



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 – SEPTIEMBRE 2010

“ESTUDIO DE NEMATODOS EN EL CULTIVO DE FRESA”

AUTORÍA ISABEL CUEVAS MALDONADO
TEMÁTICA BIOLOGÍA – ECOLOGIA
ETAPA ESO - BACHILLERATO

Resumen

A partir de diferentes muestras, se realizará un estudio de los tipos biológicos y porcentaje de los nematodos existentes en el sustrato de un cultivo de *Fragaria vesca* (fresa). Se establecerán posibles relaciones entre la sintomatología del mismo y su presencia, resultando de gran interés en la economía de nuestra comunidad. En el presente estudio, se muestra como realizar la pesca, fijación, determinación biológica y características en movimiento de los nematodos, analizando posteriormente los resultados y extrayendo conclusiones.

Palabras clave

Nematodos (Rabditoide - Triloboide - Tilencoide) / Pinzas de relojero / Porta excavado – porta sin excavar / Placa de petri / Lactofenol / estoma / in vivo

1. INTRODUCCIÓN

El objetivo de nuestro trabajo será, una vez determinada la existencia de nematodos en la zona de estudio (término de Bollullos del Condado- Huelva. Localización mediante Sistemas de Proyección U.T.M. 29SQB2032), aislar e identificar los diferentes tipos biológicos y el porcentaje en que se encuentran, llegando a profundizar hasta el Orden, si fuese posible.

Este estudio nos permitirá deducir posibles relaciones entre la sintomatología encontrada en los cultivos y la presencia de estos invertebrados, además de otros factores.

Reconocidos los factores responsables y tratándose a tiempo, se evitaría la pérdida de la cosecha y el consecuente desastre económico de la zona, teniendo en cuenta la relevancia económica que la fresa tiene en la provincia de Huelva, en general y en el término de Bollullos del Condado (zona de estudio), en particular, al ser un cultivo mayoritario.

Como fase previa a este estudio, ha sido necesario un trabajo de campo consistente en el estudio de la zona (sustrato, distribución y variedades del cultivo...) y posterior recogida de muestras.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 – SEPTIEMBRE 2010

Hemos tomado tres macetas de las diferentes zonas, etiquetándolas con los números 1, 2 y 3, según procedan de las zonas B (fruto de tamaño inferior), A (bajo crecimiento) ó C (crecimiento normal) respectivamente.

Tras el trabajo de campo se procedió, en el laboratorio, a la extracción de nematodos del sustrato mediante la Técnica de decantación y filtración obteniéndose 6 muestras a partir de las cuales partiremos nuestro estudio:

- = Dos correspondientes a las 24 h. y a 25" – 15" de decantación.
- = Dos que corresponderán a las 48 h.
- = Dos de las 72 h.

2. PESCA y FIJACIÓN DE NEMATODOS

A partir de las muestras en la que se encuentran todos los nematodos extraídos del sustrato, nuestro trabajo consistirá en pescar los nematodos, aislarlos entre ellos y prepararlos para su posterior determinación biológica.

Para pescar Nematodos podemos utilizar pinzas de relojero (sin estrías), agujas de entomología, de acupuntura...

Los Nematodos se ponen en una placa de Petri con agua, y las pinzas se colocan alrededor del Nematodo. Con ayuda de la misma, lo despegamos del fondo y una vez que están en suspensión se cierran las pinzas de forma que el Nematodo quede en una gota que se origina por capilaridad. Hay que tener cuidado de no romperlos en este proceso si se cierra bruscamente.

Posteriormente, la pinza se lleva hasta un porta excavado que previamente habremos preparado con lactofenol y azul algodón (para teñir el Nematodo). El azul algodón tiñe y mata al Nematodo, pero se seca, por eso se le añade lactofenol que es una sustancia aceitosa. La tinción de la placa completa puede tener el inconveniente de que unos Nematodos se tiñan mucho y otros poco.

Una vez que los Nematodos están teñidos se coge un porta sin excavar, se le añade una gota de lactofenol, muy pequeña y con ayuda de una aguja enmangada se pasan los Nematodos teñidos a dicho porta tapando con un cubre procurando eliminar el lactofenol excedente, si lo hubiera. Si faltara lactofenol, con la pinza mojada en el mismo, se le añadiría.

La unión del cubre y el porta se debe de hacer con mucho cuidado para que no salgan burbujas. La ventaja que nos ofrece el lactofenol es que no se seca y podemos recuperar a los Nematodos con sólo retirar el cubre.

La preparación una vez hecha se deja una semana en una estufa a 45 °C, estará bien fijada si el cubre no se mueve sobre el porta, entonces es cuando se le aplica en los bordes laca de uñas.

