), de la solución de azúcar (1,15 a 1,18) y del suelo (1,2). Los nematodos se separan del suelo debido a que son menos densos que la solución de azúcar.
- **Ventajas:** Permite la extracción de huevos, nematodos inmóviles y muertos. Es más rápido, procesa mayor volumen de suelo que el embudo de Baermann y la muestra procesada es relativamente limpia.
- **Desventajas:** La solución de azúcar puede afectar al nematodo. Por el costo de la centrífuga es más caro que el embudo de Baermann. Los suelos muy arcillosos son difíciles de ser trabajados. Se pueden perder nematodos a través de los tamices. Además, presenta cierta variación de eficiencia de acuerdo al operador.

6.1.4. Descripción del método

- El primer paso es la preparación de la muestra, la cual debe ser homogeneizada con las manos, mezclándola bien y rompiendo los terrones de arena que pueda tener.
- En el vaso precipitado de plástico se debe cargar 500 ml de agua de grifo y adicionar la muestra, ya homogeneizada, hasta que el volumen llegue a la marca de 600 ml, lo cual equivale a 100 cm^3 de la muestra.

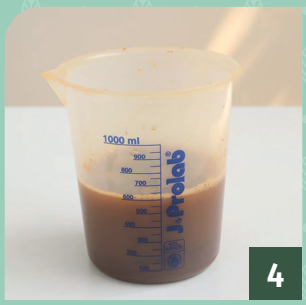
- Con una espátula o cuchara se debe mezclar uniformemente la suspensión de suelo y agua por 1 min, esto permitirá que la arena sea desagregada liberando a los nematodos en la suspensión. Lavar la espátula o cuchara con la piseta dentro del vaso precipitado.
- Aguardar aproximadamente 30 s para que la arena y otros residuos decanten y se depositen en el fondo del vaso. Este tiempo puede ser más prolongado, dependiendo de la granulometría de la misma. Mientras más finos sean los granos, se debe decantar por más tiempo.
- Los tamices de 20 y 60 mesh se acondicionan mojando ambos lados de sus mallas con abundantes chorros de agua, para romper la tensión superficial del agua.
- Tomar el tamiz de 20 y acoplarlo sobre el de 60 mesh y así colocarlos en un ángulo de 45° sobre el balde o contenedor de 5 L.
- La suspensión de suelo y nematodos es vertida sobre sobre los tamices 20-60, permitiendo que el líquido se deposite en el balde o contenedor. Es importante asegurarse de no verter toda la tierra del vaso de precipitado sobre la malla.
- Para evitar lo anteriormente mencionado, aplicar la técnica de *Swirl*, que consiste en que cuando la tierra se esté acercando al borde del vaso de precipitado, girar el vaso lentamente para dejar pasar el agua y dejar la tierra atrás.
- Se adiciona nuevamente agua al vaso precipitado que contiene el suelo decantado en el fondo y el mismo procedimiento se realiza tres veces más.
- Una vez terminado este proceso, dejar los tamices 20-60 a un lado, ya que los contenidos de estos tamices serán utilizados para aplicarlos a otro procedimiento, el embudo de Baermann.
- El contenido colectado en el balde se revuelve con la espátula por 30 s y la misma se lava con una piseta dentro del balde. Se aguarda a que decante unos 20 s.
- Los tamices de 100 y 400 mesh se acondicionan con agua y se acopla el de 100 sobre el 400.
- Todo el contenido del balde se vierte sobre los tamices 100-400. En algunos casos, si la muestra presenta una textura arcillosa tendrá dificultad en atravesar ambos tamices, por lo que requerirá ayuda manual, “tamboreando”, es decir,

dando golpes suaves debajo del tamiz de 400 con las yemas de los dedos.

- Los nematodos ahora se encuentran en ambos tamices.
- Con una piseta con agua o un suave flujo de agua, concentrar en un sector los contenidos del tamiz de 100 y 400 para que su posterior colecta sea más precisa y fácil. Asegurarse de que todo el contenido del tamiz esté concentrado en una sola dirección.
- Con la ayuda de un embudo y de la piseta, verter y distribuir los contenidos de ambos tamices dentro de tubos cónicos de tipo Falcon de 50 ml (utilizar uno o dos tubos máximo). Tener en cuenta que la cantidad de la mezcla de agua y suelo sea igual en ambos tubos.
- Antes de poner los tubos en la centrífuga, asegurarse de que tengan el mismo volumen de agua, entre 40 ml a 45 ml.
- Colocarlos en la centrífuga. Es fundamental que los tubos estén colocados de tal forma que su peso esté balanceado, colocando un tubo en una posición y el otro en la posición opuesta.
- Configurar la centrífuga a una velocidad de 3.800 rpm por 5 min.
- Luego de sacar los tubos de la centrífuga, extraer el sobrenadante de ambos tubos con la pipeta y verterlo sobre el tamiz de 400.
- Se agrega a cada tubo la solución azucarada hasta la marca de 40 o 45 ml. Esta solución se obtiene disolviendo 454 g en 1 L de agua.*
- Revolver este contenido de arriba abajo con la ayuda de una espátula, permitiendo que los nematodos queden suspendidos en los tubos.
- Colocar los tubos en la centrífuga y programar a una velocidad de 2.300 rpm durante 1 min.
- El sobrenadante de ambos tubos se extrae con una pipeta y es vertido sobre el tamiz de 400, junto con lo anteriormente colectado.
- Con chorros de agua, se debe limpiar cuidadosamente el azúcar de la muestra contenida en el tamiz. Este proceso debe ser rápido, ya que los nematodos suspendidos en azúcar pueden sufrir plasmólisis.
- Colocar un embudo sobre un tubo cónico limpio y con auxilio de la piseta con agua, verter la muestra del tamiz de 400 en el tubo, a un volumen de 10 a 13 ml.

*** Preparación de solución azucarada al 45 %:**

- Pesar 454 g de azúcar blanca en un vaso precipitado de 3 litros.
- Agregar agua hasta la marca de 1 litro.
- Con una espátula o cuchara revolver el azúcar dentro del agua.
- Colocar el vaso precipitado sobre un agitador con calentador.
- Colocar el agitador magnético dentro del recipiente y programar el equipo a la velocidad 2 y a una temperatura de 130 °C.
- Pasados 20 min, bajar la temperatura a 70 °C.
- Luego de 10 min bajar la temperatura a 0 °C y dejar el rotor en movimiento hasta que la solución se enfríe por unos minutos.
- Estos 30 min serán suficientes para disolver el azúcar en el agua, por lo que resultará en una solución homogénea transparente de color amarillo claro.
- Depositar la solución en un frasco de vidrio con tapa a rosca.
- Siempre esperar que la temperatura de la solución baje a temperatura ambiente para utilizarla en el procedimiento de extracción de nematodos, nunca usarla si está caliente, pues afectará la integridad de los nematodos.
- Se recomienda guardar el frasco en la heladera, ya que evitará el crecimiento de hongos en la solución.
- Si no se cuenta con un agitador con calentador se pueden utilizar otros equipos que emitan calor como las placas eléctricas de cocina, microondas, ya que lo importante es revolver constantemente durante el proceso, siempre cuidando que la mezcla tenga una consistencia líquida, pues si el calor es excesivo la solución puede caramelizarse.



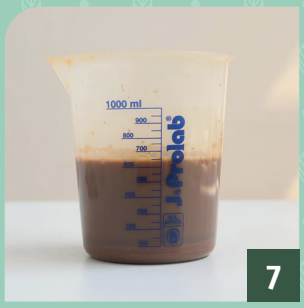


Figura 14. Método de extracción flotación-centrifugación en solución de sacarosa modificado de Jenkins (1964). (Continúa)

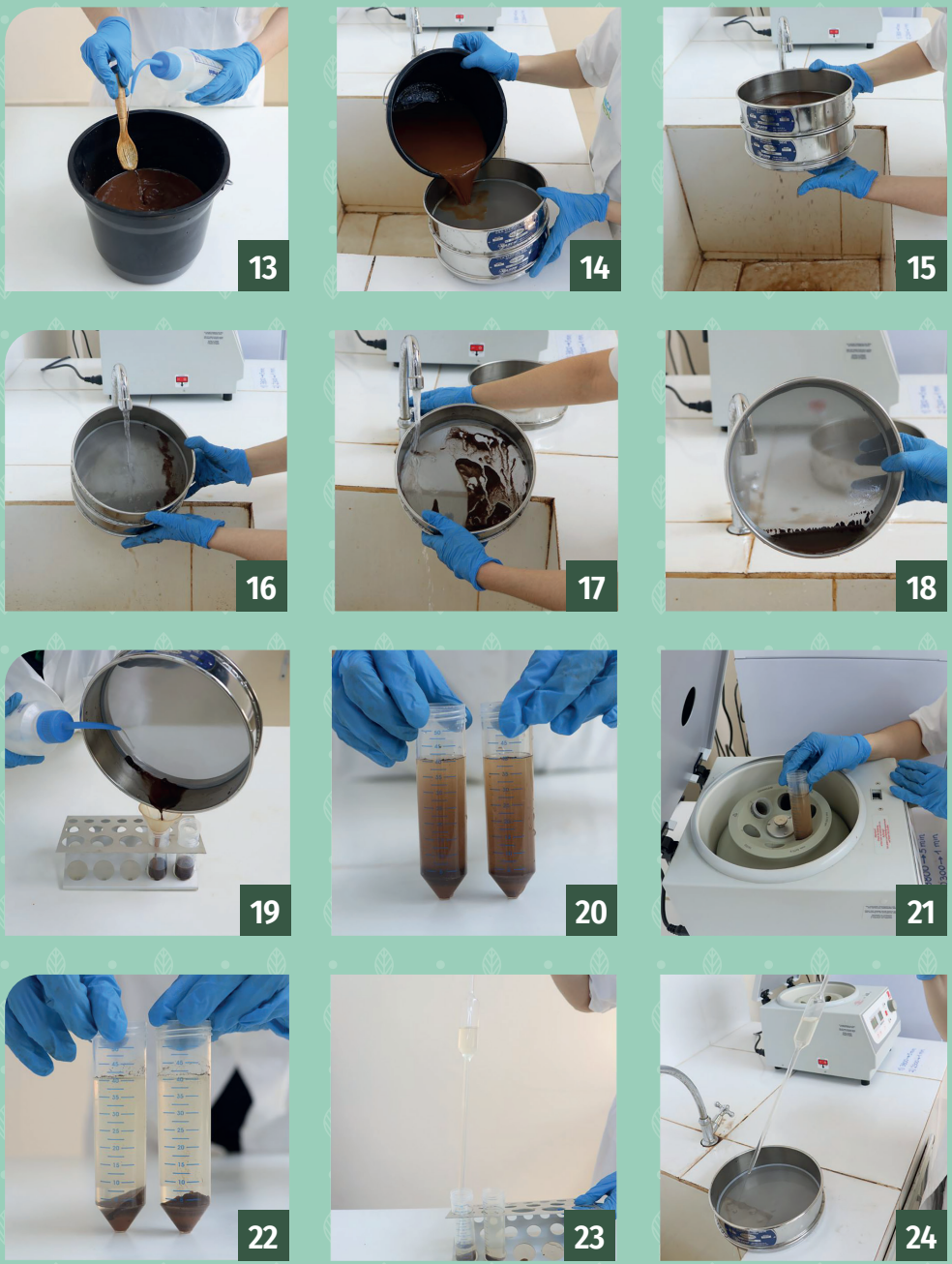


Figura 14. Método de extracción flotación-centrifugación en solución de sacarosa modificado de Jenkins (1964). (Continúa)

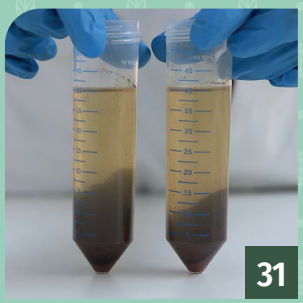


Figura 14. Método de extracción flotación-centrifugación en solución de sacarosa modificado de Jenkins (1964).

