

MUESTREO DE SUELO PARA IDENTIFICACIÓN Y CONTEO DE NEMATODOS FITOPATÓGENOS



¿Qué muestrear?



¿Cuándo muestrear?



¿Cómo muestrear?



¿Cómo enviar la muestra?

Los nematodos, en ocasiones denominados anguilillas, presentan forma de gusano, pero taxonómicamente son bastante distintos de los verdaderos gusanos. La mayoría de las especies de nematodos viven libremente en aguas saladas o dulces, o en el suelo, se alimentan principalmente de plantas y animales microscópicos. Numerosas especies de estos nemátodos atacan y parasitan al hombre y a los animales, generando en estos, diversas enfermedades. Asimismo, varias especies de nematodos se alimentan de plantas vivas en las que producen una gran variedad de enfermedades (Agrios, 2005). A nivel mundial, los nemátodos en el suelo, específicamente aquellos que parasitan a las plantas, producen pérdidas de rendimiento del orden de 11 al 14% (Guzmán *et al.*, 2012).

La mayor parte de los nematodos viven libremente en el suelo, alimentándose de las raíces y tallos subterráneos de las plantas. No obstante, aún en el caso de los nematodos sedentarios especializados, los huevecillos, las etapas larvianas y los machos se encuentran en el suelo durante toda su vida o gran parte de ella (Agrios, 2005).

El daño del nematodo en las raíces de las plantas permite que otros patógenos las invadan y debiliten (Lambert & Bekal, 2009). Este daño ocurre por la alimentación directa de los nematodos e incluye la reducción del vigor, distorsión de los tejidos de la raíz (Figura 1) y muerte de los tejidos infectados dependiendo de la especie de nematodo fitopatógeno (Lambert & Bekal, 2009).



Figura 1. Raíz de zanahoria afectada por nematodos (APS press, 2019).

Una vez que el laboratorio analice la muestra de suelo y se identifiquen que géneros de nematodos están presentes, así como sus cantidades, se deberá decidir qué medidas de control son las requeridas (Davis *et al.*, 2013).

PROCESO DEL MUESTREO

¿Qué
muestrear?

La correcta identificación de los nematodos en suelo requiere de una muestra representativa del lote de producción, la cual debe obtenerse del lugar preciso donde se ubican estos organismos. Para esto, es necesario tomar en cuenta la fisiología del cultivo y biología del parásito (Gauna, 2013).



Figura 2. Los nematodos comúnmente se ubican cerca de las raíces durante el periodo final del ciclo del cultivo.

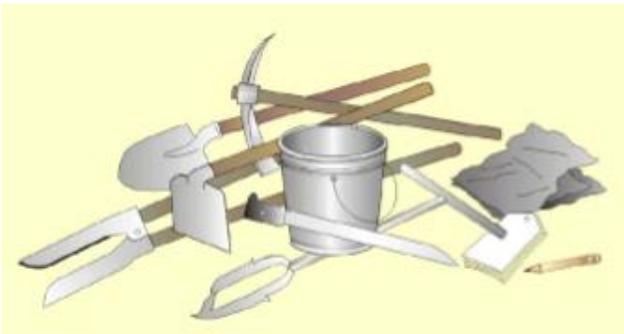


Figura 3. Equipo de muestreo para tomar la muestra de suelo, que incluyen: pala recta, pala dúplex, barrena, cubeta, etiquetas y bolsas de plástico principalmente.

¿Cuándo muestrear?

Los nemátodos del suelo se concentran principalmente en la zona radical de las plantas debido a la presencia de alimento para estos organismos y por la atracción que presentan por las sustancias liberadas en la rizosfera (Figura 2). Asimismo, se suma el efecto denominado "factor de incubación de las sustancias" que se originan en la raíz y se difunden en la periferia de la raíz (Agris, 2005).

El muestreo de suelo para la identificación y conteo de nematodos debe realizarse con el equipo correcto (Figura 3). Todas las submuestras obtenidas en campo se revuelven en la cubeta y se toma una muestra de suelo de 800 gramos a 1 kg (Cuadro 1), que es la que se enviará al laboratorio para su análisis. Por lo tanto, es importante tomar muestras de suelo lo más representativas posible del área donde se establecerá el cultivo para obtener resultados confiables.