3. DETERMINACIÓN DE LOS TIPOS BIOLÓGICOS

Los nematodos se clasifican según su tipo de alimentación en:

A.- Tipo Rabditoide: tienen estoma o cavidad bucal en forma de tubo estrecho. Tiene dos bulbos, uno medio y otro basal. Son bacteriófagos y también se alimentan de materia en descomposición. (Imagen A)

B.- Tipo Triloboide: son carnívoros y depredadores. Tienen un estoma muy desarrollado y grande. En las paredes que están muy endurecidas presentan dientes. En el esófago tienen una fuerte musculatura. (Imagen B)

C.- Tipo Tilencoide : presentan estiletos que pueden ser muy variados (huecos , macizos , con / sin bulbos basales....) . El Orden Dorylaimida presenta estiletos huecos y sin bulbos basales. El Orden Tilenchida posee bulbos basales. (Imagen C)

Imagen A

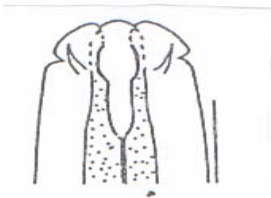
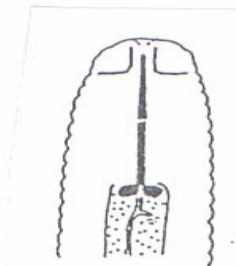


Imagen B



Imagen C



En cuanto a la frecuencia de aparición, Los Rabditoides suelen ser los más frecuentes, en segundo lugar los Triloboides y, por último, los menos frecuentes son los Tilencoides.

4. CARACTERÍSTICAS DE NEMATODOS EN MOVIMIENTO

Además del aislamiento y determinación biológica de los nematodos, este estudio nos permitirá entrenar nuestra capacidad de observación. A través de la observación “in vivo” podemos diferenciar

movimientos característicos, pautas de comportamiento ante diferentes factores denotando la capacidad de los seres vivos de responder ante el medio que le rodea.

Al analizar las muestras de Nematodos “in vivo “, bajo el microscopio, pudimos observar una serie de características propias como es la tendencia a repetir un mismo nacimiento. Además, estos Nematodos presentaban síntomas de estrés cuando les daba la luz y, por tanto, tenían mayor velocidad en dianas nacimientos.

Algunas de las tendencias observadas son:

1.- El Nematodo enrosca simultáneamente la zona anterior y posterior, a continuación se estira y vuelve a repetir el movimiento.

2.-El Nematodo se enrolla sobre sí mismo, se desenrosca y repite la operación.

3.-El Nematodo ofrece una postura curvada, en forma de “S” y su movimiento es sinuoso, alcanzando gran velocidad al recibir la luz.

4.-El Nematodo se pliega en forma de gafas y, a continuación deshace esta forma.

La observación de estas características también nos son válidas a la hora de la determinación de los tipos biológicos.

A continuación aparece una representación gráfica de dichos movimientos:

1.-



2.-



3.-



4.-



5. RESULTADOS

5.1. Resultado de la pesca de nematodos

Los resultados obtenidos tras la pesca de nematodos en las diferentes muestras fueron los siguientes:

- MACETA 1

Correspondiente a la zona B que presentaba posible mariconá (fruto de tamaño inferior)

Tiempo rehidratación	Tiempo de decantación	Nº de Nematodos pescados
24 h.	25"	14
	15"	5
48 h.	25"	0
	15"	0
72h.	25"	2
	15"	2

- MACETA 2

Es la que pertenece a la zona A que tenía plantas de bajo crecimiento.

Tiempo rehidratación	Tiempo de decantación	Nº de Nematodos pescados
24 h.	25"	11
	15"	0
48 h.	25"	21
	15"	0
72 h.	25"	4
	15"	0

- **MACETA 3**

Sustrato correspondiente a un cultivo normal.

Tiempo rehidratación	de	Tiempo decantación	de	<u>Nº de Nematodos pescados</u>
24 h.		25"		<u>6</u>
		15"		<u>0</u>
48 h.		25"		<u>5</u>
		15"		<u>0</u>
72 h.		25"		<u>0</u>
		15"		<u>0</u>

5.2. Resultados de la determinación de tipos biológicos

Además de la determinación biológica y comparativa de las diferentes especies, se realizó un análisis cualitativo determinando la cantidad de machos y hembras. Los datos obtenidos fueron los siguientes:

- **MACETA 1 – ZONA B** (maricona)

		T.RABDITOIDE	T.TRILOBOIDE	T.TILENCOIDE
24 H.	25"	10	0	4
	15"	4	0	1
48 H.	25"	0	0	0
	15"	0	0	0
72 H.	25"	2	0	0
	15"	2	0	0



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 34 – SEPTIEMBRE 2010

Análisis cualitativo.-

24 h.: A) 25”

- 1 Tilencoide,hembra,ligeramente anillado , ano 90%.
- 1 Tilencoide ,hembra,vulva al 50% de longitud corporal.
- 2 Tilencoide
- 4 Rabditoide
- 4 Rabditoide, hembras,colas puntiagudas,vulvas hacia la mitad del cuerpo.
- 2 Rabditoide , hembras , anilladas .