6.1.4.1. Método Embudo de Baermann para lo colectado en los tamices 20 y 60 mesh

- El embudo es montado siguiendo la metodología del Embudo de Baermann.
- Sobre el papel absorbente que está sobre la parte superior del embudo se depositan con auxilio de una piseta los contenidos colectados en los tamices de 20 y 60 mesh.
- Los extremos del papel se juntan y doblan con el fin de tapar su contenido.
- Colocar un poco de agua en los alrededores, entre el papel y las paredes internas del embudo, procurando que la base de la muestra esté en contacto con el agua.
- Tapar el embudo con algún elemento que impida la evaporación del agua, como una tapa de placa Petri.
- Dejar reposar por 48 h, para luego abrir cuidadosamente la manguera de goma y dejar caer el agua dentro de un vaso de precipitado. Además, con una piseta con agua limpiar las paredes del embudo y dejar caer esta agua en el mismo vaso de precipitado.
- El contenido se vierte sobre el tamiz de 400.
- Con una piseta o un flujo de agua, concentrar el contenido en un sector del tamiz y después verterlo en un tubo cónico a un volumen de 10 ml **(Figura 15)**.

Figura 15. Método Embudo de Baermann para lo colectado en los tamices 20 y 60 mesh. (Continúa)

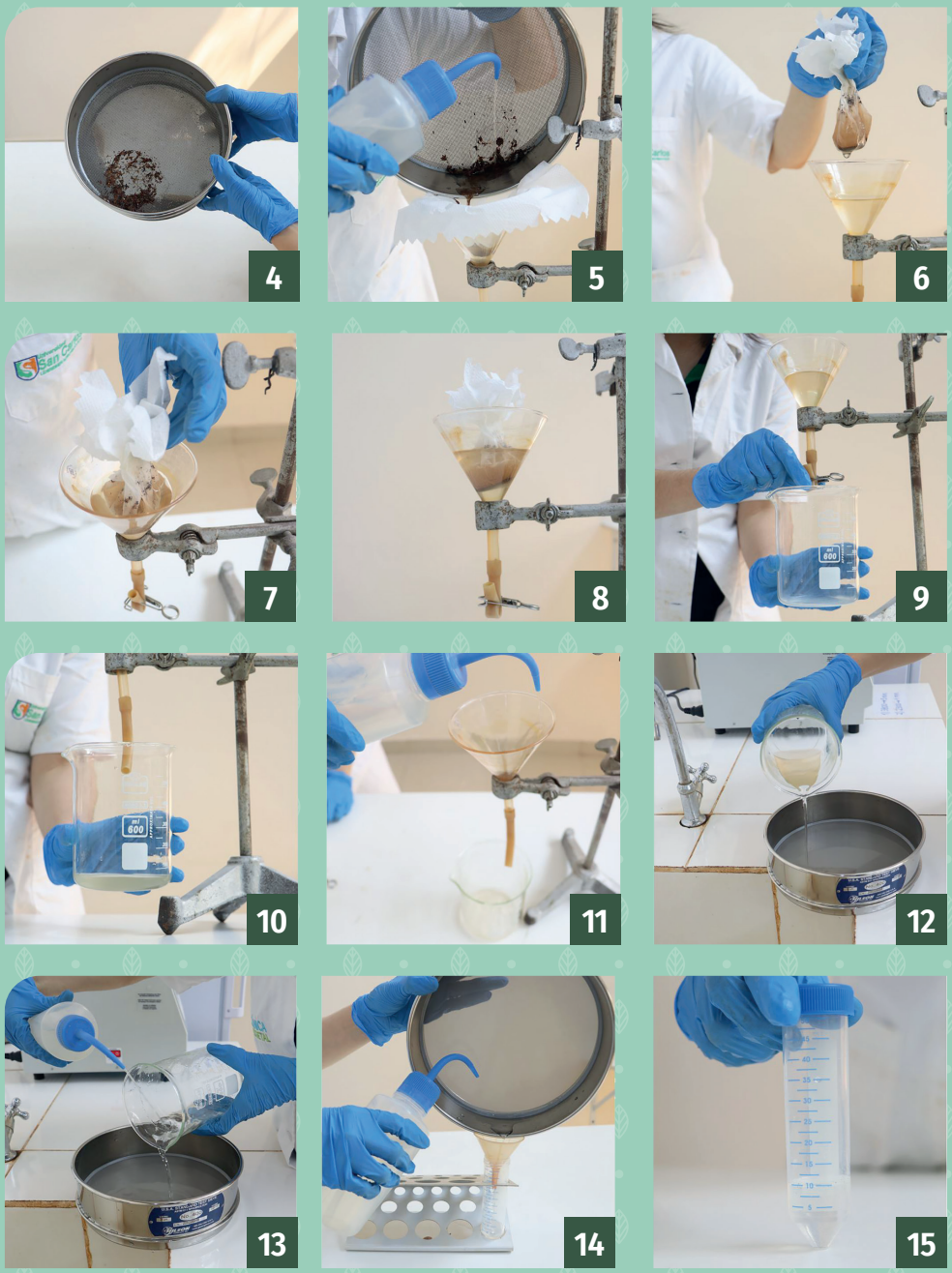


Figura 15. Método Embudo de Baermann para lo colectado en los tamices 20 y 60 mesh.

6.1.5. Extracción de quistes de *Heterodera glycines* a partir de suelo seco (Shepherd 1970)

- Colocar la muestra de suelo seco al aire (cerca de 100 ml) en un erlenmeyer de 2 L y adicionar agua de grifo hasta cerca de un cuarto de su volumen.
- Agitar el frasco con movimientos rotatorios hasta que todo el suelo se encuentre en suspensión.
- Llenar el erlenmeyer (incluso hasta el cuello) usando chorros fuertes de agua de grifo y hasta finalmente completar el volumen.
- Dejar decantar hasta que el agua del cuello del erlenmeyer sea clara.
- Cuidadosamente verter el sobrenadante sobre los tamices de 60 y 100 mesh, girando el frasco para que todo el material en suspensión se deposite en los tamices, pero sin re-suspender el suelo del fondo.
- Enjuagar el material del tamiz de 60 mesh y recoger el contenido que quedó retenido en el de 100 mesh (este último contiene quistes y residuos de suelo y raíces).
- Transferir la suspensión a las placas de fondo cuadriculado y realizar el análisis bajo microscopio estereoscópico.
- Alternativamente, ese material puede ser llevado al embudo de Buchner forrado con papel filtro. El siguiente paso es transportar el papel filtro al microscopio estereoscópico y bajo luz incidente, y así efectuar la lectura.

6.1.6. Extracción de quistes de *Heterodera glycines* a partir de suelo húmedo: método de sacarosa densa (Dunn 1969)

- Colocar la muestra de suelo (cerca de 100 ml) en un balde de 2 L y adicionar agua del grifo para desterronarla.
- Pasar el sobrenadante por el tamiz de 20 mesh y colectarlo en otro balde. Dejar en reposo durante 5 s.
- Verter el sobrenadante en un tamiz de 100 mesh.
- Recoger lo que quedó retenido en el último tamiz con una solución de azúcar (615 g de azúcar + agua para hacer 1 L de solución), previamente colocada en una piseta, en un tubo de centrífuga.
- Centrifugar por 2,5 minutos a una velocidad de 420 x g.

- Colocar el sobrenadante en un tamiz de 100 mesh y enjuagar, para eliminar toda la solución de azúcar.
- Recoger el residuo del tamiz en un vaso de precipitados.
- Transferir la suspensión a placas de fondo cuadriculado para su análisis en el microscopio estereoscópico.

Ese material puede también ser filtrado en un embudo de Buchner forrado con papel filtro. El siguiente paso es transportar el papel filtro para un microscopio estereoscópico y bajo la luz incidente efectuar la lectura.

6.2. Extracción de nematodos de las raíces

6.2.1. Método de Embudo de Baermann (1917)

Por este método pueden ser extraídos nematodos endoparásitos migratorios, como *Radopholus similis* en raíces de banana y *Pratylenchus* spp. en raíces de varias especies de plantas.

- **Materiales necesarios:**
  - Mismos materiales del método del embudo de Baermann
  - Tijera de podar
  - Papel absorbente
  - Vaso precipitado
  - Tamiz de 100, 400 y 500 mesh
  - Licuadora
- **Descripción del método:** Las raíces se lavan cuidadosamente bajo agua corriente. Se las deja secar sobre papel absorbente y después la totalidad de raíces se pesa y se separa una cantidad de 10 g de raíces. Las mismas se cortan en trozos de aproximadamente 2 cm y se colocan en un embudo de Baermann, montado previamente. El tiempo de reposo puede ser de 48-72-96 h. Pasado el tiempo de reposo, la solución de agua y nematodos se deposita sobre un tamiz de 400 mesh y luego se colecta con la piseta una cantidad de 10 ml en un tubo cónico.

  Otra alternativa es que las raíces limpias son trituradas en agua, en la licuadora, a baja potencia, por 20 s, y así, vertidas sobre el tamiz de 100 mesh acoplado a otro de 500 mesh. Con una piseta el tamiz de 500 se lava y los nematodos con los residuos de la raíz macerada son sometidos al embudo de Baermann. Dejándolo reposar por 48 h **(Figura 16)**.

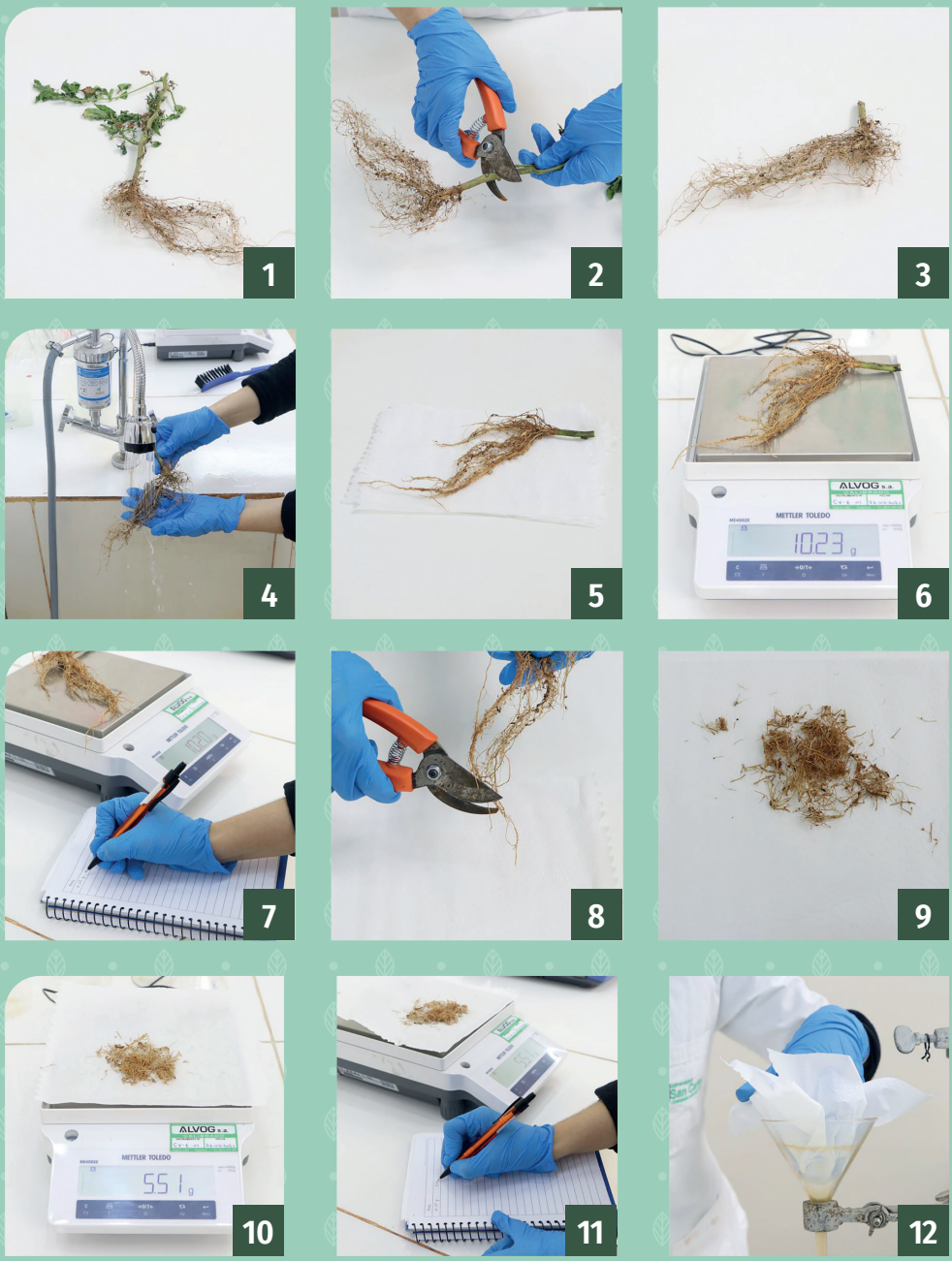


Figura 16. Extracción de nematodos de las raíces con el embudo de Baermann (1917). (Continúa)

Figura 16. Extracción de nematodos de las raíces con el embudo de Baermann (1917).

