

20476

100 362

TRABAJO FINAL  
 PRACTICA INSTITUCIONAL  
 LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA  
 CORPOICA

RECONOCIMIENTO DE NEMATODOS PARÁSITOS DEL CULTIVO DE  
 PLATANO (Musa AAB Simmonds) CLON DOMINICO HARTON, EN LA  
 GRANJA LUKER (PALESTINA)

Asesor Corpoica: Dra. Consuelo Castrillón A. I.A. M.Sc.

Asesor Universidad: Dr. Henry Toro L. I.A. M.S.c.

Presentado por: Mónica Marcela Castrillón J.

UNIVERSIDAD DE CALDAS  
 FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
 PROGRAMA DE AGRONOMÍA  
 MANIZALES, Julio de 2000

Mónica Marcela Castrillón J. 2000



## RESUMEN

En la Granja Luker durante el primer semestre del año 2000 se realizó una investigación tendiente a identificar los géneros de los nematodos parásitos del suelo y de las raíces del cultivo del plátano (*Musa AAB Simmonds*), en el clon Dominico Hartón; debido a la reducción de la producción en calidad y cantidad de racimos originada entre otros problemas fitosanitarios a los daños desapercibidos en las raíces ocasionados por los nematodos. Para esto fue necesario determinar la distancia a partir de la base de pseudotallo y la profundidad adecuada para la toma de muestras de suelo y raíces, estandarizar la metodología para la extracción de nematodos a partir de muestras de suelo y raíces y establecer la incidencia y frecuencia de los diferentes géneros fitopatógenos en dos periodos de desarrollo del cultivo del plátano (floración y cosecha).

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 3x3x2 con tres factores a evaluar (Distancia al pseudotallo: 30, 60 y 90 cm.; Profundidad de raíces: 30, 60 y 90 cm.; y Época de desarrollo: Floración y Cosecha) con cuatro tratamientos y tres repeticiones; se realizó análisis de varianza y la prueba de comparación de Tukey.

Las muestras se transportaron en bolsa de polietileno en una caja de icopor y en el laboratorio se procedió al análisis nematológico correspondiente. La extracción de nematodos se realizó por la metodología de Centrifugación y flotación en azúcar, según los resultados obtenidos en la estandarización de la metodología de extracción realizada; el conteo se efectuó empleando el microscopio compuesto. El análisis de varianza para las poblaciones totales mostró una diferencia altamente significativa entre la distancia 1 (30x30 cm) y las otras

distancias evaluadas. En la estandarización de la metodología de estación las comparaciones realizadas permitieron establecer que al procesar las muestras de suelo por 5 minutos a 3800 r.p.m. de centrifugación y las raíces licuadas por 120 segundos y centrifugadas por 4 minutos a 3500 r.p.m. se obtiene la mayor extracción poblacional. Se identificaron tres géneros diferentes de nematodos en las muestras de suelo y raíces del cultivo, así: *Meloidogyne* sp (58.2%), *Helicotylenchus* sp. (40.9%) y *Tylenchus* sp (0.80%), mostrándose una alta diferencia significativa. Igualmente se observó una alta diferencia entre la población encontrada en floración y cosecha, presentándose un incremento del 42.8% en la población; finalmente se obtuvo una relación inversamente proporcional entre el peso y la calidad del racimo *vr.* El aumento de la población de los nematodos encontrada.

Palabras claves: Plátano, Población nematológica, *Meloidogyne* sp, *Helicotylenchus* sp, *Tylenchus* sp, metodología de extracción y producción.

## SUMMARY

In the Granja Luker during the first semester of the year 2000 was carried out an investigation about the to identify the goods of the nematode parasites of the floor and of the roots of the cultivation of the banana (*Musa AAB Simmonds*), in the clone Dominico Hartón; due to the reduction of the production in quality and quantity of clusters originated among other problems phytosanitary to the damages unprepareds in the roots caused by the nematodes. For this it was necessary to determine the distance starting from the pseudotallo base and the appropriate depth for the

taking of floor samples and roots, to standardize the methodology for the extraction of nematodes starting from floor samples and roots and to establish the incidence and frequency of the different goods phytopathogenics in two periods of development of the cultivation of the banana (flourishing and it harvests).

A design was used totally randomized with factorial arrangement 3x3x2 with three factors to evaluate (it Distances to the pseudotallo: 30, 60 and 90 cm.; Depth of roots: 30, 60 and 90 cm; and development Time: flourishing and it Harvests) with four treatments and three repetitions; he/she was carried out variance analysis and the test of comparison of Tukey.

The samples were transported in polyethylene bag in an icopor box and in the laboratory you proceeded to the analysis corresponding nematological. The extraction of nematodes one carries out for the methodology of Centrifugal and flotation in sugar, according to the results obtained in the standardization of the methodology of carried out extraction; the count was made using the compound microscope. The variance analysis for the total populations showed a highly significant difference among the distance 1 (30x30 cm) and the other evaluated distances. In the standardization of the station methodology the carried out comparisons allowed to settle down that when processing the floor samples for 5 minutes to 3800 r.p.m. of centrifugal and the roots liquefied by 120 seconds and centrifuged by 4 minutes to 3500 r.p.m. the biggest populational extraction is obtained. They were identified three goods different from nematodes in the floor samples and roots of the cultivation, this way: *Meloidogyne* sp (58.2%), *Helicotylenchus* sp. (40.9%) and *Tylenchus* sp (0.80%), being shown a discharge differs significant. Equally one observes a discharge he/she

differs among the population you find in flourishing and it harvests, being presented an increment of 42.8% in the population; finally a relationship was obtained inversely proportional between the weight and the quality of the cluster vr. The increase of the population of the found nematodes.

Key words: Banana, Population nematological, *Meloidogyne* sp, *Helicotylenchus* sp, *Tylenchus* sp, extraction methodology and production.

## INTRODUCCIÓN

El plátano (*Musa* AAB Simmonds) es uno de los más importantes cultivos en nuestro país, ya que es básico para la seguridad alimentaria del pueblo colombiano y es fuente generadora de trabajo, lo que le otorga el tercer puesto en importancia a nivel nacional seguido por la papa y la leche. El consumo promedio nacional, oscila entre 50 - 80 Kg. per capita/año en la zona urbana y de 100 - 105 Kg. per capita/año en la zona rural (Rodríguez y Rodríguez, 1999).

En Colombia se siembran cerca de 400.000 hectáreas con una producción estimada de 2'600.000 ton./año, de las cuales 121.056 hectáreas (31%) se encuentran en la Zona Central Cafetera (administrativamente conformada por los departamentos de Caldas, Risaralda, Quindío y las áreas limítrofes del Valle del Cauca y Tolima), lo que la hace la principal zona productora con un aporte en 1996 de 881.574 toneladas, es decir, una participación aproximada del 33% en la producción nacional. En cuanto a la generación de divisas, en el año 1998 se recibieron aproximadamente 5.000 millones de pesos por exportar el producto a países como Estados Unidos, Bélgica, Francia, Isla Montserrat y Aruba, teniendo en cuenta que solo es exportable el 4% de la producción (Rodríguez y Rodríguez, 1999).

A pesar de su importancia socio-económica, en la actualidad el cultivo del plátano presenta una reducción de la producción en calidad y cantidad de racimos debido entre otras causas a los problemas fitosanitarios generalmente desapercibidos para el agricultor y originados por los nemátodos en las raíces ocasionando un daño considerable en la capacidad de absorción y transporte de agua y nutrientes por las raíces, predisponiendo el cultivo al ataque de otros microorganismos como hongos y bacterias, afectando el anclaje de las plantas y finalizando con el decaimiento de este cultivo. A esto se suma la falta de un criterio definido sobre el sitio adecuado de muestreo de estos organismos para la realización de estudios, el desconocimiento del nivel crítico soportable, la falta de una metodología de extracción estandarizada de nemátodos para dicho cultivo y el no estar establecido el nivel de reducción en la

producción y vida útil de la unidad productiva por el daño causado por estos microorganismos del suelo.

