

3. MICROFAUNA: NEMATODOS

MONDINO, Eduardo Ariel

3.1. INTRODUCCION

Entre los animales invertebrados multicelulares, los nematodos pertenecientes al *Phylum* Nematoda, son considerados entre los más abundantes, diversificados y especializados del planeta. Están presentes en diferentes ambientes, tener en cuenta que en el suelo necesitan de la película de agua, que se encuentra alrededor de las partículas, para su supervivencia y movimiento. Si agrupamos a los nematodos por hábitat, el 50% son habitantes marinos, 25% viven libres en el suelo, 15% son parásitos de animales, y 10% son parásitos de plantas. La gran diversidad trófica permite a los nematodos ocupar una posición central en la red trófica del suelo, interactuando con sus cohabitantes del suelo, como bacterias, protozoarios, hongos y microartrópodos, y teniendo una importante influencia sobre procesos esenciales del suelo, como así también en el crecimiento de las plantas. Según su modalidad de alimentación podemos clasificarlos en fitófagos, bacteriófagos, fungívoros, omnívoros y predadores. La mayoría de los nematodos del suelo son componentes de la microfauna con un diámetro del cuerpo menor a 0,2 mm, sin embargo diámetros superiores pueden ser encontrados dentro del *Phylum*. Son vermes, usualmente microscópicos y, por lo tanto, es necesario separarlos del suelo para su observación y estudio. Se han desarrollado diferentes técnicas de muestreo y separación de los nematodos. La muestra puede consistir en una cierta cantidad de suelo, tomado de una forma particular, o puede ser una planta arrancada con suficiente cuidado para no perder parte del sistema radical, acompañado de una muestra de suelo de la rizosfera. Todo esto dependerá de los objetivos del muestreo.

Antes de dar comienzo al muestreo es importante realizar una planificación del mismo y un relevamiento del terreno de manera de dividir el lote en áreas uniformes. Tanto las diferencias naturales (relieve, erosión, color, vegetación)

como las diferencias de manejo (tipo de labranza, fertilizaciones, rotaciones, tipos de cultivo), deben ser tenidas en cuenta, para llegar a un muestreo exitoso.

3.2. FRECUENCIA ESPACIAL Y TEMPORAL

Para el análisis del suelo, como se informó anteriormente, es necesario tomar muestras siguiendo un procedimiento para cada tipo de estudio. Si trabajamos con nematodos fitófagos y nos interesa realizar un estudio cualitativo de una comunidad, no es indispensable seguir un patrón; si el objetivo es realizar un diagnóstico, el muestreo debe ser más cuidadoso. Cuando se trata de un estudio cuantitativo, (relación de la densidad inicial con el rendimiento de un cultivo), es preciso un muestreo más riguroso. El tipo de muestreo, tamaño y número de muestras/ha., dependerá del objetivo del estudio, del parámetro a estimar, de la población (distribución espacial, temporal, movilidad, etc.). Esto quiere decir que el método a elegir depende de la pregunta que se quiera contestar.

La disposición espacial de los nematodos fitoparásitos es generalmente agregada o contagiosa. Para los nematodos, el espacio habitable (suelo) es discontinuo, ya que en ciertas zonas, como puede ser cerca de las raíces, las condiciones se acercan al óptimo y es allí donde la concentración de individuos es mayor, pero en sectores más alejados de estas, las condiciones no favorecen su desarrollo.

Si se desconocen las especies de nematodos involucradas, el muestrear casi al final de la estación o cerca de la cosecha, será de gran utilidad ya que es durante este período cuando las poblaciones de nematodos se encuentran en su nivel más alto. Por el contrario, los muestreos tempranos (primavera) nos proveerán de los datos más valiosos para relacionar las densidades y tipos de nematodos en el futuro desempeño del cultivo, a pesar que aquí, los niveles poblacionales son típicamente más bajos.

La adecuación del plan de muestreo a la distribución del patógeno en el suelo no es fácil de satisfacer. Una de las opciones adoptadas con frecuencia es el muestreo sistemático (ej., a intervalos fijos), que puede ser uno de los más convenientes para asegurar que cualquier zona del suelo es muestreada,

independientemente de la magnitud de la infestación. No obstante, la elección de los puntos de muestreo dependerá del cultivo y objetivos del mismo, y puede hacerse completamente al azar, o según un patrón en X, en zig-zag, en líneas paralelas a una diagonal, en parcelas con plantas herbáceas o sin cultivo, o alrededor del tronco de árboles (incluyendo zonas externas e internas del área de la copa) (Figura 7). Las muestras podrán ser tomadas con barreno, muestreadores de suelo y en el caso de no poseer puede usarse una pala (Figura 8). Un muestreador comúnmente utilizado consiste en un tubo de 2,5 cm de diámetro y 20 cm de largo, con lo cual se extraen aproximadamente 100 cm³ de suelo, por golpe de muestreador, lo cual corresponde a una muestra simple (Ms), el conjunto de Ms componen una muestra compuesta (MC), esta consiste en una fracción representativa del área total de suelo que se desea estudiar.