6.2.2. Método de Coolen y D'Herde (1972)

- **Materiales necesarios:**
  - Tijera de podar
  - Papel absorbente
  - Piseta
  - Vaso de precipitado
  - Licuadora
  - Caolín
  - Solución azucarada 45 %
  - Tamices de 20 y 400 mesh
  - Tubos cónicos tipo Falcon, de 50 ml de capacidad
  - Centrífuga

Las raíces se preparan lavándolas delicadamente con agua y dejándolas secar sobre papel absorbente por unos minutos. Se cortan en trozos de 1 cm aproximadamente y se toma una porción de 5 a 10 g de raíces para ser colocadas en la licuadora con alrededor de 250 ml de agua, las mismas son trituradas a una baja velocidad por 20 a 30 s.

El tamiz de 20 es acoplado sobre el de 400 y las raíces trituradas se vierten encima de estos. El contenido retenido en el tamiz de 400 se transfiere a un vaso precipitado. Esta suspensión se coloca en uno o dos tubos cónicos y a cada uno se agrega 1 cm^3 de caolín, es importante agitarlos antes de colocarlos en la centrífuga. Se centrifugan a una velocidad de 1750 rpm por 4 a 5 min.

El sobrenadante de los tubos se descarta y se agrega la solución azucarada a cada uno de los tubos. Esta solución debe ser preparada con 454 g de azúcar diluida en una cantidad que complete 1 L de agua. Los tubos son llevados a la centrífuga y se programa a 1750 rpm por 1 min.

Se extrae el sobrenadante y se deposita sobre el tamiz de 400 mesh y se lava con abundante agua por al menos 1 min para eliminar el azúcar. Recoger el contenido del tamiz con la piseta y colocar en un tubo u otro recipiente para su análisis.

6.2.3. Extracción de huevos de *Meloidogyne* a partir de raíces infectadas (modificado de Hussey y Barker 1973)

- **Materiales necesarios:**
  - Tijeras comunes o de podar
  - Papel absorbente

- Tamices de 200 y 500 mesh
- Frasco de vidrio con tapa a rosca de aproximadamente 200 ml (ejemplo: frascos de jalea, mayonesa, etc.)
- Hipoclorito de sodio
- Tubo cónico tipo Falcon

- **Principio:** Se basa en obtener un inóculo estandarizado de *Meloidogyne*, ya que serán extraídos solo sus huevos.

- **Descripción de método:**
  - Lavar las raíces con abundante agua para poder extraer todos los restos de tierra.
  - Posteriormente, dejarlas sobre papel absorbente y esperar unos instantes a que se sequen.
  - Con auxilio de una tijera común o de podar cortar las raíces de las plantas en trozos de aproximadamente 1 cm.
  - Colocar los trozos de raíces dentro del recipiente con tapa a rosca, y adicionar la solución de agua e hipoclorito de sodio al 1 %. Se requiere que las raíces estén completamente cubiertas por la solución y debe sobrar un espacio vacío en el frasco para permitir su agitación.
  - Agitar, manualmente, el frasco de forma horizontal por 4 minutos.
  - Acoplar el tamiz de 200 sobre el de 500 mesh (previamente acondicionados con agua).
  - Depositar el contenido del frasco sobre los tamices acoplados.
  - Lavarlos con abundante agua por 1 minuto.
  - Recoger los huevos colectados en el tamiz de 500 mesh en un tubo tipo Falcon, a un volumen de 10 ml **(Figura 17)**.

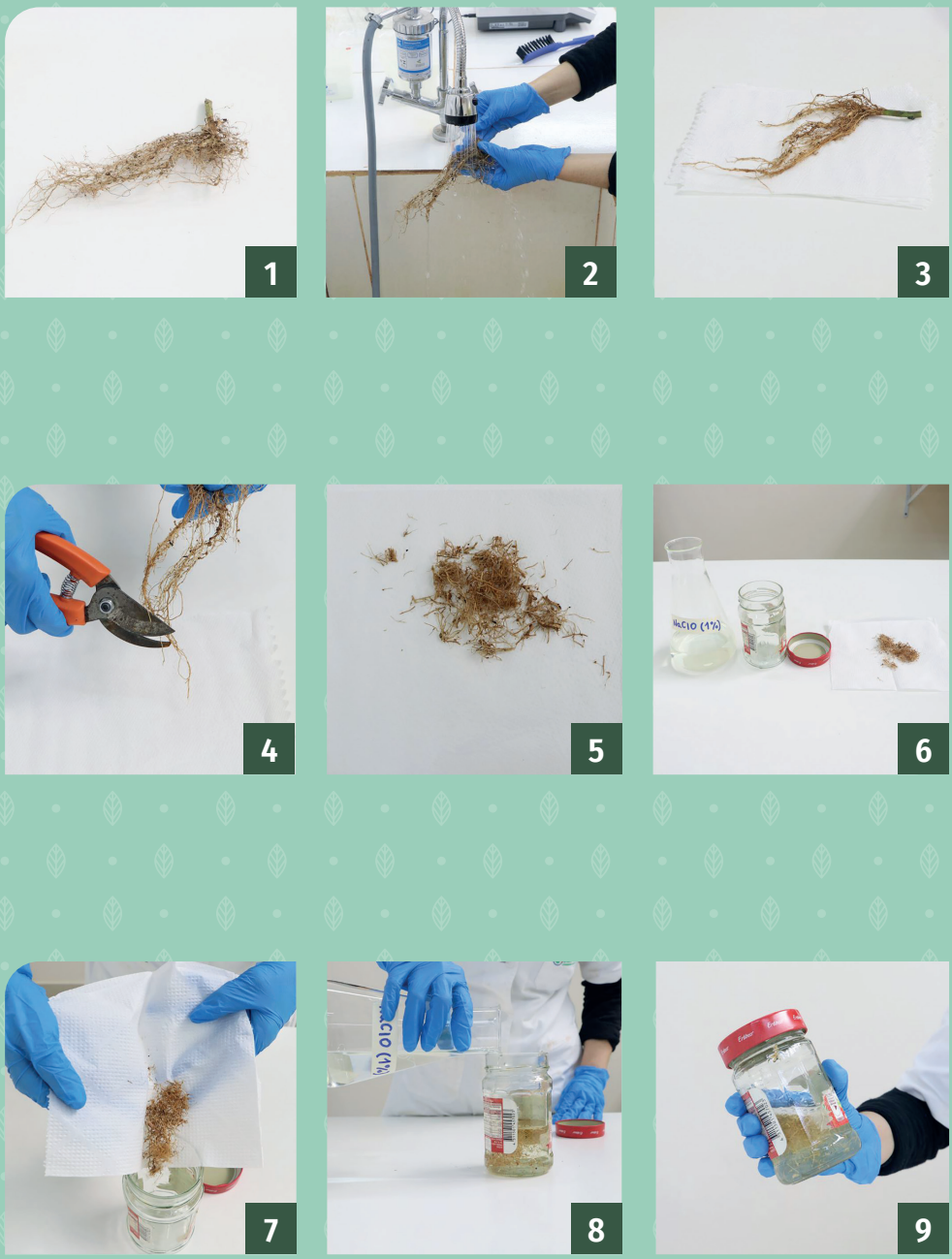


Figura 17. Extracción de huevos de *Meloidogyne* a partir de raíces infectadas (método modificado de Hussey y Barker 1973). (Continúa)

Figura 17. Extracción de huevos de *Meloidogyne* a partir de raíces infectadas (método modificado de Hussey y Barker 1973).

6.2.4. Extracción de hembras de *Meloidogyne* directamente de las raíces (Taylor y Netscher 1974)

Las hembras de *Meloidogyne* spp. pueden ser extraídas de las raíces para la identificación de la especie mediante el análisis de corte perineal. Este proceso se realiza mediante la disección de las agallas radiculares con un bisturí y una pinza bajo el microscopio estereoscópico. Así, la epidermis y el córtex de la raíz en la región de la agalla se escarifican con el bisturí hasta que la superficie lisa, blanca y brillante de la cutícula de la hembra sea expuesta, entonces la escarificación pasa a efectuarse alrededor de la hembra, nunca tocándola directamente para evitar su ruptura. Después de la remoción del tejido que cubría a la hembra, esta se suelta y puede ser fácilmente colectada.

6.3. Extracción de nematodos de partes aéreas de plantas

6.3.1. Método de burbujeamiento de aire en agua (Oliveira et al. 2016)

Los nematodos *Bursaphelenchus cocophilus* (causante del anillo rojo del cocotero), *B. xylophilus* (parásito de *Pinus* spp.), *Ditylenchus drepanocercus* (parásito de hojas de *Miconia* spp.), *D. dipsaci* (parásito de ajo y cebolla) y *Aphelenchoides* spp. (parásito de hojas de crisantemo, frutilla y arroz) son extraídos de las partes aéreas de las plantas por el método de burbujeamiento de aire en agua y también por el principio del embudo de Baermann.

- **Materiales necesarios:**
  - Bomba de aire de pecera
  - Tijera de podar
  - Tamices de 100 y 500 mesh
  - Vaso de precipitado
- **Descripción de método:** Los bulbos, estipes u hojas se lavan y luego se cortan en pedazos con la tijera antes

de ser colocados en un vaso de precipitado con agua, bajo aireación forzada con bombas de acuario. El material puede quedar inmerso de 48 h a una semana, y pasado este tiempo, la suspensión se vierte sobre el tamiz de 100 acoplado al tamiz de 500 mesh. El tamiz de 500 mesh se lava con chorros de agua y los nematodos se colocan en un vaso de precipitado u otro recipiente.

Este método no es eficiente para los géneros *Criconemoides*, *Xiphinema*, *Hirshmaniela*, *Meloidogyne*, *Heterodera*, *Globodera*, *Rotylenchulus* y *Tylenchulus*.

6.3.2. Método de Incubación de tejidos modificado

Este método es utilizado para nematodos endoparásitos y semiendoparásitos como *Tylenchulus*, *Ditylenchus*, *Pratylenchus*, *Radopholus* y *Aphelenchoides*, que consiste en colocar porciones pequeñas aproximadamente de 3 cm de longitud del material vegetal, tales como raíces, hojas, bulbos, semillas, etc., en una placa Petri o vaso de precipitado y añadir agua destilada hasta cubrir la muestra e incubar a temperatura ambiente durante 6 h. Transcurrido este tiempo, con la ayuda de una aguja se extraen los nematodos bajo estereoscopio (Alfenas y Mafia 2016).

7. Principales géneros de nematodos fitoparásitos

7.1. *Meloidogyne* - Nematodo de la agalla

Mundialmente considerado como el nematodo más importante en la agricultura por los numerosos cultivos que afecta provocando grandes pérdidas y por el comprometimiento de la calidad de los productos agrícolas (Ravichandra 2014).