Las anteriores situaciones justifican la necesidad de mejorar la productividad del plátano en base a una adecuada tecnificación para sostener la demanda permanente del producto que es básica en la alimentación del cultivador cafetero sin aumentar los costos y manteniendo o mejorando la calidad y cantidad de la producción, con este fin y buscado reducir el problema generado por los nemátodos en el cultivo del plátano (*Musa AAB Simmonds*) cultivariedad Dominico Hartón establecido en la Granja Luker, se realizó el presente trabajo con los siguientes objetivos:

- Identificar los nemátodos parásitos del suelo y de las raíces del cultivo del plátano (*Musa AAB Simmonds*), en el cion Dominico Hartón de la Granja Luker (Palestina).
- Determinar la distancia a partir de la base del pseudotallo y la profundidad adecuadas para la toma de muestras de raíces y suelo para la identificación y evaluación poblacional de nemátodos.
- Estandarizar la metodología sobre el procesamiento de muestra y el diagnóstico de nemátodos.
- Establecer la incidencia y frecuencia de los diferentes géneros de nemátodos fitopatógenos en dos periodos de desarrollo del cultivo del plátano (Floración y Cosecha) en la Granja Luker (Palestina).

## REVISIÓN DE LITERATURA

### SISTEMA RADICULAR DE LA PLANTA DE PLÁTANO Y LAS INFLUENCIAS EDÁFICAS

El sistema radicular es una de las partes más importantes de la planta, ya que además de servirle de soporte para evitar volcamientos, es la estructura que le permite nutrirse. Está conformado por raíces primarias, secundarias y terciarias, siendo más abundantes las secundarias y terciarias (Arcila, *et al*; 1999; Valencia, *et al*; 1999).

Su distribución no es definida y la longitud de las raíces depende del tipo de suelo. El sistema radicular se distribuye entre los 20 y 40 cm. de profundidad (Arcila, *et al*; 1999; Belalcázar, 1991).

Los factores edáficos del suelo indudablemente afectan la relación entre el nivel poblacional de los nemátodos y el daño que causan a las raíces y en ocasiones al rizoma. Muchos cultivos aumentan su nivel de tolerancia a los diferentes géneros de nemátodos en la medida que disminuye el tamaño de las partículas del suelo, por lo que en suelos de textura fina (arcillosa) se requiere una mayor cantidad de nemátodos para ocasionar la misma cantidad de daño que en suelos de textura gruesa (arenoso). Esto debido a que la distribución y tamaño de las raíces a diferentes profundidades varía según el tipo de suelo, lo cual puede afectar la distribución de los nemátodos, sus densidades poblacionales a una determinada profundidad y la respuesta del cultivo ante la presencia y ataque de estos organismos (Tarte y Pinochet, 1981).

## CLON DOMINICO HARTÓN

Su nombre vulgar en el país corresponde a "Dominico Hartón", en otros países de América Latina corresponde a "Macho x Hembra", "Maricongo" o "Bastard". Es el plátano típico de la región cafetera por ser la variedad mejor adaptada y de amplia demanda comercial, se cultiva hasta los 1.400 m.s.n.m (Arcila, *et al*, 1999; Belalcázar, 1991).

Es un material bastante inestable, de acuerdo con la altitud de siembra muestra el efecto de la interacción genotipo-ambiente sobre el fenotipo de la planta y su racimo. Es considerado como un cultivar intermedio entre el "Dominico" y el "Hartón" (Belalcázar, 1991).



Foto 1. Racimo de una planta de Plátano (*Musa AAB*) del clon Dominico Hartón

El pseudotallo puede alcanzar 3.3 m de altura y 18 cm. de diámetro, presenta un color verde claro con manchas ligeramente oscuras y los bordes de las vainas un tinte rosado suave. Los racimos tienen siete gajas y entre 45 - 55 frutos. El ciclo de siembra a cosecha tarda entre 14 y 18 meses según la altitud (Arcila, *et al*, 1999; Belalcázar, 1991).

## MORFOLOGÍA DEL NEMATODO

Típicamente los nematodos parásitos de plantas, de vida libre en el suelo y de aguas corrientes, son pequeños y activos animales de 0,2 a 10 mm. de longitud; siendo la mayoría de las especies de un tamaño menor a 2 mm. Generalmente el cuerpo puede variar desde cilíndrico a fusiforme. Algunos nematodos parásitos de plantas tienen forma de pera, por ejemplo *Meloidogyne*, *Heterodera* y *Rotylenchus* (Gowen, 1976; Sánchez, 1978).

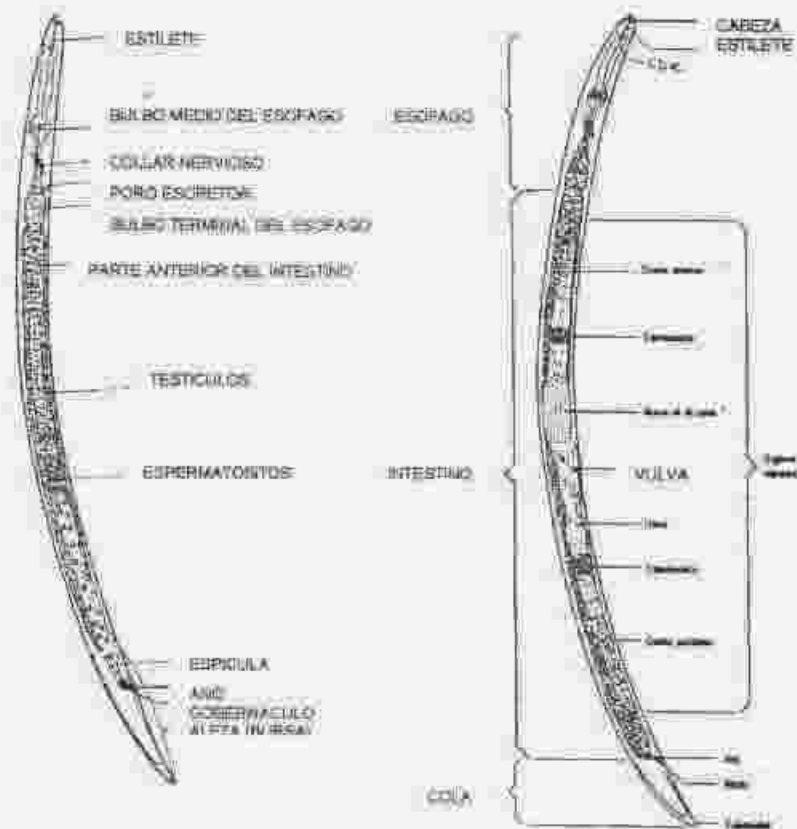


Foto 2. Morfología de macho y hembra de nemátodos

Las muchas formas de los nematodos son también variables en sus respectivas características a tal punto que no se puede hacer una descripción única de ellos sin tener en cuenta las excepciones. El cuerpo de los nematodos no está dividido en partes definidas, pero tiene ciertas subdivisiones; empezando por la parte anterior

donde se encuentra la cabeza que es la porción que contiene la boca y la faringe; la porción entre la cabeza y la base del esófago es el cuello y la parte que se inicia en el ano y se extiende hasta el final es la cola. Los cuerpos no segmentado poseen una gruesa cutícula y epitelio sincitial, sin apéndices ni probiosis; la pared del cuerpo esta conformada solo por fibras musculares longitudinales que pueden ser desde microscópicas hasta de un metro de longitud; el tubo digestivo es rectilíneo y completo, y el sexo es generalmente separado (Sánchez, 1978).

Poseen una distribución casi cosmopolita, los nemátodos presentan generalmente cuatro (4) mudas que van desde huevo hasta adulto, aumentando de tamaño en cada etapa hasta formar las estructuras reproductivas, las cuales se hacen de apreciación externa solo hasta el estado adulto (Sánchez, 1978).