El análisis de suelo con fines de identificación y conteo de nematodos fitopatógenos debe realizarse antes de la siembra o en cosecha, donde es recomendable llevar un registro de los niveles de población de estos organismos en las parcelas para evaluar la efectividad de los programas de manejo (Davis *et al.*, 2013).

“El análisis de nematodos previo a la siembra permite decidir que variedad de cultivos establecer y que tratamiento aplicar al suelo”

Cuadro 1. Tipo de parcela, número de submuestras y muestra requerida para análisis.

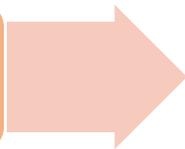
Superficie	Submuestras	Cantidad
100 m ² o más	20-30	0.8 a 1.0 kg
1 ha o más	50	0.8 a 1.0 kg

Los patrones de distribución de las enfermedades ocasionadas por patógenos pueden ser:

- ✓ Circulares (Huertos o en césped)
- ✓ En filas (Solo en algunos cultivos).
- ✓ En toda la parcela (Poco común).

En un estudio en vid, se encontró que en los nematodos juveniles en el suelo alcanzan su punto máximo de población en invierno y se reduce en primavera ya que atacan las raíces de la planta formando agallas (Davis *et al.*, 2013). Por lo tanto, debemos conocer el proceso de interacción entre el patógeno y la planta para determinar donde y cuando muestrear para este tipo de análisis.

¿Cómo muestrear?



“Para confirmar la presencia de nematodos en campo, siempre será necesario el análisis de muestras de suelo y raíces, debido a que estos organismos no pueden ser observados directamente en la superficie del suelo”

Durante el análisis de las muestras de planta o suelo, los nematodos son extraídos de cada matriz e identificados y contabilizados con ayuda de un microscopio (Talavera, 2003). Dado que las poblaciones de estos organismos son desiguales en el suelo debido a la humedad, los procedimientos de muestreo deben encaminarse a obtener una muestra representativa (Davis *et al.*, 2013).

Por lo tanto, al momento del muestreo de suelo debemos considerar que:

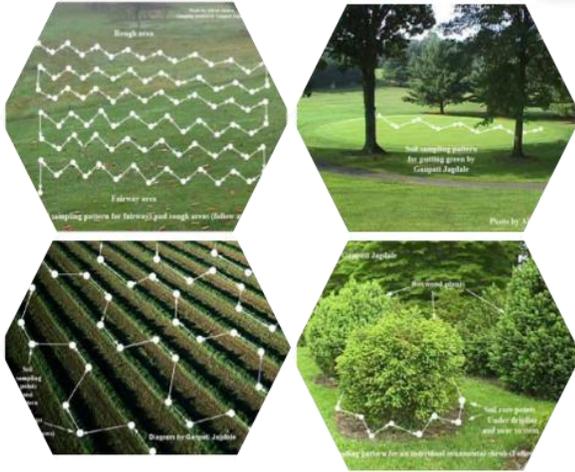


Figura 4. Distribución de los submuestreos en campo para obtener la muestra representativa de suelo (Davis et al., 2013).

“Las muestras de suelo debe enviarse lo antes posible al laboratorio, si no es posible, estas deben refrigerarse o conservarse en un lugar fresco, y de ninguna manera deben exponerse al sol ya que daña a los nematodos (Figura 5)”

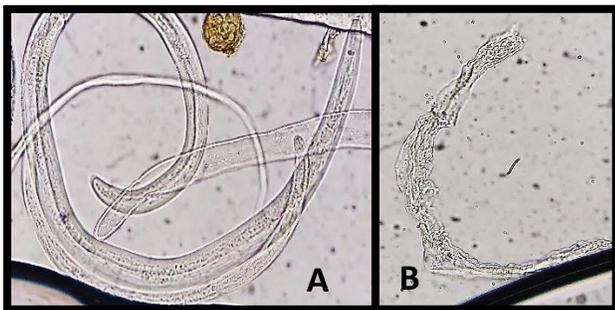


Figura 5. Vista en el microscopio de un nematodo obtenido de una muestra de suelo húmeda (A) y nematodo obtenido de una muestra expuesta al sol (B).