- **Hospederos:** Es polífago, y parasita a más de 3000 plantas alrededor del mundo, como a cultivos extensivos e intensivos, de cobertura, árboles frutales, especies forestales, arbustos, malezas y plantas ornamentales (Shurtleff y Averre III 2000).
- **Síntomas:** Engrosamiento de las raíces dando lugar a las agallas debido a la expansión (hipertrofia e hiperplasia) de las células de la raíz. Los síntomas secundarios ocasionados por la obstrucción de transporte de agua y nutrientes pueden ser marchitamiento, amarillamiento de las hojas, deficiencia de nutrientes, crecimiento lento o atrofiado. Una alta población en almácigos puede producir la muerte de plántulas (Medina et al. 2018).
- **Ciclo de vida:** Endoparásitos sedentarios que a medida que ingresan a la región de las raíces se alimentan de su contenido (Das et al., 2015). La duración total del ciclo de vida en la mayoría de las especies es de aproximadamente 3-4 semanas, bajo una temperatura adecuada de 27-30 °C **(Figura 19)**. Dicho ciclo se inicia con el desarrollo del huevo, poco después de la oviposición, resultando en 2, 4, 8 o más células hasta aparecer el juvenil, cuyo primer estadio bien desarrollado ocurre dentro del huevo. Los juveniles del estadio J2 infectan las raíces penetrando por la punta (caliptra) moviéndose entre las células no diferenciadas, con su estilete perforan las paredes de las células inyectando secreciones de sus glándulas esofágicas (González 2007).

  En la fase adulta los machos son vermiformes y no parasitarios, y la hembra continúa su desarrollo hasta adquirir un formato globoso y piriforme. El modo de reproducción es por partenogénesis y a veces por anfimixis, existiendo una mayor cantidad de hembras que machos (Pinheiro 2017).
- **Especies:** Amplia distribución mundial. Son conocidas más de 100 especies de este género (Karssen 2013). Algunas son: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. exigua*, *M. hispanica*, *M. graminicola*, *M. coffeicola*, *M. paranaensis*.

Figura 19. Género *Meloidogyne*. Estadios juveniles (1 y 5). Corte perineal (2). Hembra en raíz de tomate (3). Hembra en raíz de tomate (4).

7.2. *Globodera* - Nematodo del quiste redondo

- **Hospederos:** Las diferentes especies del género afectan distintos cultivos, incluyendo las fabáceas, árboles frutales y ornamentales (Shurtleff y Averre III 2000). En Solanáceas son consideradas una plaga importante, ya que tienen gran potencial de causar pérdidas en papa, tomate y berenjena (Rott et al. 2011).
- **Síntomas:** Los síntomas aéreos no se manifiestan de inmediato. Primeramente, se observa un crecimiento retardado de las plantas, con una reducción en el desarrollo de las raíces. Además, las plantas afectadas pierden su color, son achaparradas y se marchitan fácilmente durante las horas más calurosas y secas del día. En la papa, se observan tubérculos más pequeños, lo que reduce el rendimiento del cultivo. Además, en las raíces se presentan los quistes, de forma esférica de color blanco, amarillo o marrón, dependiendo de la especie, y se desprenden con facilidad de las raíces (Wainer y Dinh 2021; Franco 1986).
- **Ciclo de vida:** Endoparásito sedentario. Cada quiste puede albergar a más de 400 huevos, los que en presencia de los exudados de la planta hospedera inducen la eclosión de los estadios juveniles, los cuales inician la penetración de las raíces, alimentándose de ellas. Varía de 38 a 48 días, dependiendo de la temperatura, pudiendo ser óptima de 15 a 25 °C. La reproducción es del tipo sexual (Franco 1986).
- **Especies:** Distribuidas en todos los continentes, ocurriendo mayormente en Europa y América del Sur, con más de 12 especies repartidas mundialmente, como *G. pallida*, *G. rostochiensis*, *G. tabacum*, *G. artemisiae*, *G. virginiae*, *G. solanacearum*.

7.3. *Heterodera* - Nematodo del quiste

- **Hospederos:** Cereales como trigo, avena y cebada, solanáceas como la papa, fabáceas como la soja, poroto, lupino, y algunas especies de malezas.

- **Síntomas:** Manchones en las parcelas con debilitamiento general de la planta y reducción de la eficiencia del sistema radicular. Clorosis, crecimiento atrofiado, marchitez y, consecuentemente, pérdida de rendimiento. Después de muchas semanas de parasitismo, la hembra adulta está presente o adherida a las raíces del hospedero, dando lugar a los quistes, de consistencia dura y coloración marrón, en el cual está la masa de huevos. En cereales como trigo y cebada, las raíces se ramifican excesivamente con aspecto tupido (Richard y Guiping 2010).
- **Ciclo de vida:** Endoparásito sedentario. Ciclo de 20 a 30 días, pudiendo ser hasta 55 días y la reproducción es anfimíctica. Las hembras tienen la habilidad de que su cutícula se convierta en un quiste duro, marrón, que protege a los huevos; cada uno puede contener entre 100 a 600 huevos fertilizados y si las condiciones no son aptas estos pueden permanecer en latencia por años. Los huevos eclosionan y los juveniles son los responsables de la penetración de las raíces (Smiley et al. 2017). Según Veloso et al. (1977) en la soja, *H. glycines*, dependiendo de la temperatura del suelo, puede lograr entre 4 a 5 generaciones por ciclo del cultivo.
- **Especies:** Anteriormente estaban restringidas a regiones templadas como Europa y América del Norte, pero en la actualidad están ampliamente distribuidas por los cinco continentes. Existen más de 40 especies reportadas siendo la más importante *H. glycines*, conocida como el Nematodo del Quiste de la Soja. Otras especies como *H. oryzae*, *H. avenae*, *H. longicaudata*, *H. canadensis*, etc.

7.4. *Pratylenchus* - Nematodo de lesiones radiculares

- **Hospederos:** Uno de los mayores problemas en cultivos de gran importancia económica, como la soja, el maíz, el algodón, el poroto, el café, la caña de azúcar, además de diversas forrajeras y hortalizas, siendo un fitonematodo polífago (Goulart 2008).

- **Síntomas:** Necrosis de raíces y tubérculos que producen una reducción del desarrollo de la parte aérea, por lo que se observa clorosis en las hojas y disminución del crecimiento (Inomoto et al. 2004).
- **Ciclo de vida:** Son endoparásitos migratorios. Su ciclo inicia cuando las hembras depositan los huevos en el interior de las raíces parasitadas, o bien en el suelo, lo que es menos común; en este último caso, los J2 recién eclosionados migran hacia las raíces nuevas para invadirlas y retomar el parasitismo, siendo vermiformes durante toda su vida **(Figura 20)**. El número de huevos varía dependiendo de la especie entre 70 y 120. La reproducción puede darse por partenogénesis o por anfimixia. Ciclo con duración media de tres a seis semanas, con una temperatura de 20-30 °C, dependiendo de la especie (Ferraz y Brown 2016).
- **Especies:** De acuerdo con Vicente et al. (2021), tienen amplia distribución mundial y este género ocupa el tercer lugar siguiendo al nematodo de las agallas y a los nematodos de los quistes, se han descrito 101 especies (*P. penetrans*, *P. brachyurus*, *P. zeae*, *P. coffeae*, *P. crenatus*, *P. vulnus*, entre otras).

Figura 20. Género *Pratylenchus*.

7.5. *Radopholus* - Nematodo barrenador

- **Hospederos:** Diversos cultivos como banano, cítricos, pimiento, coco, entre otros (Khan 2015).
- **Síntomas:** Defoliación prematura, escaso vigor y reducción del tamaño y peso de los frutos. En banano, puede causar tumbamiento de las plantas en la etapa de producción. Esto se debe a que produce lesiones en las raíces, con severas necrosis, ocasionando la pudrición y la descomposición de raíces tiernas, agravándose con la participación de otros microorganismos del suelo. En los cítricos, produce decaimiento progresivo en las plantas, con síntomas de carencia de minerales, entrenudos cortos, hojas y frutos pequeños, follaje ralo y crecimiento lento (Román 1978; Nival y Román 2006).
- **Ciclo de vida:** Es un endoparásito migratorio que puede desarrollarse completamente dentro de la raíz. Los huevos se depositan en los tejidos de las raíces y los juveniles comienzan a alimentarse dentro de ellas, formando cavidades dentro de la raíz (Khan 2015). El ciclo de vida puede completarse a los 18-20 días cuando la temperatura varía entre 24 y 27 °C (Thorne 1961). Duncan (2005) añade que las hembras colocan sus huevos a una tasa de 2 huevos por día, los cuales eclosionan cada 2-3 días. Además, las infecciones pueden ocurrir en un rango de entre 12 a 32 °C.
- **Especies:** La especie más importante es la que afecta al banano, *R. similis*. Se tienen otras especies como *R. citrophilus*, *R. nativus*, *R. bridgei*.

7.6. *Ditylenchus* - Nematodo de los bulbos

- **Hospederos:** Poseen un amplio rango de hospederos, siendo más de 500 las especies vegetales en las que se ha demostrado su parasitismo. Entre ellas, se destacan las liláceas, como el ajo y la cebolla, en los que causan severos daños. Otros hospederos incluyen a la zanahoria, frutilla, alfalfa y especies ornamentales, incluyendo los tulipanes (Meza 2017), alfalfa, gladiolo, maíz y centeno (Pinheiro 2017).
- **Síntomas:** Estos nematodos atacan tubérculos, estolones,

rizomas, raíces de lúpulo y lilios; sin embargo, algunas especies como *D. destructor* pueden invadir la parte aérea y causar enanismo, arrollamiento y decoloración de las hojas; otros, como *D. angustus*, pueden causar malformaciones en las hojas y afectar la panícula de algunas plantas, produciendo semillas deformadas, secas, estériles y, en casos de infestación severa, la planta puede llegar a morir, aunque muy a menudo los síntomas solo se observan en las partes subterráneas de las plantas, en las raíces y rizomas causan lesiones necróticas de color castaño oscuro, o bien, en bulbos lesiones amarillentas o pardas (Escuer 1998).

- **Ciclo de vida:** Endoparásito migratorio. El ciclo de vida de *D. dipsaci* generalmente varía de 19 a 23 días a 15 °C. La penetración en las plantas puede ocurrir por estomas, lenticelas o por el punto de emisión de raíces secundarias en crecimiento. La reproducción ocurre por anfimixia y las hembras depositan entre 8-10 huevos por día durante 25 a 30 días, colocando en total entre 200 y 500 huevos. En general, los J4 son encontrados exclusivamente en las hojas de protección, hallándose ausentes en las hojas de reserva. Los J4 son el principal estadio de sobrevivencia a pesar de que los nematodos en otros estadios del ciclo pueden entrar en anhidrobiosis (Pinheiro 2017).
- **Especies:** Ocupa el quinto puesto de la lista de nematodos más importantes a nivel científico y económico (Jones 2013). Existen más de 60 especies reconocidas del género, siendo la mayoría micófagas; sin embargo, 5 especies son de importancia económica para una gama de plantas cultivadas, las cuales son: *D. africanus*, *D. angustus*, *D. destructor*, *D. dipsaci* e *D. gigas* (Gonzaga y Gonçalves 2018).

7.7. *Rotylenchulus* - Nematodo reniforme

- **Hospederos:** Los más comunes son algodón, poroto, soja, piña, papa, mamón, entre otras 150 especies más de cultivos (Riascos et al. 2019).
- **Síntomas:** Enanismo, amarillamiento de las hojas, tallo más delgado y hojas más pequeñas, impidiendo la formación de raíces nuevas en los sitios de establecimiento de este organismo, encontrándose menor desa-

rrollo radicular y peso de este (Suárez 2002).