## PROBLEMAS POR NEMATODOS

El plátano, como todos los cultivos, es susceptible de ser atacado por un grupo de nemátodos que influyen en el desarrollo, longevidad de las plantas y la producción. Al alimentarse, el nematodo causa una herida con el estilete depositando una saliva que contiene enzimas y otras sustancias tóxicas a la planta. Estas sustancias disuelven las paredes de las células, con lo cual, el contenido celular fluye al exterior y el nematodo se alimenta de él. Las infestaciones de nemátodos tienen un efecto general debilitante del sistema radicular, reduciendo su efectividad en la absorción y transporte de agua y nutrientes (Araya y Chaves, 1998; Castaño y Del Río, 1994; Belalcázar, 1991).

Algunas especies pueden entrar a las raíces donde se alimentan y reproducen, mientras que en otras se mantienen en el suelo alimentándose de los tejidos de la raíz. Esta alimentación externa e interna en los tejidos de la raíz eventualmente causa pudrimiento de las mismas, proceso que es acelerado por la presencia de otros organismos, tales como hongos y bacterias (Gowen, 1976).



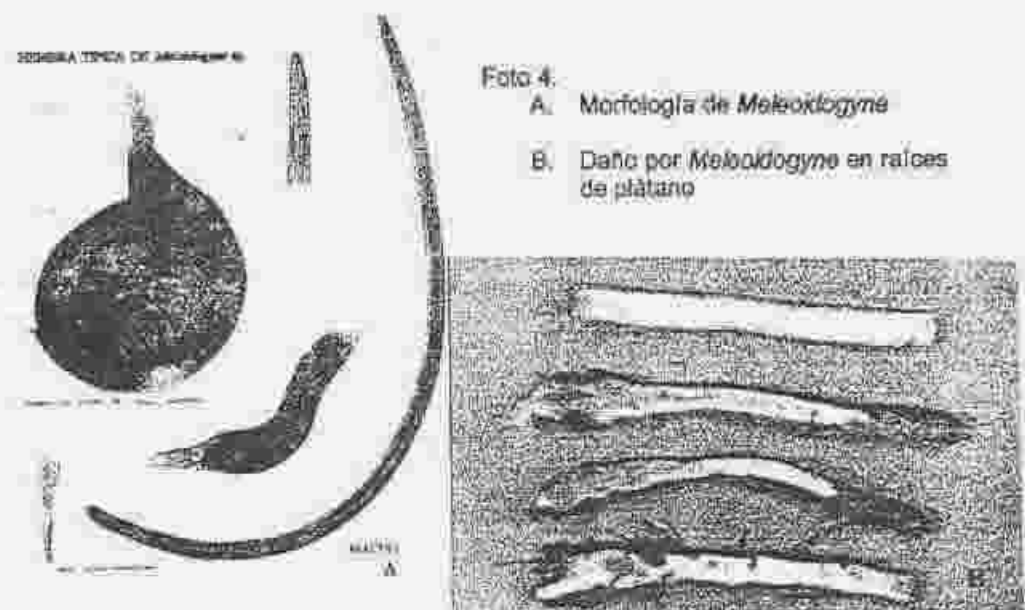
Foto 3. Comparación entre un sistema radicular de plátano en buen estado (A) con los daños ocasionados por nematodos como disminución de la cantidad de raíces del sistema (B), necrosis en raíces (C) y volcamiento (D)

Las pérdidas ocasionadas por estos fitopatógenos depende de la población existente, de la susceptibilidad del material, del tipo de suelo y las condiciones ambientales que favorezcan la infección, alimentación y reproducción de los nematodos; sin embargo estos niveles de daño no han sido cuantificados para el cultivo del plátano (Belaicazar, 1991).

La lista de especies asociadas con raíces de musáceas cultivadas es cada vez mayor, pero se considera que en la zona central cafetera cuatro géneros pueden tener una real importancia económica que son: *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Radopholus*; los dos primeros son endoparásitos de amplia distribución y bajo poder patogénico, mientras que *Pratylenchus* y especialmente *Radopholus* pueden causar grandes daños (Grisales y Lescot, 1999).

## GÉNEROS ASOCIADOS CON RAÍCES DE *Musa*:

- *Meloidogyne* sp: Endoparásitos sedentarios; las larvas penetran en las raíces hasta el cilindro central donde se inmovilizan. El tejido vegetal reacciona al ataque multiplicando células, lo que conduce a la formación de agallas. No hay necrosis después de la penetración (Grisales y Lescot, 1999).



- *Helicotylenchus* sp: Son endoparásitos migratorios que se localizan en el parénquima cortical de las raíces y de las cepas; los ataques son entonces muy superficiales y forman unas rayas pardo oscuras sobre la raíz (Grisales y Lescot, 1999).

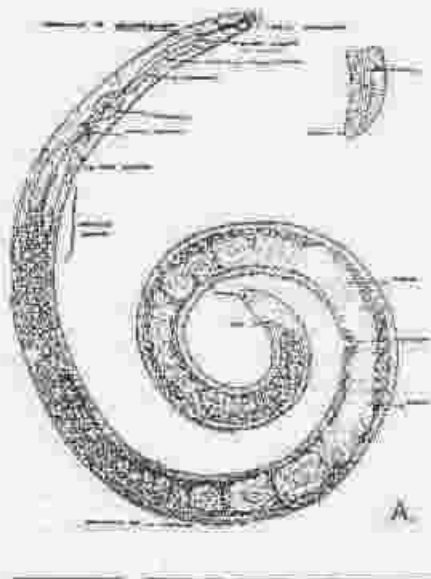
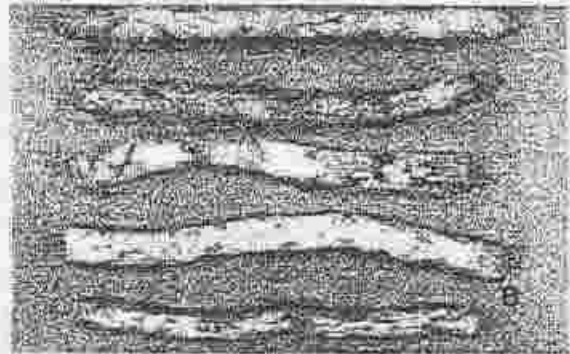


Foto 4.  
A. Morfología de *Helicotylenchus* sp.  
B. Daño de *Helicotylenchus* sp. en raíces de plátano



- *Pratylenchus* sp: Es un endoparásito migratorio profundo, que en poblaciones altas puede afectar gravemente el cultivo. No está muy distribuido en la zona cafetera (Grisales y Lescot, 1999).

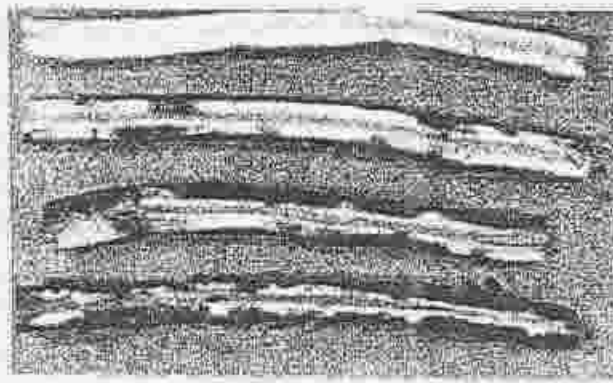


Foto 5. Daño por *Pratylenchus* en raíces de plátano

- *Radopholus* sp: Es el género más peligroso, es un endoparásito migratorio que penetra muy profundamente en el parenquima cortical de la raíz o del corno. Tanto larvas como hembras adultas penetran. La evolución necrótica es común hasta la coalescencia, dañando varios centímetros de raíces en

casos de ataques graves. Es el género más localizado en la zona cafetera, lo cual indica su reciente introducción (Grisales y Lescot, 1999).