B) 15”

- 4 Rabditoide anillados.
- 1 Tilencoide.

48 h.: A) 25”

-Nada

B) 15”

- Nada

72 h.: A) 25”

- 1 Rabditoide, hembra.
- 1 Radibtoide, macho .

B) 15”

- 1 Rabditoide macho
- 1 Rabditoide hembra .



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 – SEPTIEMBRE 2010

Porcentaje de tipos biológicos aparecidos

T. DE R.	T. DE S.	Rabditoide	Triloboide	Tilencoide
24 h	25"	41,67	0	16,67
24 h	15"	16,67	0	4,17
48 h.	25"	0	0	4,17
48 h.	15"	0	0	0
72 h.	25"	8,33	0	0
72 h.	15"	8,33	0	0

• **MACETA 2 – ZONA A** (bajo crecimiento)

		T.RABDITOIDE	T.TRILOBOIDE	T.TILENCOIDE
24H.	25"	5	0	0
	15"	0	0	0
48H.	25"	17	0	1
	15"	0	0	0
72H.	25"	4	0	0
	15"	0	0	0

Análisis cualitativo

24 h.: A) 25"

- 1 Rabditido, anillado, macho.
- 4 Rabditidos.
- 2 Rabdítidos, machos.
- 2 Rabdítidos, anillados, hembras.

B) 15"

- Nada

48 h.: A) 25"

- 4 Rabdítidos, machos.
- 3 Rabdítidos, juveniles.
- 6 Rabdítidos, hembras.
- 2 Rabdítidos, hembras, anillados
- 2 Rabdítidos, anillados.
- 1 Tilencoide, anillado.

B) 15"

- Nada

72 h.: 25"

-2 Rabdítidos, machos, anillados.

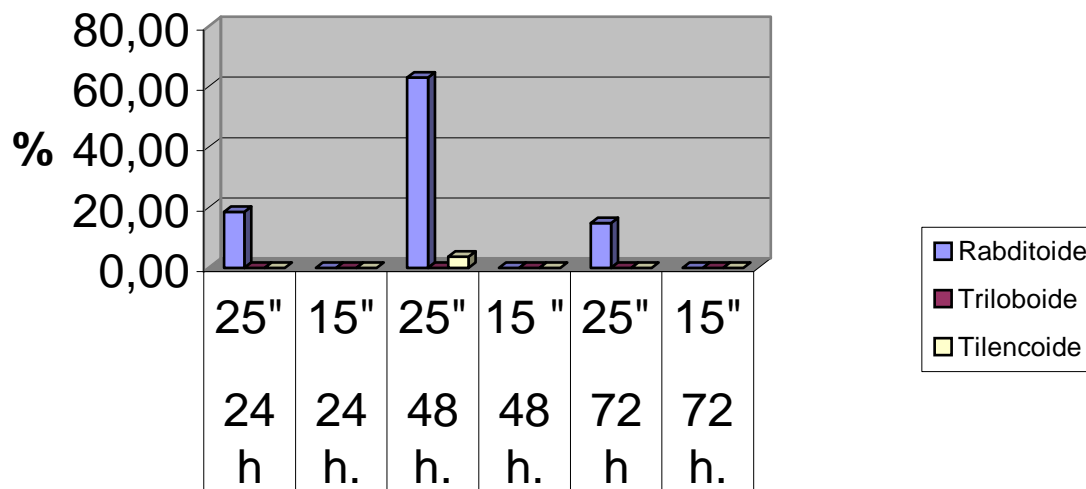
-Rabdítido, anillado

-1 Rabdítido, hembra, anillado.

Porcentaje de tipos biológicos aparecidos

T. de R.	T. de S.	Rabditoide	Triloboide	Tilencoide
24 h	25"	18,52	0	0
24 h.	15"	0	0	0
48 h.	25"	62,96	0	3,70
48 h.	15 "	0	0	0
72 h.	25"	14,81	0	0
72 h.	15"	0	0	0

% DE TIPOS BIOLÓGICOS



• **MACETA 3 – ZONA C** (plantas normales)

		T.Rabditoide	T.Triloboide	T.Tilencoide
24h.	25"	6	0	0
	15"	0	0	0
48h.	25"	5	0	0
	15"	0	0	0
72h.	25"	0	0	0
	15"	0	0	0

Análisis cualitativo

24 h.: A) 25"

- 3 Rabditoides, hembras
- 1 Rabditoide, macho.
- 1 Rabditoide, macho, anillado.
- 1 Rabditoide, juvenil.