- **Ciclo de vida:** Semiendoparásito sedentario. Su ciclo varía de acuerdo con el hospedero, su susceptibilidad y la temperatura, teniendo una duración de entre 14 y 29 días en diferentes hospederos (Adam et al. 2018). Las hembras colocan sus huevos en el suelo, dentro del mismo ocurre la primera muda, y son liberados los J2 luego de las tres ecdisis **(Figura 21)**. Las hembras inmaduras vermiformes encuentran las raíces iniciando el parasitismo constituyendo la forma infectiva de la especie (Pinheiro 2017).

  Estas se alimentan de los tejidos epidérmicos y, posteriormente, escogen un sitio permanente, así la porción anterior de su cuerpo permanece incrustada en la raíz mientras que la porción posterior sobresale en la superficie, la cual se hincha durante la maduración. Las hembras se vuelven reniformes (forma de riñón) en la etapa adulta, mientras que los machos se mantienen vermiformes y pierden su actividad parasítica (Hui Wang 2019).

- **Especies:** El género está distribuido en zonas tropicales y subtropicales y comprende aproximadamente 11 especies de importancia económica, las cuales son: *R. borealis*, *R. clavicaudatus*, *R. eximius*, *R. leptus*, *R. macrodoratus*, *R. macrosoma*, *R. macrosomoides*, *R. parvus*, *R. reniformis*, *R. sacchari*, y *R. vitis* (Riascos et al. 2019).

Figura 21. Género *Rotylenchulus*.

7.8. *Xiphinema* - Nematodo daga

- **Hospederos:** Se encuentra en diversas áreas de producción en el mundo, en raíces tanto de árboles perennes como en cultivos anuales; entre los frutales se pueden citar manzanos, perales, cerezos y durazneros, además de vides (Bird et al. 2018).
- **Síntomas:** Los daños son ocasionados por la alimentación directa de las células de la raíz y por ser vectores de los virus fitopatógenos (Arachidona et al. 2020). Los nematodos adquieren el virus cuando se alimentan de una planta que lo contiene, por ejemplo, *Xiphinema index* puede adquirir el *Grapevine Fanleaf Virus* de otras plantas infectadas en un corto periodo de alimentación, de 5-15 minutos; en cambio, otros requieren de un periodo de tiempo de 24 h. En ocasiones, algunos nematodos pueden permanecer con el virus por un tiempo mayor a un año después de adquirirlo, sin embargo, otros pueden perder la habilidad de transmisión en un mes, pues esta no es persistente (O'Bannon y Inserra 1990).

Figura 22. Género *Xiphinema*.

Algunos de los virus transmitidos por los nematodos daga durante la alimentación son el virus de la hoja de la escofina de la cereza, el virus de la mancha anular del tomate (ToRSV) y el virus de la mancha anular del tabaco (TRSV).

- **Ciclo de vida:** Similar a otros nematodos ectoparásitos vermiformes, los juveniles emergen del huevo, ocurriendo cuatro ecdisis, incrementando su tamaño en cada muda hasta convertirse en adultos **(Figura 22)**, todos los estadios son infectivos, la reproducción ocurre por partenogénesis, es común en muchas de las especies (Heve et al. 2018).
- **Especies:** Se conocen alrededor de 260 especies, varias de ellas son de importancia económica por ser vectores de virus fitopatógenos (*X. americanum*, *X. bricolense*, *X. californicum*, *X. rivesi*, *X. intermedium*, *X. tarjanense*, *X. diversicaudatum*, *X. index* y *X. italiae*) (Decraemer y Geraert 2013).

7.9. *Nacobbus* - Falso agallador

Se denomina así porque produce síntomas similares en apariencia a los de *Meloidogyne* y su diagnóstico se basa en los síntomas observados a campo, si bien, erróneamente, puede ser confundido debido a la similitud de las agallas (Lehman 1985).

- **Hospederos:** Tiene gran importancia en cultivos hortícolas: solanáceas como papa y tomate, remolacha azucarera, caña de azúcar, leguminosas como el poroto, crucíferas, entre otras (Manzanilla-López et al. 2001).
- **Síntomas:** Manchones en las parcelas, a causa de plantas con poco desarrollo. Las plantas sufren una reducción del crecimiento apical, clorosis en las hojas, además de marchitez. En el tomate los frutos tienen un menor tamaño. En las raíces se forman las agallas (Manzanilla-López et al. 2001).
- **Ciclo de vida:** Los juveniles y hembras jóvenes son migratorios, sedentarios y endoparásitos de las raíces. El segundo estadio juvenil se mueve intercelularmente. Son capaces de inducir las agallas, pero los sín-

tomas no siempre se manifiestan. El tercer y cuarto estadio de la hembra son móviles, migran del suelo a las raíces, en las cuales quedan completamente embebidas estimulando la formación de agallas. El cuerpo de la hembra se desarrolla dentro de las agallas. Colocan sus huevos en un saco gelatinoso. El ciclo de vida varía con la temperatura y se completa en 36 días a 25 °C y en 43 días entre 20 °C a 30 °C (Thorne 1961).

- **Especies:** Este género de nematodos está distribuido en Latinoamérica, como Argentina, Chile, Bolivia, Ecuador, México, y en América del Norte, específicamente Estados Unidos. Algunas especies son *Nacobbus aberrans*, *N. dorsalis*, *N. bolivianus*, *N. serendipiticus*.

7.10. *Aphelenchoides*

- **Hospederos:** Los más destacados son arroz, frutilla, caña de azúcar, plantas ornamentales, forrajeras, poroto, soja, algodón; afectan también ornamentales como margarita, clavel, calén-dula (Pérez y Fernández 2004).
- **Síntomas:** *Aphelenchoides besseyi* en la soja causa la enfermedad conocida como "Soja Loca II", ocasionando que los tallos permanezcan verdes. Ocurre retención foliar, aborto de flores y vainas, es decir, le impide concluir su ciclo (Favoreto y Meyer 2019).

  En el arroz la enfermedad se denomina "punta blanca", ya que las hojas presentan el ápice de color blanco, puede empezar a notarse al final del ahijamiento, posteriormente se necrosan, se tornan filiformes y retorcidas, siendo las más afectadas las hojas superiores y la hoja bandera. Las plantas enfermas tienen menos vigor, así como retardo y reducción del crecimiento, retrasando la maduración. Así también, las panículas son más pequeñas y a veces presentan las puntas atrofiadas, reduciendo el número de granos, los cuales son más pequeños o con deformaciones. Asimismo, pueden darse granos vacíos con cascarilla retorcida (Carreres 2010).
- **Ciclo de vida:** Cuando las semillas de arroz son infectadas por *A. besseyi*, los nematodos se vuelven rápidamente activos durante el crecimiento; se los

puede encontrar dentro de la hoja más interna alimentándose ectoparasíticamente alrededor del meristema apical. Estos organismos pueden ingresar a las espiguillas antes de la antesis, y se alimentan en los ovarios, estambres y embriones; no obstante, es más abundante en la superficie exterior de las glumas. En la etapa de llenado y maduración del grano, la reproducción cesa. Los nematodos se enrollan y quedan agregados en el eje de la gluma (Bridge et al. 2005).

La temperatura óptima para la oviposición y la eclosión es de 30 °C, temperatura a la cual el ciclo de vida dura de 10 ± 2 días y se extiende significativamente cuando la temperatura se encuentra por debajo de los 20 °C.

- **Especies:** Más de 150 especies de este género son de vida libre y micófagas. Existen pocas especies de fitonematodos como *A. fragariae*, *A. ritzemabosi* y *A. besseyi*, siendo este último el más importante.

8. Nematodos secundarios

Los nematodos anteriormente citados tienen grandes capacidades de producir pérdidas en los cultivos de importancia económica y cuando realizamos extracciones de nematodos en muchas ocasiones identificamos otros géneros de nematodos, a veces encontrados en densidades poblacionales muy elevadas, pero se desconoce el potencial de daño que puedan ocasionar en los cultivos, por eso son considerados parásitos secundarios.

En el Proyecto PIRT 19-2, "Distribución y abundancia de nematodos fitoparásitos de importancia socioeconómica en las principales zonas de producción agrícola del Paraguay", hemos comprobado esto, pues, además de nematodos reconocidos por su capacidad parasítica, se identificaron nematodos como *Tylenchorhynchus*, *Helicotylenchus*, *Trichodorus*, *Hoplolaimus*, *Xiphidorus*, *Scutellonema*, *Criconemella*, *Hemicycliophora*.

Cabe destacar que algunas especies de este grupo de géneros tienen reportes de asociaciones con cultivos.

El género ***Tylenchorhynchus*** (Figura 23) puede producir la atrofia de raíces y brotes, clorosis y, a veces, marchitez y defoliación, pudiendo afectar a varias especies como al maíz, *T. annulatus* ha sido reportado en campos de este cultivo. *T. dubius* puede parasitar los pelos radiculares y las células epidérmicas de las raíces del rábano y de *Lolium multiflorum* (Ferraz y Brown 2016; Simon et al. 2020).

Figura 23. Género *Tylenchorhynchus*.

Algunos síntomas producidos por el género ***Helicotylenchus*** (Figura 24) se inician con lesiones pequeñas de color castaño rojizo a negro en las raíces que luego coalescen y se extienden por toda la raíz, dando lugar a una necrosis severa. *H. multicinctus* y *H. dihystera* reducen la producción de plantaciones de banano y plátano (Guzmán-Piedrahita 2011). También, *H. dihystera* puede afectar a diversas especies de plantas como el trigo, arveja, soja y mileto (Kirsch et al. 2016).

Figura 24. Género *Helicotylenchus*.

Los nematodos del género ***Trichodorus*** (Figura 25) impiden el crecimiento de las raíces, dando origen al aumento del volumen de las extremidades, necrosis y

paralización del crecimiento de las raíces secundarias. Este efecto se refleja en numerosas raíces cortas y gruesas, llamadas de raíces enanas o achaparradas (Almeida y Decraemer 2005). Puede afectar a especies frutales como el manzano, también al maíz y céspedes como *Zoysia* y *Cynodon dactylon* (Shaver et al. 2015).

Figura 25. Género *Trichodorus*.

Hoplolaimus (Figura 26) puede afectar varias especies de cultivos, céspedes y árboles. Por su parte, *Hoplolaimus columbus* infecta a varias malezas como *Ipomoea*, *Cassia*, *Cyperus*, *Trifolium* y *Amaranthus*. Por otro lado, en la soja ocasiona una fuerte reducción del crecimiento de las plantas, con síntomas de deficiencias nutricionales. En el cultivo de algodón, se observan raíces poco desarrolladas y las hojas presentan clorosis (Holguin et al. 2016).

Figura 26. Género *Hoplolaimus*.

Los nematodos del género ***Scutellonema*** (Figura 27) afectan a cultivos como caña de azúcar, soja y plantas ornamentales. En el cultivo del ñame *S. bradys* es el nematodo más importante, pues inviabiliza los tubérculos, ya que los síntomas se inician con lesiones levemente amarillentas que avanzan a una pudrición seca, negra o de color marrón, que puede tener rajaduras. La enfermedad se extiende a la poscosecha donde el nematodo continúa alimentándose y se reproduce en el ñame en condiciones de almacenamiento (Moura 2016).

Figura 27. Género *Scutellonema*.

Criconemella xenoplax (Figura 28) puede ocasionar el atrofio y la muerte de raíces, así también clorosis y pérdida de vigor en pomares de duraznero. Además, puede alterar la dormancia afectando la capacidad de las plantas de soportar el estrés ambiental (Gomes at al. 2010).

Figura 28. Género *Criconemella*.

9. Morfología y anatomía para fácil identificación bajo el microscopio

9.1. *Meloidogyne*

- Los juveniles J2 son la etapa común de encontrar en el suelo, los cuales no se pueden diferenciar entre machos y hembras (Figura 19).
- A veces se presentan los machos adultos, siendo mucho mayores a los J2.
- Hembras de forma esférica incrustadas en las raíces, con masa de huevos generalmente en la superficie de la raíz.
- El estilete de los J2 es poco llamativo, tiene unos 10 µm de largo con nódulos basales, visibles con el aumento de 40x.
- El esófago se superpone al intestino de forma ventral. *Aclaración: la parte ventral del cuerpo es aquella en donde se encuentran las aberturas naturales del nematodo, como el poro excretor, el ano, la vulva, etc.
- La cola de los J2 es conoide, alargada, la punta tiene contorno irregular e internamente claro (hialino).