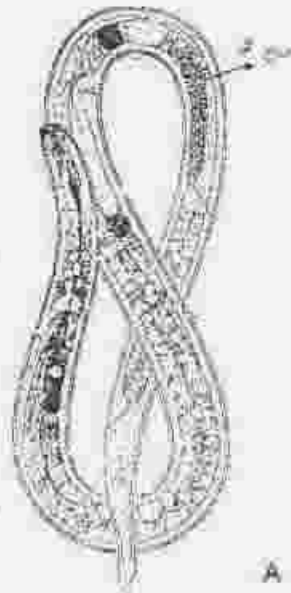
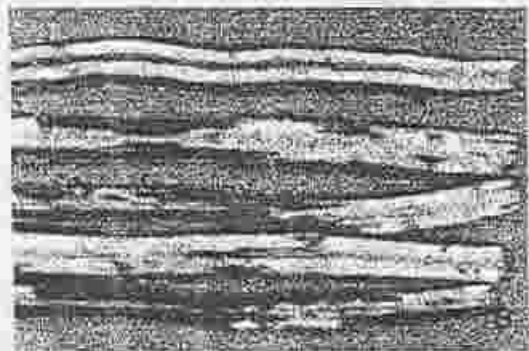


Foto B.  
A. Morfología de *Radopholus* sp.  
B. Daño de *Radopholus* sp. en raíces de plátano



### DISEMINACIÓN DE LOS NEMATODOS

Los nematodos por sí solos se desplazan unos pocos centímetros en el campo. la mayor dispersión se presenta a través del agua de riego, la maquinaria, las herramientas, los animales y el hombre. A grandes distancias la diseminación se presenta a través del material usado en propagación, semilla vegetativa, suelo adherido a la semilla y plantas de vivero que son llevadas de una finca a otra (Belalcázar, 1991).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se adelantó en la Granja Luker, ubicada en la vereda Santagueda del municipio de Palestina (Caldas) a 1020 m.s.n.m. con una precipitación de 2085 m.m., una temperatura promedio de 23.5° C y una humedad relativa de 77%.

### • ANTECEDENTES DEL CULTIVO

El objetivo principal de la Granja Luker es el establecimiento del cultivo del cacao con el fin de obtener beneficios económicos en términos de rendimientos de semilla y de orden social en la capacidad productiva del cultivo.

Dentro de este sistema de producción de cacao se implementó a partir de 1991 el sistema de asociación con el cultivo del plátano con la finalidad de recuperar sitios perdidos por *Rosellinia popo* causante de la "Liaga estrellada" del cacao, buscando además sombrero transitorio y obtener ingresos adicionales para el sostenimiento del cacao en las primeras etapas de desarrollo.

Vale la pena aclarar que el cultivo del plátano ha presentado problemas de picudo negro (*Cosmopolites sordidus* Germán) en poblaciones altas que han generado la necesidad de establecer un programa de MIP, en la actualidad no es considerado problema de importancia económica.

Con relación a los nemátodos no se ha realizado ningún tipo de investigación, sin embargo se prevé que los nemátodos están jugando un papel importante en la reducción del sistema radicular que se está presentando en el cultivo.

Este trabajo se realizó en dos parcelas experimentales establecidas en los meses de Junio y Julio de 1999, la primera a partir de "Semilla tradicional" y la otra a partir

de "Semilla Inducida", ambas del clon Dominico Hartón; estas parcelas se sembraron utilizando colinos o semillas vegetativas producidas en la misma finca.

En la parcela establecida a través de la técnica de "Semilla tradicional", se utilizaron colinos de 1 a 2 Kg. de peso recolectados sin realizar una selección que tuviera en cuenta la calidad y la sanidad de la planta madre; empleándose distancias de 2.5 x 2.5 m. La semilla fue tratada antes de la siembra con Furadan.

En la segunda parcela sembrada mediante la técnica Corpoica de "Rebote Inducido" se emplearon rebrotes inducidos por el destronque inmediato después de la cosecha del racimo de la planta madre, la cual fue seleccionada por calidad y tamaño del racimo. Seguidamente se eliminó la dominancia apical de todos los colinos adyacente, sin importar el tamaño, realizando un corte en bisel en los rizomas, con excepción del colino seleccionado. Los cortes se cubrieron inmediatamente con tierra realizando un aporte con materia orgánica para agilizar la brotación de los colinos.

Entre 20 y 30 días después, cuando los colinos pesaban entre 200 y 300 g. fueron arrancados o cosechados eliminándoles las raíces que poseían y cortando la parte aérea, para luego sembrarlos en bolsas de semillero (25 x 25 cm.) con una mezcla de tierra, gallinaza y cascanilla de café en proporciones 3:1:1. Este semillero se cubrió con hojarasca y pasto seco, para facilitar la germinación y evitar pérdidas por pudriciones; después de dos semanas las hojas se retiraron permitiendo el ingreso de la luz y el calor; 30 días después se transplantaron a el sitio definitivo empleando distancias de 2.5 x 2.0 m.

En cada parcela se prepararon hoyos de 30 x 30 x 30 cm y se les adicionó 1 Kg. de gallinaza; las plantas fueron fertilizadas por primera vez un mes después de la siembra con una mezcla de 25 g. de KCl y 25 g. de urea por planta, en diciembre del mismo año se realizó la segunda fertilización con una mezcla de urea, KCl y DAP (2:1:1) de la cual se aplicó 200 g./planta. Cada 20 días se realizó la práctica de despunte y deshoje para el manejo manual de Sigatoka y mensualmente se

realizaron trampas "Tipo Disco de Cepa" con Lorsban para el monitoreo y control del picudo negro (*Cosmopiletes sordidus*).

No se realizó la práctica de deshije en la plantación, ya que por ser un cultivo de primer corte se evitó cualquier daño posible al sistema radicular de la unidad productiva.

#### • TOMA DE LAS MUESTRAS

Las muestras se tomaron de plantas seleccionadas y marcadas en floración (1 a 8 días de emitida la inflorescencia) y en el momento de la cosecha, empleando un pallo de hoja rectangular de 13 cm de ancho por 25 cm de largo y limpio.

Se tomaron 200 g. aproximadamente de muestras de suelo y raíces en bolsas de polietileno teniendo en cuenta las distancias y profundidades propuestas para la evaluación.

#### • DISEÑO EXPERIMENTAL

En el presente trabajo se empleó un diseño Completamente aleatorizado con arreglo factorial  $3 \times 3 \times 2$ , con tres (3) factores a evaluar, así:

A: Distancias de la base del pseudotallo para toma de muestra

A<sub>1</sub>: 30 cm de la base del pseudotallo

A<sub>2</sub>: 60 cm de la base del pseudotallo

A<sub>3</sub>: 90 cm de la base del pseudotallo

B: Profundidad de la muestra

B<sub>1</sub>: 30 cm de profundidad

B<sub>2</sub>: 60 cm de profundidad

B<sub>3</sub>: 90 cm de profundidad

C. Época de desarrollo.

C<sub>1</sub>: Época de floración

C<sub>2</sub>: Época de cosecha

Con nueve (9) tratamientos y tres (3) repeticiones.

Este trabajo se realizó en dos fases: una en campo y la otra en laboratorio.

#### - ACTIVIDADES EN CAMPO

- TOMA DE MUESTRA EN TRES DISTANCIAS Y TRES PROFUNDIDADES DIFERENTES.

Después de seleccionar y marcar doce (12) plantas en floración, según las características propuestas, se recolectó las muestras de suelo y raíz empleando un palín y bolsas limpias.

En cada planta se tomó la distancia a partir de la base del pseudotallo y la profundidad propuesta para cada tratamiento, posteriormente se realizó un hoyo de aproximadamente 30 x 30 cm del cual se recogió una muestra de suelo y de raíces la cual fue homogenizada y empacada en bolsas de polietileno. Las raíces se guardaron dentro del suelo para evitar pérdidas de humedad, y las bolsas debidamente identificadas (fecha de recolección, tratamiento, tipo de muestra, sitio de origen, cultivo y estado de desarrollo, recolector) se almacenaron en una nevera de icopor para protegerlas del calor y de daños en el transporte hacia el laboratorio.

Este procedimiento se efectuó de igual forma en las plantas marcadas en el momento de la cosecha, además de tomar los datos correspondientes al peso de racimo, número de manos, número de dedos y el peso, la longitud y el perímetro del dedo central de la segunda mano; datos que hicieron parte de las variables que se evaluaron.