- ✓ Las muestras deben ser representativas del problema fitopatológico que se observa en el cultivo (Figura 4).
- ✓ Independientemente de la herramienta utilizada para obtener la muestra de suelo (barrena o pala), ésta debe estar limpia antes y después de obtener cada submuestra, ya sea de la misma u otra parcela, y el movimiento de las muestras debe ser mínimo para evitar el daño de los nematodos por abrasión.
- ✓ Nunca se deben mezclar diferentes tipos de muestra en la misma bolsa.
- ✓ Evitar el uso de bolsa negra.
- ✓ Los nematodos abundan en la zona radical, por lo que, en cultivos con raíces profundas, las muestras de suelo deben ser tomadas hasta la profundidad donde se ubica la mayor parte de las raíces.
- ✓ Si aplicó un pesticida, se recomienda tomar la muestra 2-3 semanas después de la aplicación o 4-6 semanas si el ingrediente activo fue un fungicida.
- ✓ En vid, se recomienda muestrear a una profundidad de 0 a 30 cm, pero algunas poblaciones de nematodos alcanzan profundidades de hasta 60 cm.

¿Cómo enviar la muestra?

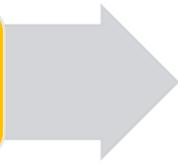


Figura 6. La muestra de suelo para la identificación y conteo de nematodos debe colocarse en una bolsa de plástico (Tanji et al., 2007).

“La etiqueta de la muestra debe llenarse con lápiz de carbón o cera, evitando el uso de tinta de lapicero. Se recomienda enviar la muestra en doble bolsa plástica y colocar la etiqueta en medio de ellas”

Después del muestreo de suelo es importante enviar la muestra inmediatamente al laboratorio., ya que la humedad permite el análisis de nematodos. Asimismo, debemos evitar el uso bolsas de tela o papel para el almacén de la muestra de suelo, ya que pueden favorecer el secado de la muestra. Por lo tanto, las muestras deben colocarse en bolsas de plástico cerradas (Figura 6), mantenerse a temperatura fresca durante el transporte y evitar el contacto directo con la luz solar (Talavera, 2003).

En el caso de análisis de nematodos en matrices que no son suelo, se requieren cantidades diferentes de muestra. En el Cuadro 2 se muestran las cantidades de muestra requeridas para el análisis según el tipo de muestra que se desea analizar.

Cuadro 2. Tipos y cantidad de muestra para análisis de nemátodos.

Tipo de muestra	Cantidad de muestra
Raíz o Bulbo	Mínimo 20 g de raíz (no deshidratada), especialmente incluir raíces que muestren síntomas como agallas, engrosamientos, agrupamiento o que presenten suelo adherido.
Sustrato, composta, líquidos.	0.8 – 1 kg en materiales sólidos. 2 L (en caso de líquidos).



Recomendaciones

1. Utilizar material de protección desechable.
2. Limpiar las herramientas de muestreo con soluciones desinfectantes como alcohol al 70%, Hipoclorito de sodio (cloro) al 3-5% o sales cuaternarias.
3. Evitar el uso de bolsas negras.
4. No exponer las muestras al contacto directo con el sol y evitar el uso de hielo.

Referencias

- Agrios, G. N. 2005. Fitopatología. Editorial Limusa. 819 p.
- Davis, R. F., P. Bertrand, J. D. Gay, R. E. Baird, G. Boyd, E. A. Brown, F. F. Hendrix y J. A. Balsdon. 2013. Guide for interpreting nematode assay results. UGA Cooperative Extension Circular 834. Georgia, USA. 16 p.
- Gauna P. 2013. Técnica de muestreo de suelo para determinar presencia de nematodos que producen agallas en los invernaderos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación experimental agropecuaria bella vista. Hoja de divulgación # 38. 8 p.
- Guzmán, O. A., J. Castaño y B. Villegas. 2012. Principales nematodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica. Agron. 20(1):38-50.
- Lambert, K. y S. Bekal. 2009. Introduction to Plant-Parasitic Nematodes. *The Plant Health Instructor*.
Disponible en: <https://bit.ly/2FHPRFu>
Fecha de consulta: 22-feb-2019.
- Talavera, R. M. 2003. Manual De Nematología Agrícola. Introducción al análisis y al control nematológico para agricultores y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal. Instituto de formación agraria y pesquera. Brasil. 23 p.
- Tanji, K.K., R. Larry, S. Pat y F. Craig. 2007. Salinity Management Guides. WateReuse Foundation.
Disponible en: <https://bit.ly/2tDWi4l>
Fecha de consulta: 22-feb-2019.