9.2. *Globodera* y *Heterodera*

- J2 y los quistes son las únicas dos etapas que generalmente se encuentran en el suelo.
- *Heterodera* tiene quistes en forma de limón y *Globodera* en forma de esfera. El cuello de la hembra está incrustado en las raíces, pero el cuerpo permanece expuesto. Los huevos quedan retenidos dentro del cuerpo de la hembra.
- En los J2 la estructura de la cabeza es muy esclerotizada y el estilete tiene 20-30 µm con nódulos basales distintos.
- El esófago del J2 se superpone de forma ventral al intestino.
- La cola de los J2 es conoide, puntiaguda e hialina.

9.3. *Pratylenchus*

- Estilete fuerte y corto, de 15-19 µm **(Figura 20)**.
- La región de los labios ayudará a hacer una rápida identificación del género, es ancha y plana, y continua con el contorno de cuerpo. El esqueleto de la cabeza es distintivo.
- El esófago se superpone al intestino ventralmente.
- La vulva se localiza entre el 67 a 85 % del cuerpo.
- La forma de la cola varía de acuerdo a la especie.

9.4. *Radopholus*

- Hembra con estilete corto de 17 a 20 µm.
- El macho tiene una región labial alta y redondeada con un estilete reducido.
- La zona de la cabeza es similar a *Pratylenchus*.
- El esófago se superpone dorsalmente al intestino. *Aclaración: la parte dorsal del cuerpo es el lado en el que no están los orificios naturales del cuerpo del nematodo.
- En el caso de *R. similis*, la vulva está localizada en el 55 % del cuerpo.
- La cola es larga, va afinándose hasta un extremo redondeado o casi puntiagudo. Esta es una característica para identificarlo.

9.5. *Ditylenchus*

- Estilete corto y delgado de 10 a 12 µm, con nódulos basales.
- Bulbo medio con o sin válvula.
- La vulva está localizada en el 75 a 80 % del cuerpo del nematodo.
- La cola es conoide con el extremo puntiagudo.
- Se mueve muy rápido.

9.6. *Rotylenchulus*

- Tanto los J2 como las hembras inmaduras se encuentran en el suelo **(Figura 21)**.
- Las hembras tienen forma de riñón, estando parcialmente incrustadas en las raíces, cubiertas por la masa de huevos.
- Hay algunas especies en las que los machos tienen un estilete reducido.

- La posición de la vulva es en el 65 a 70 % del cuerpo.
- En su estado juvenil, se pueden diferenciar a las hembras de los machos por sus aparatos reproductores.
- Los estiletes de J2 y las hembras miden 12 a 15 µm, con nódulos basales.
- El esófago se superpone al intestino ventralmente.
- Cola conoide, con una pequeña punta redondeada.

9.7. *Xiphinema*

- Cuerpo largo de 1,5 a 5 mm (Figura 22).
- Odontoestilete largo, delgado y un odontóforo con extensiones basales esclerotizadas, pareciendo la forma de un hueso. Longitud total 100 µm. En los juveniles se puede observar el estilete de reserva.
- Anillo guía alrededor del extremo posterior del estilete.
- Esófago con forma de botella, dividido en dos partes.
- Ausencia de bulbo medio.
- La cola es levemente puntiaguda y la diferencia con *Xiphidorus* es que este tiene la cola un poco más alargada y con la punta redondeada.

9.8. *Nacobbus*

- La hembra adulta tiene el cuerpo hinchado, de forma fusiforme a globoso.
- El esófago se superpone dorsalmente al intestino.
- Válvula esófago-intestinal subdesarrollada.
- La cola es corta, con el extremo redondeado.
- Los machos tienen una bursa pequeña.

9.9. *Aphelenchoides*

- Nematodos delgados.
- Estilete corto y fino (<20 µm), sin nódulos basales muy vistosos.
- Bulbo medio redondeado y llamativo. Esta característica es importante para identificarlo con más rapidez.
- El esófago se superpone de forma dorsal sobre el intestino.
- La vulva se encuentra localizada en el 65 a 70 % del cuerpo.
- La cola es conoide con su extremo puntiagudo.
- Los machos tienen espículas en forma de espina de rosa.
- Se mueven muy rápido.

9.10. *Tylenchorhynchus*

- Estilete corto de 15 a 30 µm de largo, de grosor medio, con nódulos ligeramente aplastados (Figura 23).
- La zona de la cabeza poco esclerotizada. Esta característica facilita su identificación.
- Esófago contiguo.
- La vulva se localiza en la mitad del cuerpo.
- Cola redondeada.

9.11. *Trichodorus*

- Son nematodos ligeramente gruesos y robustos (Figura 25).
- La característica clave para identificarlo es por su odontoestilete curvado, inconfundible. No tiene nódulos basales.
- Ausencia de bulbo medio.
- Vulva discreta posicionada en la mitad del cuerpo.
- Cola ampliamente redondeada.
- La cutícula a veces se hincha.

9.12. *Hoplolaimus*

- Cuerpo recto y largo (Figura 26).
- Estructura labial y estiletes macizos. La característica destacada de este nematodo son los nódulos basales en forma de tulipán.
- Las glándulas esofágicas se superponen dorsal y lateralmente al intestino.
- La cola es corta y bien redondeada.

9.13. *Helicotylenchus*

- Conocido como nematodo espiral por encontrarlo fácilmente con esa forma, pero no es una característica para identificarlo (Figura 24).
- La glándula esofágica se superpone al intestino principalmente de forma ventral, en algunos casos de forma dorsal.
- Estilete desarrollado con nódulos basales protuberantes.
- Cono del estilete destacado con forma de lanza.

- Cola ligeramente curvada a la parte dorsal del cuerpo terminando con pequeña punta.

9.14. *Scutellonema*

- Las glándulas esofágicas se superponen dorsal y lateralmente **(Figura 27)**.
- Cola corta y redondeada.
- Conocido por tener los fásmidos llamados escutelos grandes característicos en la región preanal.
- 4 líneas laterales generalmente aeroladas al nivel de los fásmidos.

9.15. *Criconemella*

- Nematodo anillado, su cutícula está profundamente estriada, con anillos lisos o ligeramente crenados **(Figura 28)**.
- El primer anillo es reducido, ligeramente separado de los anillos sucesivos.

9.16. *Hemicycliophora*

- Los nematodos de este género tienen una apariencia ligeramente anillada **(Figura 29)**.
- Estilete largo de aproximadamente 90 µm y bien desarrollado.
- Hembras adultas y juveniles tienen una doble cutícula.
- Estilete y doble cutícula ausentes en machos.
- Los nódulos del estilete están inclinados.
- La cola de las hembras se alarga y se afina, terminando en punta.

Figura 29. Género *Hemicycliophora*.

10. Manejo de fitonematodos

El manejo de nematodos fitoparásitos no es una tarea fácil debido a que son microorganismos del suelo que en condiciones favorables de temperatura y humedad se multiplican con rapidez agravándose el problema año tras año, por lo cual se recurre al manejo integrado, utilizando diferentes métodos que incluyen prácticas culturales, físicas, y la aplicación de productos químicos y biológicos, que ayuden a reducir su población en los campos (Pinheiro 2017). Si bien la mayoría de los nematodos de importancia se encuentran ampliamente diseminados, existen otras especies de distribución limitada, en manchones, para tales casos se deben buscar estrategias que eviten el ingreso en locales inexistentes o bien evitar su dispersión dentro del área agrícola (Ferraz et al. 2012).

Con frecuencia, los términos "control" y "manejo" son utilizados indistintamente; no obstante, no significan lo mismo, pues, el control implica la aplicación de una o varias técnicas específicas con el objetivo de eliminar la población de patógenos o del perjuicio causado por la misma, en cambio, el objetivo del manejo no es la erradicación, sino la manipulación del organismo patógeno hasta conseguir la reducción de la densidad de población por debajo del umbral de daño del cultivo, mediante el uso de diversos métodos de control durante un cierto periodo de tiempo.

10.1. Prácticas culturales

Entre las prácticas culturales de forma preventiva, es fundamental la limpieza de maquinarias al trasladarlas de una parcela a otra, con el fin de eliminar el inóculo presente en los terrones de suelo, evitando su diseminación a otros predios de la finca. Otra práctica importante es la preparación de terreno con rastra y disco, a fin de que el efecto de la exposición al sol y las altas temperaturas induzcan la desecación y, por consiguiente, la destrucción de la población de nematodos expuestos a la superficie (Vicente 2007).

Estudios realizados por Chaves y Araua (2012) concluyeron que la rotación de cultivos reduce las poblaciones de nematodos como los del género *Meloidogyne* y *Pratylenchus*, además de la incidencia de *Aphelenchoides besseyi* en frijol.

Otra alternativa es el barbecho, el cual consiste en mantener limpio el terreno, libre de cualquier vegetación, como cultivos y malezas, por un periodo determinado mediante la adopción de carpidas manuales, aradas, rastreadas y aplicación de herbicidas. Esta práctica ha demostrado que reduce la población en un 75 % del nematodo de las agallas *Meloidogyne* en los primeros dos meses de barbecho y se encontró menos del 10 % de sobrevivencia después de tres meses (Pinheiro 2017).

Existen diversos estudios que demuestran que la adición de materia orgánica de diferentes especies de animales reduce la población de nematodos, los productos de la descomposición tienen efectos inmediatos sobre las poblaciones, los mismos pueden ser liberados de forma muy lenta, en concentraciones demasiado bajas o bien si la presencia de productos críticos se mantiene durante mucho tiempo, la enmienda orgánica puede estimular un aumento de actividad de antagonistas biológicos, además de contribuir al fortalecimiento de las plantas debido a la adición de nutrientes (Akhtar y Malik 2000).

Otras prácticas culturales recomendadas para la disminución de la población de nematodos son el uso de plantas trampas, ya que en estudios realizados por Cuadra et al. (2000), en los que utilizaron lechuga (*Lactuca sativa*), rábano (*Raphanus sativus*) y acelga (*Beta vulgaris*), se obtuvo una disminución considerable de los niveles de infestación, al ser utilizados en un plan de rotación de cultivos, extrayendo raíces y sustrato al momento de la cosecha.

Otras prácticas importantes incluyen el uso de plantas tolerantes, y la época de siembra, debido a que la densidad de la población de nematodos fluctúa con la estación climática y la edad del cultivo (Andrés 2002).

10.2. Método físico

Entre los métodos físicos para reducir la población de fitonematodos se encuentra la solarización, la cual consiste en el calentamiento del suelo a tal temperatura que produzca la reducción de patógenos establecidos en el mismo. Esta técnica se realiza cubriendo el suelo con polietileno transparente de baja densidad (40-100 micrones) con el fin de incrementar y mantener el efecto de la radiación solar durante 40-45 días; los rayos solares inciden de forma perpendicular en la superficie del suelo y mejoran la efectividad de la técnica, en cambio, su efecto puede verse dis-

minuido con las lluvias frecuentes o días nublados durante el periodo del tratamiento (Vuelta 2014).

Otro método de manejo de estos patógenos que implica la acción del calor es la termoterapia, en el cual se emplea el uso del vapor o la inmersión de estructuras vegetales en agua caliente, a temperaturas superiores a 43 °C (Ferraz et al. 2012).

Uno de los métodos similares a la solarización es la biofumigación, en la que se liberan al suelo compuestos originados naturalmente por la descomposición de residuos orgánicos, pudiendo ser utilizados a partir de distintos tipos de estiércol, hasta residuos de cultivos como batata, papa, sorgo, brassicas, maíz, etc., y estos son incorporados en el momento previo a la cobertura con polietileno (Mitidieri 2005).