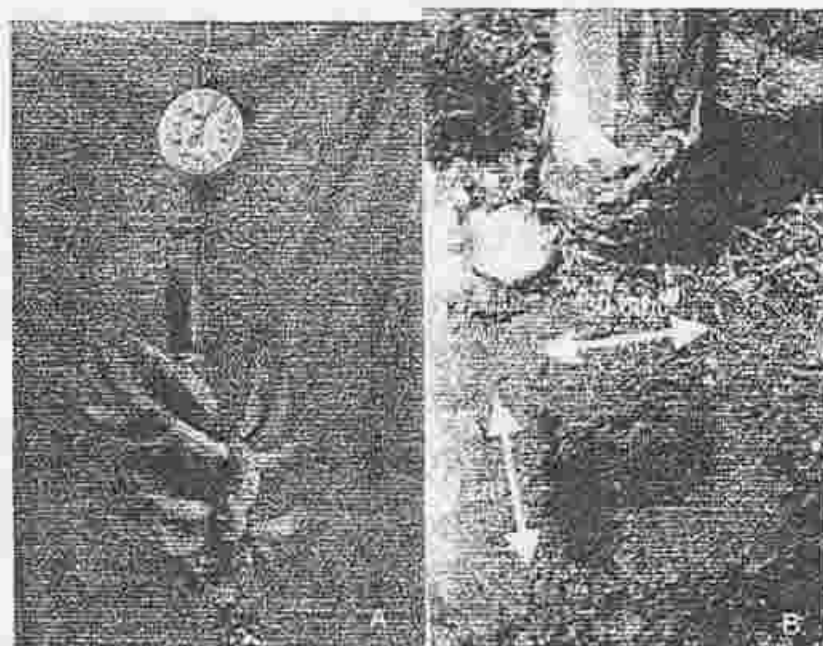


Foto B. A. Pasaje de un racimo del clon Dominico Hartón

B. Toma de muestra

#### - ACTIVIDADES DE LABORATORIO

- ESTANDARIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN DE NEMATODOS EN PLÁTANO:

Debido a que no existe una metodología de extracción de nematodos estandarizada para el cultivo del plátano, fue necesario iniciar con la estandarización de esta práctica, comparando algunos métodos propuestos en la literatura y ajustables a los recursos con los que se contó. Así el procesamiento por el método de Centrifugación y Flotación en Azúcar propuestas para suelo y raíces por Castaño y Del río (1997) y el Modificado por Calle y Rivillas (1999, aún no publicado) fueron evaluados (Ver ANEXO).

Para esta práctica se utilizaron:

- Una balanza
- Tubos Pirex No. 9820 de 10 ml
- Gradillas
- Una columna de tres (3) tamices No. 60, 270 y 325
- Una licuadora tipo Osterizer Super-deluxe, de tres revoluciones
- Una centrifugadora Centaur 2 MSE Sanyo
- Un estereoscopio Forty
- Un microscopio Bausch & Lomb, con cuatro lentes de aumento (10x, 20x, 40x y 100x)
- Agua deslilada
- Azúcar
- Un vaso para precipitado
- Una barra agitadora de vidrio
- Placas portaobjetos y laminas oubreobjetos

Se emplearon cuatro (4) muestras de 200 g. aproximadamente de suelo y raíces tomadas de plantas en floración (1 a 8 días de emitida la inflorescencia) del lote donde se realizó el trabajo en la Granja Luker, empleando un palin de 13 cm. de ancho x 25 cm de largo y limpio para evitar al máximo posibles sesgamientos; estas muestras fueron debidamente homogenizadas en el laboratorio.

Comparándose tres (3) tiempos diferentes de licuado (5 seg., 60 seg. y 120 seg.) con dos (2) tiempos de centrifugación (4 y 5 min.) y cuatro (4) revoluciones distintas de centrifugación (2500, 3000, 3500 y 3800) se obtuvieron 24 tratamientos con dos repeticiones cada uno.

Tabla 1. Tratamientos para la estandarización del método de extracción de nematodos de suelo y raíces de Plátano (*Musa AAB*) clon Dominico Hartón en la Granja Luker.

TIEMPO DE LICUADO (Segundos)	TIEMPO Y REVOLUCIONES DE CENTRIFUGACIÓN							
	2500 r.p.m.		3000 r.p.m.		3500 r.p.m.		3800 r.p.m.	
5	4'	5'	4'	5'	4'	5'	4'	5'
60	4'	5'	4'	5'	4'	5'	4'	5'
120	4'	5'	4'	5'	4'	5'	4'	5'

Metodología empleada:

- PARA RAÍCES
  - a. Se pesaron 10 gr. de raíces lavas de la muestra homogenizada
  - b. Se agregaron 100 ml. de agua destilada
  - c. Se licuaron según los tiempos a evaluar empleando la revolución baja de la licuadora
  - d. Se filtró en una columna de tamices No. 60, 270 y 325, correspondientemente ubicados en forma descendente
  - e. Se recolectó la muestra del último tamiz en un tubo Pírex No. 9820 de 10 ml.
  - f. Se centrifugó según los tratamiento y eliminó el sobrenadante.
  - g. Los tubos fueron completados con solución azucarada (1:1) y centrifugados según los diferentes tratamientos.
  - h. La muestra fue lavada en el tamiz No. 325 con agua corriente para eliminar el exceso de azúcar y así evitar el deterioro de los nematodos y hacer más fácil el proceso de identificación.

- **PARA SUELO:**
  - a. Se pesaron 10 gr. de suelo de la muestra homogenizada
  - b. Se agregaron 100 ml. de agua destilada
  - c. Se agitó con una barra agitadora de vidrio por un (1) minuto, dejando reposar la mezcla por 30 segundos
  - d. Se filtró en una columna de tamices No. 60, 270 y 325, correspondientemente ubicados en forma descendente
  - e. Se recolectó la muestra del último tamiz en un tubo Pyrex No. 9820 de 10 ml.
  - f. Se centrifugó según los tratamientos y eliminó el sobrenadante
  - g. Los tubos fueron completados con solución azucarada (1:1) y centrifugados según los diferentes tratamientos
  - h. La muestra fue lavada en el tamiz No. 325 con agua corriente para eliminar el exceso de azúcar y así evitar el deterioro de los nematodos y hacer más fácil el proceso de identificación.
  
- **EXTRACCIÓN DE NEMATODOS PARA SUELO Y RAÍCES DE PLÁTANO (*Musa AAB*) CLON DOMINICO HARTÓN**

Para esta práctica se empleó la mejor metodología para extracción de nematodos obtenidas en la evaluación anterior, así:

- **PARA RAÍCES**
  - a. Se pesaron 10 gr. de raíces lavadas de la muestra homogenizada
  - b. Se agregaron 100 ml. de agua destilada
  - c. Se licuaron empleando la revolución baja de la licuadora por 120 segundos
  - d. Se filtró en una columna de tamices No. 60, 270 y 325, correspondientemente ubicados en forma descendente
  - e. Se recolectó la muestra del último tamiz en un tubo Pyrex No. 9820 de 10 ml.
  - f. Se centrifugó por 4 minutos a 3800 r.p.m. y se eliminó el sobrenadante

- g. Los tubos fueron completados con solución azucarada (1:1) y centrifugados nuevamente por 4 minutos a 3800 r.p.m.
- h. La muestra fue lavada en el tamiz No. 325 con agua corriente para eliminar el exceso de azúcar y así evitar el deterioro de los nematodos y hacer más fácil el proceso de identificación.

- **PARA SUELO:**

- a. Se pesaron 10 gr. de suelo de la muestra homogenizada.
- b. Se agregaron 100 ml. de agua destilada
- c. Se agitó con una barra agitadora de vidrio por un (1) minuto, dejando reposar la mezcla por 30 segundos
- d. Se filtró en una columna de tamices No. 60, 270 y 325, correspondientemente ubicados en forma descendente
- e. Se recolectó la muestra del último tamiz en un tubo Pirex No. 9820 de 10 ml.
- f. Se centrifugó por 5 minutos a 3800 r.p.m. y eliminó el sobrenadante
- g. Los tubos fueron completados con solución azucarada (1:1) y centrifugados nuevamente por 5 minutos a 3800 r.p.m.
- h. La muestra fue lavada en el tamiz No. 325 con agua corriente para eliminar el exceso de azúcar y así evitar el deterioro de los nematodos y hacer más fácil el proceso de identificación.