B) 15"

- Nada

48 h.: A) 25"

- 2 Rabditoides, hembras.
- 1 Rabditoide macho.
- 1 Rabditoide, macho, anillado.
- 1 Rabditoide, juvenil.

B) 15"

- Nada

72 h.: A) 25"

- Nada.

B) 15"

- Nada.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 – SEPTIEMBRE 2010

Porcentaje de tipos biológicos aparecidos

T. DE R.	T. DE S.	Rabditoide	Triloboide	Tilencoide
24 h.	25"	54,55	0	0
24 h.	15"	0	0	0
48 h.	25"	45,45	0	0
48 h.	15"	0	0	0
72 h.	25"	0	0	0
72.	15"	0	0	0



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 – SEPTIEMBRE 2010

6. CONCLUSIONES

A la luz de los resultados obtenidos en nuestro estudio llegamos a las siguientes conclusiones:

- Podemos ver que el número de Nematodos tipo ***Rabditoide*** es muy elevado en la totalidad de las muestras, sobretodo, si lo comparamos con la cantidad del tipo *Tilencoide* aparecida. Esto puede deberse a la alta cantidad de materia orgánica que presenta el terreno pues cada año, previo a la siembra, se procede al abonado con sustancias orgánicas con objeto de mejorar el rendimiento del cultivo.

- El número de Nematodos de tipo ***Tilencoide*** es bajísimo en proporción con el tipo antes mencionado. Puede deberse a que, además de abonarse el terreno cada año, también se trata con bromuro de metilo y dicha sustancia es muy eficaz en el control de este tipo biológico. A pesar de estar poco representado, su presencia puede deberse a que hubiera Nematodos quiescentes o huevos que resistieran el tratamiento químico antes mencionado.

También observamos que el mayor porcentaje de tipo *Tilencoide* lo presenta la maceta 1(zona B) que corresponde a una zona de cultivo cercana de otra por donde circula agua de escorrentía, pudiendo ser esta la causa de propagación de estos individuos.

- En los resultados se observa, también, que existen muchas formas juveniles. Este hecho puede deberse a que muchas hembras han proseguido su ciclo en el laboratorio, donde las condiciones son óptimas para ello. Hemos de tener en cuenta que las muestras se han tomado tras un tiempo de estancia de estas en el laboratorio, quizás si se hubiera hecho el análisis inmediatamente después de su recogida, la cantidad de Nematodos recogida hubiera sido inferior.

- El tipo triloboide, presenta una no representativa aparición en el sustrato, quizás debido a la no existencia de seres vivos para su alimentación.

Estos nematodos y otros factores han afectado a los cultivos en estudio y causado los daños y síntomas observados de la siguiente forma:

- La malformación presentada por las plantas de fresas puede deberse, probablemente, al frío y al contacto de ésta con el suelo.

- Del borde pardo de la hoja de la planta de la fresa, el responsable puede ser *Aphelenchoides*. Sin embargo, al cortar la hoja en trocitos para facilitar la salida de los Nematodos y, tras añadirles azul algodón (2/2/00) , se observan al microscopio que no existe presencia alguna de *Aphelenchoides* (14/2/00). Según el agricultor este defecto sólo lo han presentado las primeras hojas, mientras que en las posteriores no se ha observado.

• Además, a lo largo del estudio vamos observando el efecto dañino de otras especies, pudiéndose convertir en plaga. Diversas plantas, han sido atacadas por ácaros (Fitoseidos) y han sido tapizadas completamente por su tela, presentando el aspecto que muéstrala imagen que se presenta a continuación.



✓ La maceta presenta signos evidentes de un ataque de ácaros

7. BIBLIOGRAFÍA

Arias, M. & Romero, M.D. (1979). *Nematodos posibles fitoparásitos asociados a los cultivos de cereales en España*. Anales I.N.I.A. Servicio Protección Vegetal.

Bello, A., Topham, P.B., Alphey, T.J.W. & Dale, A. (1986). *Biogeographical classification of some plant-parasitic nematode species groups in Spain*. Nematología mediterránea.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 34 – SEPTIEMBRE 2010

De Andrés et al. (2000). *Patógenos de plantas descritos en España*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.

Mass, J. L., (1998). *Compendium of strawberry diseases*. 2ª ed. APS Press, S. Paul, Minn.

Munilla León, T. (1992) "*Prácticas de zoología general. I. Invertebrados no artrópodos*". Ed. Oikos Tau, Barcelona.

Ruppert, E. E. y R. D. Barnes. (1996) "*Zoología de los invertebrados*", McGraw-Hill Interamericana, México.

Autoría

- Nombre y Apellidos: ISABEL CUEVAS MALDONADO
- Centro, localidad, provincia: I.E.S. LOS ÁLAMOS, BORMUJOS, SEVILLA
- E-mail: chicaicm@hotmail.com