3.3. PROFUNDIDAD DE MUESTREO

La profundidad de la muestra dependerá del hospedante, el tipo de suelo y las especies de nematodos presentes. En términos generales, las muestras obtenidas entre los 15 y 30 cm de la superficie del suelo representan una muestra adecuada. En todos los casos es conveniente eliminar los primeros 3 a 5 cm de suelo superficial en caso de que éste se encuentre demasiado seco o presente residuos vegetales. Aquellas plantas con raíces profundas como el duraznero u otros frutales, requerirán de muestreos profundos de hasta un metro y se deben tomar cerca del borde del follaje y a una profundidad donde las raíces sean abundantes para poder caracterizar completamente las comunidades de los nematodos asociados. En césped (golf, turf) y en lotes con pasturas, las muestras simples (Ms) se deben tomar de 0 a 10 cm de profundidad.

3.4. TAMAÑO DE LA MUESTRA

En nematología es de uso corriente considerar cada muestra (cada golpe de muestreador) como una muestra simple (Ms) y al conjunto de varias Ms como una muestra compuesta (MC), de la cual se analiza una o varias partes; comúnmente las Ms también se denominan submuestras. Una MC debería tener entre 250 y 1000 g. Si se sacó mayor masa de suelo, se debe homogeneizar la MC, reducir su tamaño por cuarteo y poner el peso requerido en una bolsa de

polietileno cerrada. Dependiendo de las características del lote a muestrear, para la estimación de las poblaciones de nematodos, se podrá realizar como sigue:

Una MC debe representar una superficie máxima de 4 ha, con un mismo tipo de suelo y cultivo e igual técnica cultural, y estar compuesta por 25 Ms/ha, como mínimo.

En lotes o invernáculos sin cultivar, se estimará tomando, como mínimo, 4 Ms de suelo cada 1000 m², o bien 20-30 Ms/ha.

En lotes donde haya un cultivo implantado, se tomarán muestras en la zona de las raíces jóvenes, dentro del área que se considera afectada, sacando 4 Ms en el perímetro de la planta, de 0 a 20 cm. de profundidad en cultivos anuales y de 0 a 50 cm o de 0 a 1 m de profundidad en plantas perennes, según la profundidad de las raíces.

En cultivos frutales y forestales se tomará una Ms de suelo/planta sobre un mínimo del 10% de plantas/hilera tomadas al azar, sobre el 40% de las hileras tomadas al azar en frutales y el 20% las hileras tomadas al azar en forestales.

Para los nematodos que se encuentran en el suelo en estado filiforme (juveniles de *Meloidogyne*, *Nacobbus*, *Globodera*, *Heterodera*; juveniles y adultos de *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, etc.), una MC para análisis nematológico no debería ser mayor que 250 g; en cambio, para nematodos quiste (*Globodera*, *Heterodera*) y vectores de virus (*Xiphinema*, *Longidorus*) cada MC debe ser, por lo menos, de 500 g. Si durante el muestreo se obtuvo mayor peso de suelo, mezclar bien las Ms, reducir el tamaño de muestra por cuarteo y colocar el peso requerido a una MC en una bolsa de polietileno cerrada.

En nuestro país, para el diagnóstico del nematodo del nudo de la raíz (*Meloidogyne* spp.) en el cultivo de papa para semilla certificada, el Servicio Nacional de Semillas aconseja tomar una MC cada 5 ha o fracción, donde cada MC corresponde al conjunto de 40 Ms.

3.5. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Planificar el muestreo, dividir el lote a muestrear en áreas uniformes considerando la topografía, vegetación y manejo,
- Realizar el muestreo preferiblemente en otoño o en verano, épocas de mayor densidad de nematodos en el suelo,
- No tomar muestras cuando el suelo está seco o muy húmedo,
- Las MC deben ponerse en bolsas selladas, etiquetarse y evitar la pérdida de humedad, de parte de su contenido o su mezcla con otras muestras, prevenir la exposición al exceso de calor o de la luz directa del sol,
- Limpiar las herramientas de muestreos después de realizado, para evitar futuras contaminaciones.

3.6. ACONDICIONAMIENTO, ENVASADO Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA

Una vez tomadas las muestras, estas se colocan individualmente en bolsas de polietileno o en recipientes adecuados. Las muestras compuestas deben ponerse en bolsas selladas de 1 a 2 litros de capacidad, etiquetarse y colocarse en recipientes aislados para evitar la pérdida de humedad, de parte de su contenido o su mezcla con otras muestras, prevenir la exposición al exceso de calor o de la luz directa del sol, y enviarse a un laboratorio de análisis nematológico dentro de las 48 hs de haberse extraído. El rótulo de la muestra debe indicar la forma de muestreo (al azar, sistemático, número de submuestras/ha), análisis requerido, nombre del productor o de la empresa solicitante, lugar y superficie del lote muestreado, cultivo actual y cultivo anterior a la época de muestreo. Si las muestras van a almacenarse, deben conservarse idealmente en un sitio cuya temperatura oscile entre los 10-15 °C hasta realizar el análisis, o en heladera a 4° C, pero una larga exposición al frío puede matar parte de los nematodos.