La inundación consiste en mantener inmersa el área infestada en agua próxima al punto de saturación. Esta práctica es efectiva en condiciones de alta temperatura y, especialmente, en suelos con alto tenor de materia orgánica, si bien el hecho de que los requisitos necesarios para su implementación lo restringen bastante, se puede implementar en áreas donde el nivel del agua puede ser fácilmente controlado, para permanecer así durante varias semanas. Este método mata indirectamente a los nematodos, ya que la reducción de la aireación restringe el movimiento y la alimentación y, directamente, a la producción de compuestos tóxicos provenientes de la materia orgánica (Ferraz et al. 2012).

10.3.Control biológico

El término control biológico se aplica al uso de organismos vivos para suprimir la densidad de población o el impacto de un organismo plaga específico; en este caso, el control biológico de nematodos es definido como la regulación de las poblaciones de nematodos o su daño a través de la acción de organismos antagonistas, ocurriendo esto de forma natural o mediante la manipulación del medio ambiente o la introducción de antagonistas. Hoy en día, es de conocimiento que existe una amplia variedad de organismos que actúan contra los nematodos fitoparásitos; entre estos se pueden citar a los hongos, bacterias, virus y protistas antagonistas de otros nematodos (Poveda et al. 2020).

Los hongos nematófagos depredadores (atrapadores) y endoparásitos ocupan alrededor del 73-76 % del total de los esfuerzos de investigación sobre antagonistas natu-

rales de nematodos fitoparásitos (Bilgrami 2008). Los hongos endoparásitos se caracterizan por la formación de estructuras adhesivas o de ingestión (conidios adhesivos o ingeribles, o zoosporas móviles) que infectan a los nematodos o parasitan sus huevos formando un apresorio, esta estructura se define como un sistema hifal desarrollado por el hongo que se adhiere al huevo segregando enzimas que permiten la penetración. Por otro lado, los hongos depredadores se caracterizan por producir una red hifal extensa, estos poseen unas estructuras predadoras tales como hifas adhesivas septadas, redes adhesivas, ramificaciones adhesivas, anillos no constrictores o especializados que forman anillos que atrapan a los nematodos vivos (Peraza et al. 2011).

Otros grupos de hongos nematófagos son clasificados de acuerdo a su especificidad, los hongos parásitos de huevos infectan los estadios no móviles (huevos) de nematodos, producen apresorios que se adhieren a la cubierta, penetrándola y digiriendo su contenido. Asimismo, existen hongos productores de toxinas, ya que en sus hifas contienen gotas de toxinas, que al ponerse en contacto con el nematodo lo inmovilizan y las hifas del hongo crecen quimiotrópicamente a través de la cola del nematodo, llegando al punto de ser digerido (Barrón 1977). Peraza et al. (2011) agregan un último mecanismo en el cual el hongo *Stropharia rugosoannulata* tiene la capacidad de matar nematodos dañando mecánicamente a la cutícula, con una estructura especial en forma de boca espinosa llamada acantocito.

Existen diversas cepas comerciales de antagonistas entre las que se encuentran *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* y *Arthrobotrys oligospora* (Abd-Elgawad 2016), Peraza et al. (2011) agregan a la lista de antagonistas a *Fusarium oxysporum*, *F. tabacinum*, *Monacrosporium* sp. Otros hongos incluidos por Ferraz et al. (2012) son *Hirsutella rhossiliensis*, *Catenaria auxiliaris*, *Nematophtora gyniphila*, *Acrostalagmus* spp., *Harposporium* sp., y *Myrothecium verrucaria*.

Las bacterias presentan varios mecanismos de acción con los que pueden afectar a los nematodos, entre los cuales están incluidos el efecto de metabolitos secundarios (enzimas, toxinas y antibióticos), el parasitismo, competencia por nutrientes, promoción de la resistencia sistémica en las plantas, interferencia en el reconocimiento de los nematodos por parte de planta hospedera (Rodríguez 2014). Además, en las plantas pueden for-

mar una asociación simbiótica o encontrarse como organismos de vida libre en el suelo (Migunova y Sasanelli 2021).

Muchas especies de bacterias presentan una extraordinaria capacidad para producir compuestos orgánicos volátiles tóxicos para los nematodos, entre ellos se destacan *Pseudomonas fluorescens* y especies de *Bacillus* como *B. subtilis*, *B. weihenstephanensis*, *B. megaterium* (Pereira et al. 2019), así también Migunova y Sasanelli (2021) reportan que *Agrobacterium* sp., *Arthrobacter* sp., *Azotobacter* sp., *Clostridium* sp., *Desulfovibrio* sp., *Serratia* sp., *Burkholderia* sp., *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Chromobacterium* sp., *Pasteuria penetrans* y *Corynebacterium* sp. poseen un potencial para el manejo de nematodos.

10.4. Aplicación de compuestos orgánicos

La aplicación de materiales orgánicos permite el incremento de poblaciones de microorganismos benéficos, que a su vez tienen un efecto nematicida a través de la actividad microbiana relacionada con la liberación de amonio. Estos materiales tienen una baja relación C/N con altos contenidos de proteínas y aminas. Las enmiendas con efecto nematicida tienen una relación C/N menor a 20. Entre los materiales incorporados al suelo con función biofumigadora se encuentran las brassicas, que liberan compuestos denominados glucosinolatos, que junto a los isotiocianatos realizan un papel importante en la supresión rápida de patógenos (Vuelta 2014).

Entre algunas plantas con acción nematicida se puede mencionar al árbol de Neem (*Azadirachta indica*), del cual pueden utilizarse sus hojas y semillas, al igual que sus derivados como aceite, aserrín y tortas oleaginosas, ya que contienen compuestos como nimbina, salanina, tionemona y azadiractina, además de varios flavonoides (Akhtar y Malik 2000).

En el caso de la *Canavalia* sus semillas contienen Concavalina A, lo que le confiere la capacidad de interferir en la atracción y migración de nematodos en sus hospederos, y, en consecuencia, imposibilita la capacidad de iniciar procesos de infección. Los extractos de tallos y raíces de las plantas del género *Mucuna* contienen diferentes sustancias como la prunetina y la genisteína mediante las cuales produce altos porcentajes de mortalidad en *M. incognita* y *H. glycines*.

Los residuos de plantas de la familia Asteraceae, entre los que se destaca el género *Tagetes*, pueden ser utilizados en la rotación de cultivos o incorporándolos al suelo para el control de nematodos como *Meloidogyne* y *Pratylenchus*, ya que produce un fuerte agente oxidante mediante el compuesto α-tertienil y sus derivados, así actúa en la membrana provocando su distorsión e inactivando enzimas. Otras especies incluyen *Artemisa* spp. *Chrysanthemum coronarium* y *Ricinus communis*, que producen sustancias que inducen la supresión de poblaciones (Pereira et al. 2019).

Una especie vegetal interesante utilizada en el sistema de rotación de cultivos es *Crotalaria* spp., pues actúa como planta trampa para nematodos, lo que, es más, presenta efectos alelopáticos sobre un gran número de nematodos fitoparásitos, reduciendo la densidad población de estos organismos al incorporar el follaje (Marahatta et al. 2012).

10.5. Control químico

Los nematicidas de origen químico resultan eficaces para reducir los niveles poblacionales de los nematodos fitoparásitos. Por otra parte, para su aplicación se deben tener en cuenta los aspectos edafoclimáticos de donde se desarrollará el cultivo y los momentos oportunos para la aplicación. A su vez, deben ser combinados con métodos culturales y biológicos para obtener resultados óptimos y mantener la calidad ambiental dado que su aplicación puede tener efectos negativos para los microorganismos del suelo, repercutiendo en su fertilidad natural, en cambio, ayudará a disminuir la pérdida económica por parte de los productores optimizando el beneficio en un largo periodo de tiempo (Chávez 2019).

Sasanelli et al. (2021) clasifican a los nematicidas como fumigantes y no fumigantes. En el primer grupo se incluyen aquellas sustancias aplicadas un mes antes de la siembra o el trasplante. Este grupo es altamente volátil y cuando son aplicados al suelo se evaporan llenando sus espacios gaseosos. Por este hecho es necesario que el suelo sea cubierto con un material plástico, a fin de retener las moléculas gaseosas y que el tratamiento sea eficaz. Son incluidos dentro del grupo de los fumigantes el Metam-Sodio, el Metam-Potasio y el Dazomet.

Los mismos autores describen al grupo de productos no fumigantes como productos de baja fitotoxicidad, pudiendo utilizarse en el trasplante, la siembra o durante

el ciclo del cultivo. Dentro de estas formulaciones se incluyen los compuestos fosforgánicos, carbamatos, benzamidas, avermectinas con diferentes mecanismos de acción que inducen a la muerte de los nematodos.

11. Referencias bibliográficas

Adam, M; Diab, S; Farahat, A; Alsayed, A; Heuer, H. 2018. Molecular identification, race detection, and life cycle of *Rotylenchulus reniformis* in Egypt. Nematropica 48:59-67.

Agrios, G. 2005. Plant Pathology (en línea). USA. ELSEVIER.

Abd-Elgawad, M. 2016. Biological control agents of plant parasitic nematodes. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 26(2): 423-429.

Akhtar, M; Malik, A. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. Bioresource Technology 74(2000):35-47.

Alfenas, AC; Mafia, RG. 2016. Métodos en Fitopatología. 2da ed. Brasil. Editora UFV. 516p.

Almeida, MTSCM de, Decraemer W, 2005. Trichodoridae, família de nematóides vetores de 16 vírus. In: Luz WC da, Fernandes JM, Prestes AM, Picini AC, eds. Revisão Anual de 17 Patologia de Plantas. Passo Fundo, R.S., Brasil, 115-90. Vol. 13

Andrés, M. 2002. Estrategias en el control y manejo de nematodos fitoparásitos. Centro de Ciencias Medioambientales (CCMA-CSIC). 221-227p.

Archidona, A; Cai, R; Navarrete, C; Carreira, J; Rey, A; Viñegla, B; Liébanas, G; Palomares, J; Castillo, P. 2020. Morphostatic speciation within the Dagger Nematode *Xiphinema hispanum*-Complex Species (Nematoda: Longidoridae). Plants 9; 1649. 27p.

Baermann, G. 1917. Eine einfache method zur auffindung von ankvlostomum (Nematoden) larven in erdproben. Ned. Indie, 57: 131-137.

Barrón, GL. (1977). The Nematode-destroying fungi. Topics in Mycobiology No. 1. Canadian Biological Publications Ltd., Guelph.

Bilgrami AL. 2008. Biological control potentials of predatory nematodes. *In:* A. Ciancio, KG Mukerji (editors) Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes, Springer.

Bird, G; Abawi, G; Lamondia, J. 2018. Plant parasitic nematodes of New York, New Jersey and Pennsylvania. *In:* Plant parasitic nematodes in sustainable agriculture of North America. Vol 2, Springer. 458p.

Bridge, J; Plowright, R; Peng, D. 2005. Nematode Parasites of Rice. *In:* Plant parasitic nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2ed. CAB International. 917p.

Carreres, R; Rovira, V; García, A; Juan, M. 2010. Punta blanca: Enfermedad del arroz ocasionada por el nematodo *Aphelenchoides besseyi*. Agrícola Vergel. 24-31.

Chen, ZX; Chen, SY, Dickson, DW. 2003. Nematology Advances and Perspectives. Nematode Morphology, Physiology and Ecology. Vol. 1. Tsinghua University, Beijing, PR. China. 636p.

Chaves, N; Araya, C. 2012. Efecto de la rotación de cultivos en la incidencia del Amachamiento (*Aphelenchoides besseyi* Christie) en frijol. Agronomía Costarricense 32(2).

Chávez, W. 2019. Control químico, etiológico y cultural del nematodo del quiste (*Globodera* spp.) en papa (*Solanum tuberosum* L.), Distrito de Longuita – Amazonas. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Tesis. 44p.

Coolen, WA; D'Herde, CJ. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent State Agricultural Research Centre. Merelbeke, Belgium. 77 p.

Coyne, J; Nicol B; Claudius, C. 2009. Nematología Práctica: Una guía de campo y laboratorio. Benín. IITA. p.1-2.