- **IDENTIFICACIÓN DE NEMATODOS**

Para la identificación de los diferentes géneros presentes en el suelo y raíces del cultivo de plátano (*Musa AAB*) con Dominico Hartón en la granja Luker se tomaron muestras de 10 ml y se evaluaron en el estereoscopio en una caja petri pequeña debidamente dividida en ocho (8) sectores iguales (contados).

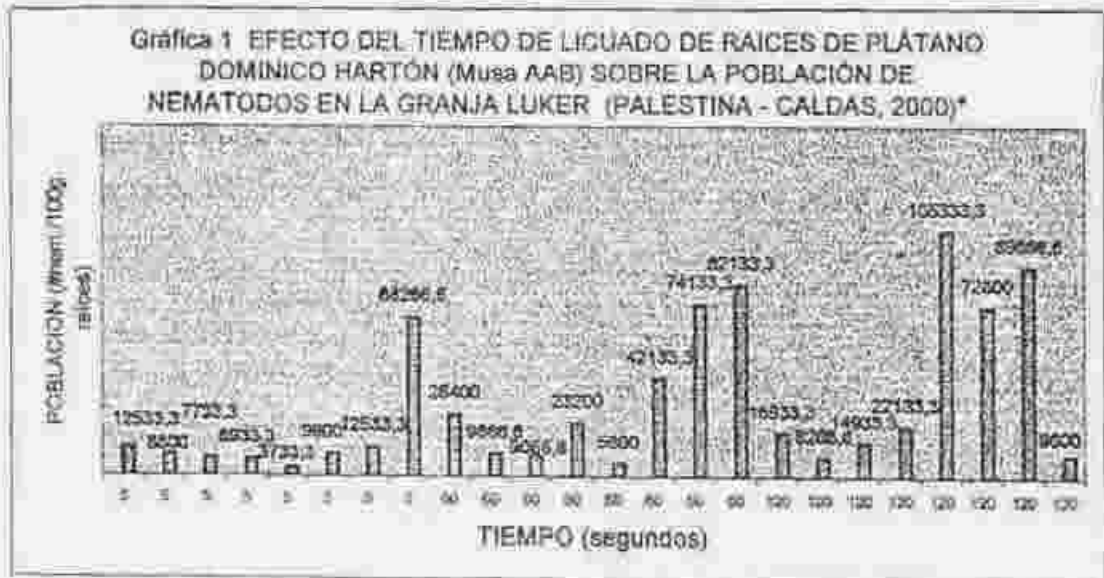
Los nematodos encontrados se pasaron a una placa portaobjetos y se cubrieron para identificarlos en el microscopio con ayuda de las diferentes claves taxonómicas establecidas en el libro de Mai y Lyon (1975).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

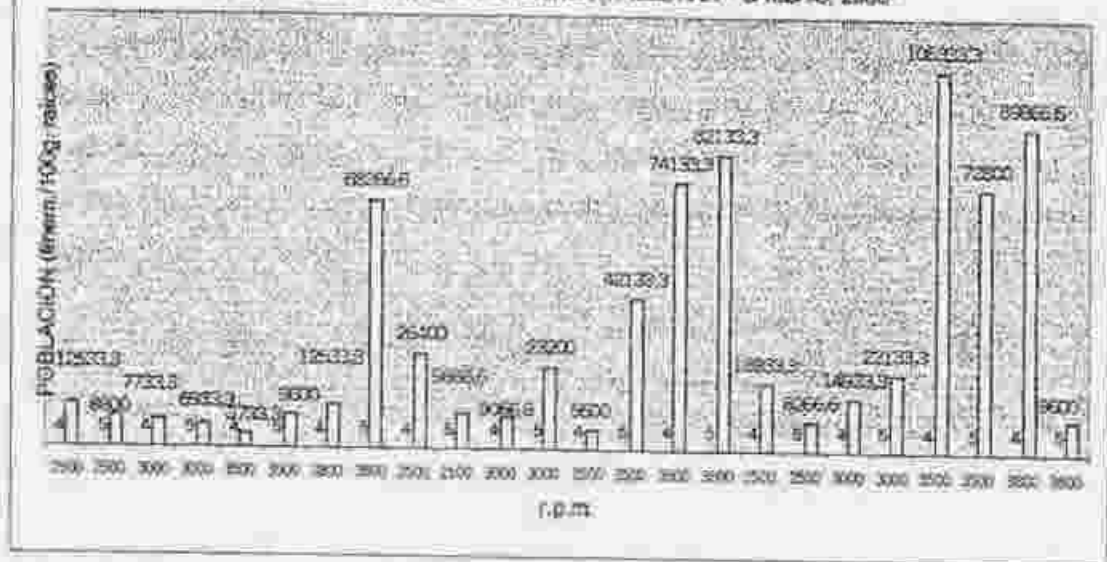
- ESTANDARIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN DE NEMATODOS EN PLÁTANO:

Las comparaciones realizadas permitieron establecer que al someter las muestras en una licuado por 120 segundos a baja revolución y a 3500 r.p.m. durante 4 minutos en la centrifuga, se obtuvieron las mayores población de nemátodos extraída; ya que de un total de 744533 nem./100 g. de raíces, 105333 nem./100 g. de raíces (22.05%) de los individuos fueron extraídos bajo estas condiciones(Gráfico 1 y 2).

\* MUESTRA TOMADA A 30 cm DEL PSEUDOTALLO Y 30 cm DE PROFUNDIDAD.



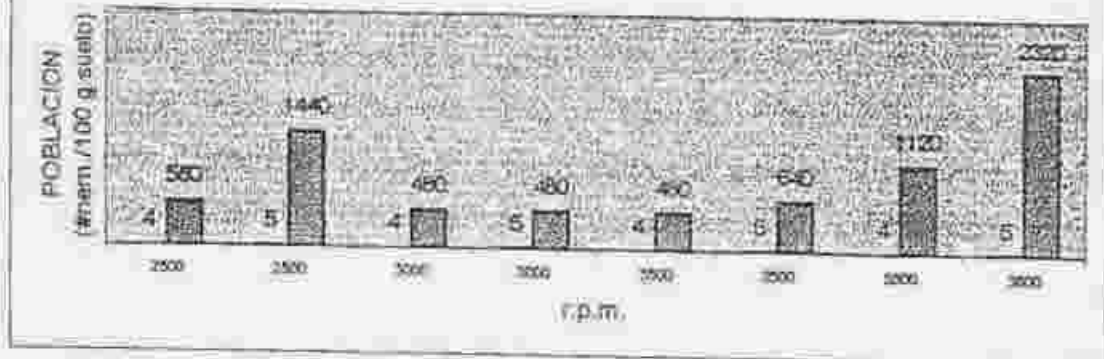
Gráfica 2. EFECTO DE DIFERENTES VELOCIDADES Y TIEMPOS DE CENTRIFUGACIÓN DE RAÍCES DE PLÁTANO DOMINICO HARTÓN (Musa AAB) SOBRE LA POBLACIÓN DE NEMATODOS EN LA GRANJA LUKER (PALESTINA - CALDAS, 2000 \*



\* MUESTRA TOMADA A 30 cm DEL PSEUDOTALLO Y 30 cm DE PROFUNDIDAD.

En el caso del suelo, las condiciones adecuadas de centrifugación para obtener la mayor extracción de población de nematodos de una muestra es sometiendo dicha muestra por 5 minutos a 3800 r.p.m. en la centrifuga. Ya que los resultados obtenidos permitan establecer que de 7520 nem./100 g. de suelo se logro extraer con esta metodología 2320 nem./100 g. de suelo (30,85%) (Gráfica 3).