Cuadra, R; Cruz, X; Fajardo, J. 2000. Cultivos de ciclo corto como plantas trampas para el control del nematodo agallador. Nematropica 30:241-246

Decreamer, W; Geraert, E. 2006. Ectoparasitic nematodes. *In:* Plant Nematology. 2 ed. CAB International. 565p.

Duncan, L. 2005. Nematodes in citrus. *In:* Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture: nematodes parasites of citrus CAB International, St. Albans, UK, p. 437-466.

Dunn, RA. 1969. Extraction of cysts of *Heterodera* species from soils by centrifugation of high-density solutions. Journal of Nematology 1:7.

Escuer, M. 1998. Nematodos del género *Ditylenchus* de interés fitopatológico. Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas 24: 773-786.

Favoreto, L; Meyer, MC. 2019. O nematoide da haste verde. Embrapa Soja CIRCULAR TÉCNICA 147 (May).

Ferraz, L; Brown, D. 2016. Nematología de plantas: fundamentos e importância. Norma Editora. Sociedade Brasileira de Nematologia. 268p.

Ferraz, S.; Freitas, LG., Lopes, EA.; Dias - Arieira, CR. 2012. Manejo Sustentable de Fitonematoides. Viçosa. MG, Ed. UFV. BR. 304 p.

Franco, J. 1986. Nematodos del quiste de la papa: *Globodera* spp. Lima, Pe, Centro Internacional de la papa (CIP).

Gonzaga, V; Gonçalves, C. 2018. *Ditylenchus destructor* Thorne (Tylenchida: Anguinidae) *In:* Priorização de pragas quarentenárias ausentes no Brasil. Brasilia, Br. EMBRAPA. 277-291p.

González, H. 2005. Nematodos fitoparásitos que afectan a frutales y vides en Chile. Santiago, Chile, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Boletín INIA n.° 149. 176 p.

Oliveira, CM.; Santos, MA.; Castro, LH. 2016. Diagnose de Fitonematoides. Campinas, SP. Millennium Editora. 367 p.

Gomes, CB; Luiz, F; Carvalho, C; Guilherme, J; Júnior, C; Radmann, EB. 2010. Avaliação do potencial de coberturas verdes e supressão do nematoide anelado (*Mesocriconema xenoplax*) em pré-plantio ao pessegueiro. Revista Brasileira de Fruticultura. 32:74-81.

Goulart, A. 2008. Aspectos Gerais sobre Nematóides-das-lesões-radiculares (gênero *Pratylenchus*). Planatina, Br. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA.

Grassi Freitas, L., D'Arc de Lima Oliveira, R., Ferraz S. 2009. Introdução a Nematologia. Caderno Didático. Ed. UFV. 92 p.

Heve, W; Crow, W; Mendistu, T. 2018. *Xiphinema* spp. (Cobb, 1913) Inglis, 1983 (Nematoda: Enoplea: Dorylaimia: Dorylaimina: Xiphinematinae). University of Florida. Publication number: EENY-626.

Holguin, CM; Ma, X; Mueller, JD; Agudelo, P. 2016. Distribution of *Hoplolaimus* Species in Soybean Fields in South Carolina and North Carolina. Plant Disease 100:1, 149-153. DOI: https://doi.org/10.1094/PDIS-12-14-1332-RE.

Hui Wang, K. 2019. Reniform Nematode, *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira (Nematoda: Tylenchida: Tylenchoidea: Hoplolaimidae: Rotylenchulinae). University of Florida. 4p.

Hussey, RS; Barker, KR. 1973. Comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter. 57:1025–1028.

Inomoto, MM; Silva, RA; Pimentel, JP. 2004. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *P. coffeae* em quiabeiro. Fitopatologia Brasileira 29(5):551-554. DOI: https://doi.org/10.1590/s0100-41582004000500015.

Jenkis, WR. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter 48:692.

Jones, J; Haegeman, A; Danchin, E; Gaur, H; Helder, J; Jons, M; Kikuchi, T; Lopez, R; Palomares, J; Wesemael, W; Perry, R. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology 14(9):946-961.

Karssen, G. 2013. Inoculum levels of *Meloidogyne hispanica* and *M. javanica* affect nematode reproduction, and growth of tomato genotypes. Phytopatologia Mediterranea. 20p.

Khan, M. 2015. Recent Advances in the Diagnosis and Management of Plant Diseases. Springer. India.

Lehman, P. 1985. *Nacobbus*: The False Root-Knot Nematode. Nematology Circular n.° 119. 4p.

Manzanilla-López, RH; Costilla, MA; Doucet, M; Franco, J; Inserra, RN; Lehman, PS; Prado-Vera, C; Souza, RM; Evans, K. 2001. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): Systematics, Distribution, Biology and Management. Nematropica 1944:149-228. Disponible en: https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.859.555&rep=rep1&type=pdf.

Marahatta, S; Wang, K; Sipes, B; Hooks, C. Effects of *Crotalaria juncea* on the anhydrobiotic state of *Rotylenchulus reniformis*. Nematropica 42(1).

Medina, C; Medina, M; Torres, R; Carvajal, A; Tovar, A. 2018. Alteraciones histológicas causadas por el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en raíces de betabel (*Beta vulgaris* L.). Instituto Politécnico Nacional 46: 193-202.

Meza, P. 2017. Nematodos en ajo (del bulbo y del tallo). Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Santiago, Cl. Consultado 03 jul. 2021.

Migunova, V; Sasanelli, N. 2021. Bacteria as biocontrol tool against phytparasitic nematodes. Plants (Basel) 10(2):389.

Mitidieri, M. 2005. La biofumigación en el marco del manejo integrado de plagas y enfermedades en cultivos hortícolas. Buenos Aires, Ar, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 16p.

Moura, RM. Doenças do inhame-da-costa (*Dioscorea cayannensis*). In: Amorim, L; Rezende, JAM; Bergamin Filho, A; Camargo, LEA. Manual de fitopatologia: doenças das plamtas cultivadas. 5 ed. Ouro Fino, Br, Agronômica Ceres. 480-481 p.

Nival, D; Román, J. 2006. Histopatología de los nematodos *Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, *Rotylenchulus reniformis* y *Meloidogyne incognita* en plátano (*Musa acuminata* x *M. balbisiana*, AAB). J. Agrie. Univ. P.R. 90(l-2):83-97.

O'Bannon, J; Inserra, N. 1990. Nematode vectors – Transmission of plant viruses. Nematology Circular n.° 178. 4p. Disponible en: https://www.fdacs.gov/content/download/10967/file/nem178.pdf.

Pérez, A; Fernández, E. 2004. Nuevos hospedantes de *Aphelenchoides besseyi* (Christie, 1942) en Cuba. Fitosanidad 8(2):45-46.

Peraza, W; Orozco, M; Esquivel, A; Rivera, G; Chaverri, F. 2011. Aislamiento e identificación de hongos nematófagos nativos de zonas arroceras de Costa Rica. Agronomía mesoamericana 22(2):233-243.

Pereira, J; Terra, W; Ferreira, A; Campos, V. 2019. Compostos orgânicos voláteis no controle de fitonematoides. Lavras, Br, Editora Universidade Federal de Lavras. 109p.

Perry, RN., & Moens, M. (Eds.). 2006. *Plant nematology*. CABI.

Pinheiro, JB. 2017. Nematoides em Hortaliças. Brasília, Br, Embrapa. 194p.

Poveda, J; Urias, P; Escobar, C. 2020. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes by Filamentous Fungi Inducers of Resistance: *Trichoderma*, Mycorrhizal and Endophytic Fungi. *Front. Microbiol*. 11:992.

Ravichandra, N. 2014. Horticulturan Nematology. Springer. 434 p.

Riascos, D; Mosquera, A; Agudelo, F; Gonçalves, C; Muñoz, J. 2019. Morpho-molecular characterization of Colombian and Brazilian populations of *Rotylenchulus* associated with Musa spp. Journal of Nematology. 51: 1-13.

Richard, W: Guiping, Y. 2010. Cereal Cyst Nematodes. Oregon State University. Pacific Northwest Extension Publication 620.

Rott, M; Lawrence, T; Belton, M. 2011. Nightshade hosts for Canadian isolates of *Globodera rostochiensis* pathotype Ro. Canadian Journal of Plant Pathology 33(3): 410-415.

Rodríguez, A. 2014. Evaluación del efecto de cepas nativas de *Bacillus* sp., aisladas de un suelo supresivo a nematodos, sobre el nematodo barrenador banano, *Radopholus similis* (Thorne), y el crecimiento de plantas de banano (Musa AAA) bajo condiciones de vivero. Tesis. Msc. Cartago, Costa Rica. Área Académica Agroforestal Programa de Maestría en Gestión de Recursos Naturales y Tecnologías de Producción. Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Román, J. (1978). Fitonematología tropical. Universidad de Puerto Rico, Est. Exp.

Sasanelli, N; Konrat, A; Migunova, V; Toderas, I: Straistaru, E; Rusu, S; Bivol, A; Andoni, C; Veronico, P. 2021. Review on Control Methods against Plant Parasitic Nematodes Applied in Southern Member States (C Zone) of the European Union. Agriculture 11: 602.

Shaver, BR; Martin, SB; Bridges, WC; Agudelo, P. 2015. Effects of *Trichodorus obtusus* on zoysiagrass and bermudagrass root weight and turfgrass quality. Nematology 17(6):671-678. DOI: https://doi.org/10.1163/15685411-00002899.

Shepherd, AM. 1970. Extraction and estimation of *Heterodera*. In: Southey, JF., Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Ministry of Agriculture Fisheries and Food. Her Majesty's Stationary Office, London, 23-33.

Shurtleff, M; Averre III, C. 2000. Diagnosing plant disease caused by nematodes. The American Phytopathological Society, Minesota, EEUU. 186p.

Simon, ACM; Lopez-Nicora, HD; Ralston, TI; Richer, EA, Niblack, TL; Paula. PA. 2020. First Report of Stunt Nematode (*Tylenchorhynchus annulatus*) on Corn in Ohio. Plant Disease 2020 104:9, 2527-2527. DOI: https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0429-PDN

Smiley, RW; Dababat, AA; Iqbal, S; Jones, MGK; Maafi, ZT; Peng, D; Subbotin, SA; Waeyenberge, L. 2017. Cereal cyst nematodes: A complex and destructive group of *Heterodera* species. Plant Disease 101(10):1692-1720. DOI: https://doi.org/10.1094/PDIS-03-17-0355-FE.

Suárez, Z; Rosales, L. 2002. Efecto del nematodo reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Lindford y Oliveira) sobre Maracuyá (*Passiflora edulis* Sims f. sp. *flavicarpa* O. Deg.). Revista Mexicana de Fitopatologia 21(3):2003. 305-308p.

Talavera, M. 2003. Manual de Nematologia Agrícola. Introducción al análisis y al control nematológico para agricultores y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal.

Taylor, DP; Netscher C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematologica. 20:268-269.

Thorne, G 1961. Principles of nematology. New York, EU, McGraw-Hill. 553p.

Veloso, J; Garcia, A; Pereira, W; da Silva, E. 1997. Nematóide de cisto da soja. EMBRAPA.

Vicente, C; Inácio, L; Mota, M; Vieira, P. 2021.O nemátode¬ ¬das ¬lesões¬ ¬radiculares, *Pratylenchus penetrans*. Vida rural 2021. 79-82p.

Vicente, N. 2007. Conjunto tecnológico para la producción de tomate: nematodos. San Juan, PR, Universidad de Puerto Rico. 6p.

Vuelta, D. 2014. La biofumigación y la solarización como alternativas para manejo de plagas del suelo. Ciencia en su PC 1:15-26. Centro de Informacion y Gestion Tecnológica de Santiago de Cuba.

Wainer, J; Dinh, Q. 2021. Taxonomy, Morphological and Molecular Identification of the Potato Cyst Nematodes, *Globodera pallida* and *G. rostochiensis*. Plants 10:184.