Gráfica 3. EFECTO DE DIFERENTES REVOLUCIONES Y TIEMPOS DE CENTRIFUGACIÓN DE SUELO EN PLÁTANO DOMINICO HARTÓN (Musa AAB) SOBRE LA POBLACIÓN DE NEMATODOS EN LA GRANJA LUKER (PALESTINA - CALDAS, 2000 \*



\* MUESTRA TOMADA A 30 cm DEL PSEUDOTALLO Y 30 cm DE PROFUNDIDAD.

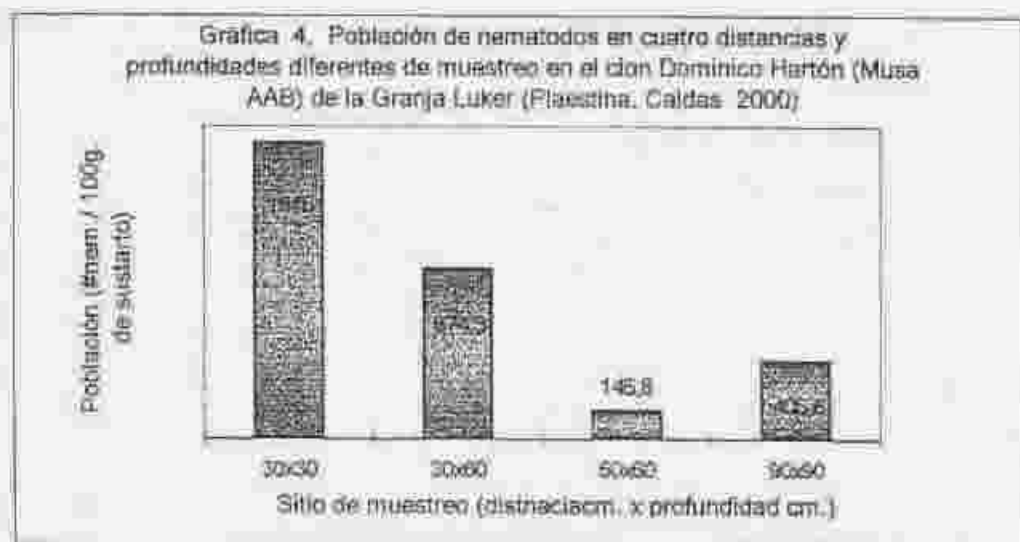
Sin embargo, debido a la falta de metodologías evaluadas y de datos publicados no se puede garantizar que esta sea la metodología definitiva para el proceso de extracción de nematodos, pero los parámetros propuestos al final fueron los que presentaron un mejor comportamiento en el proceso extractivo en suelos y raíces del cultivo del plátano (*Musa AAB*) con Dominico Hartón de la granja Luker, ya que permitieron obtener la mayor población en comparación con las demás propuestas evaluadas.

Para la evaluación de los datos se empleó el programa estadístico SAS y la prueba de comparación estadística de TUKEY, sin embargo, fue necesario el transformar los datos originales empleando la fórmula  $\sqrt{x + 0.5}$  uniformizando así los datos y evitando la presencia de extremos debido a la aparición de ceros en la base creada.

#### \* TOMA DE MUESTRA EN TRES DISTANCIAS Y TRES PROFUNDIDADES DIFERENTES

El análisis permitió establecer que se presenta una diferencia altamente significativa ( $P < 0.05\%$ ) entre las distancias 1 (30 x 30) y las distancias 3 (60 x 60) y 4 (90 x 90), sin embargo la distancia 2 (30 x 60) se presenta como un dato intermedio. Así podemos inferir que el sitio más adecuado para la toma de muestras de raíces y suelo para el proceso de extracción y conteo poblacional de nemátodos es a 30 cm. de distancia del pseudotallo y 30 cm. de profundidad de las raíces. Ya que el 51.5% de la población se concentró en las muestras extraídas en este sitio. Estos resultados son muy similares a los datos obtenidos por Cabrales (1995) y Tarte & Pinochet (1982) en sus trabajos realizados en plantaciones de banano. Sin embargo no se encontraron publicaciones con respecto al cultivo del plátano que evaluaran el sitio óptimo de muestreo para realizar las comparaciones pertinentes. Es posible que este resultado se relacione con factores tales como manejo del cultivo, textura del

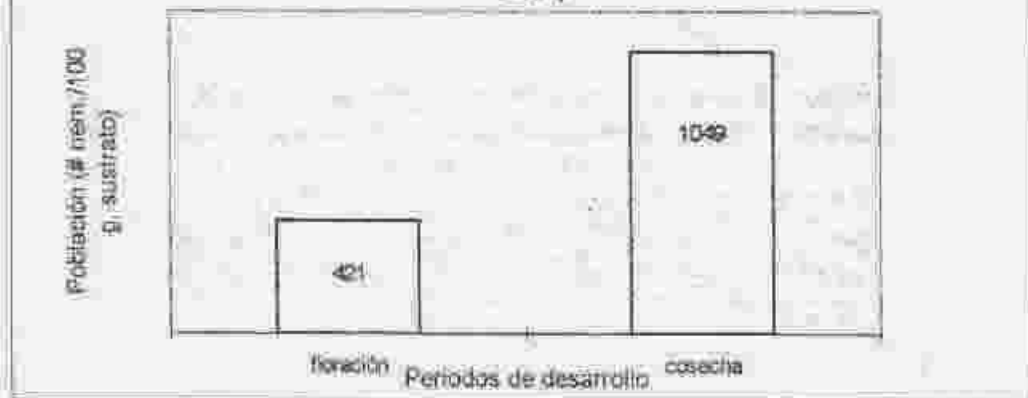
suelo, contenido de materia orgánica, material empleado en la propagación y condiciones climáticas (Gráfica 4.).



- EFECTO DEL DAÑO POR NEMATODOS EN EL PESO DEL RACIMO DE PLÁTANO (*Musa AAB*) CLON DOMINICO HARTÓN

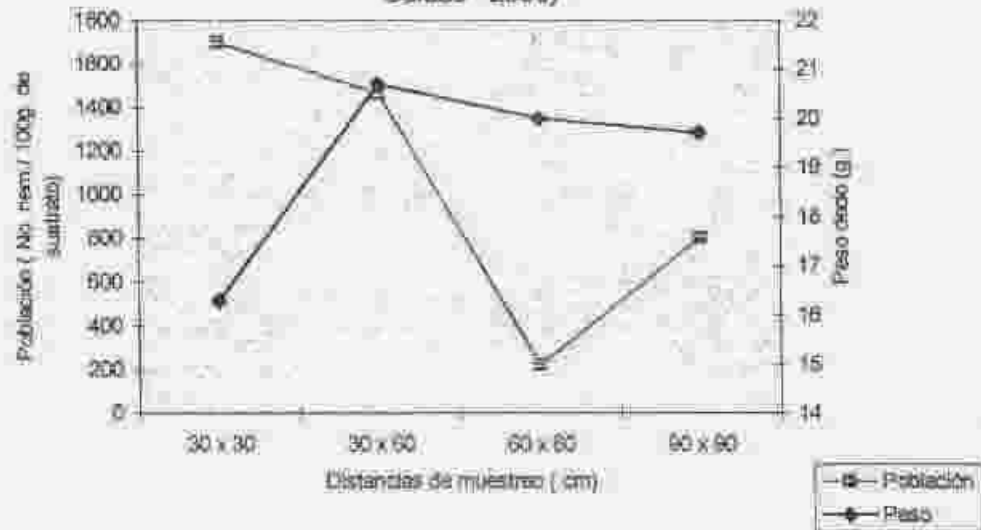
El análisis estadísticos mostró una diferencia altamente significativa ( $P < 0.05\%$ ) entre la población de nematodos y el periodo de desarrollo del cultivo. La mayor población (71.3%) se encontró en la etapa de cosecha, lo que permite inferir que el daño realizado por los nematodos en el sistema radicular entre las dos etapas evaluadas (floración y cosecha) se incrementa y disminuye la capacidad de absorción de nutrientes y la estabilidad de la planta en una época importante de la unidad productiva donde debe desarrollar y mantener el racimo, sin embargo no existen estudios que permitieran realizar algún tipo de comparación (Gráfica 5.).

Gráfica 5. Población de nematodos en dos periodos de cosecha del clon Dominico Hartón (Musa AAE) de la Granja Luker (Palestina, Caldas 2000)



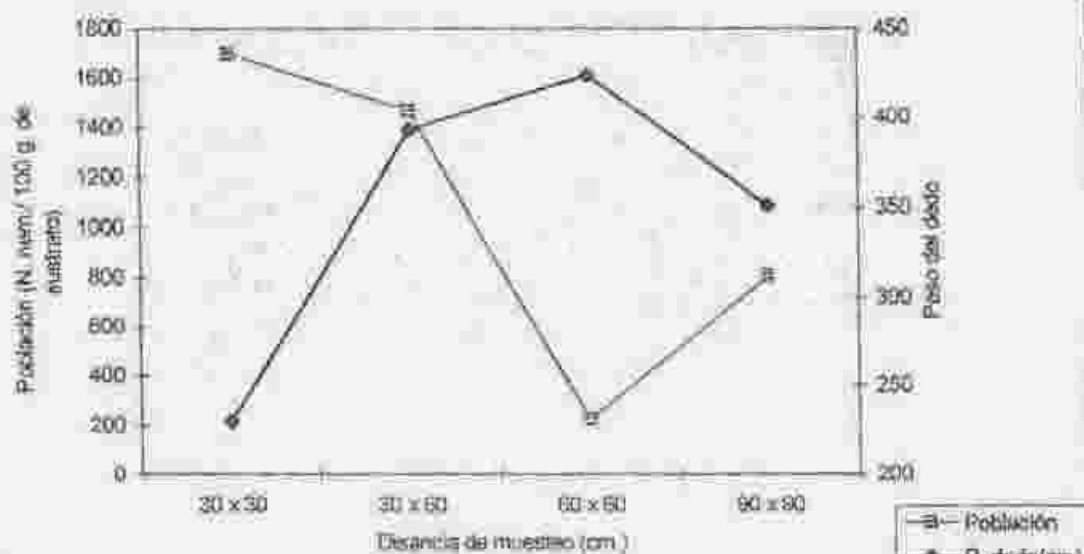
Se pudo observar que el peso de los racimos presenta una relación inversa con las poblaciones de nemátodos, mostrándose una diferencia significativa ( $P < 0.05\%$ ). La alta población encontrada (51,5%) a 30 x 30 cm. de distancia del pseudotallo y profundidad, muestra la existencia de una relación directa entre la reducción de la producción y la presencia de poblaciones patógenas de nematodos en el cultivo del plátano, ya que el análisis estadístico mostró que las muestras donde predominó la mayor población de nematodos, igualmente presentó el promedio más bajo de peso del racimo (16.3 Kg.). El género *Meloidogyne* presentó la mayor incidencia poblacional (70%) en la zona donde se estableció la mayor influencia de los nematodos sobre el sistema de raíces, seguido por *Helicotylenchus* con un 29.8% de la población; los datos anteriores permitieron establecer, que si estos géneros que han sido reportados por Belalcázar (1991) y por Grisales y Lescot (1999) como de menor agresividad en el cultivo del plátano lograron disminuir notablemente el peso de los racimos por sus altas poblaciones, la producción se vería disminuida en un altísimo porcentaje si se llegara a dar la introducción de géneros agresivos como lo son *Pratylenchus* y *Radopholus*. Desafortunadamente la falta de información con características similares, hace difícil realizar comparaciones estableciendo la relación Producción / Población de nematodos (Gráfica 6.).

Gráfica 6. Población de nemátodos sobre el peso del racimo en plátano Dominico Hartón (Musa AAB) de la Granja Luker (Palestina, Caldas 2000)

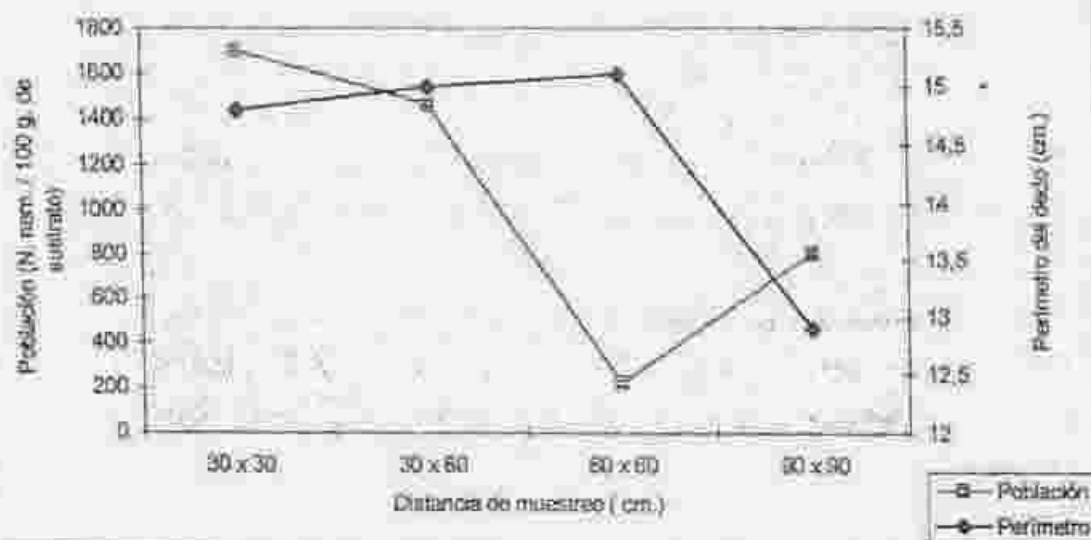


El análisis permitió establecer que la calidad de los racimos de plátano va disminuyendo en relación directamente proporcional al aumento de la población de nemátodos, esto se estableció al analizar las variables (peso, longitud y circunferencia) del dedo medio de la segunda mano, empleadas en mediciones de calidad, ya que los valores encontrados al ser comparados con la población hallada se vieron afectados por la población de nemátodos, presentando una relación inversa con respecto al sitio donde se detectó la mayor población; esto se considera normal si tenemos en cuenta el efecto negativo de la población de nemátodos sobre el peso del racimo, lo que afectó directamente estas variables de calidad. (Gráficas 7., 8. y 9.).

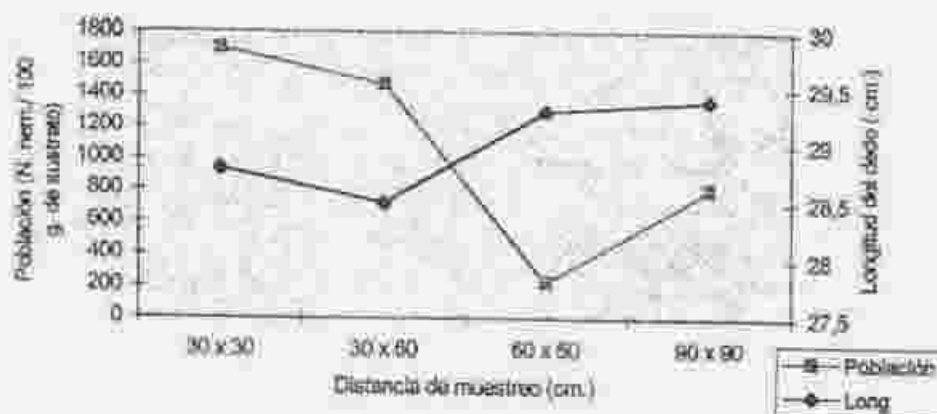
Gráfica 7. Población de nemátodos sobre el peso del dedo medio de la segunda mano del racimo en plátano Dominico Hartón (muasa AAB) de la Granja Luker (Palestina, Caldas 2000)



Gráfica 8. Población de nemátodos sobre el perímetro del dedo medio de la segunda mano del racimo en plátano Dominico Hartón (Muasa AAB) de la Granja Luker (Palestina, Caldas 2000)



Gráfica 9. Población de nemátodos sobre la longitud del dedo medio de la segunda mano del racimo en plátano Dominico Hartón (Musa AAB) de la Granja Luker (Palestina, Caidas 2000)

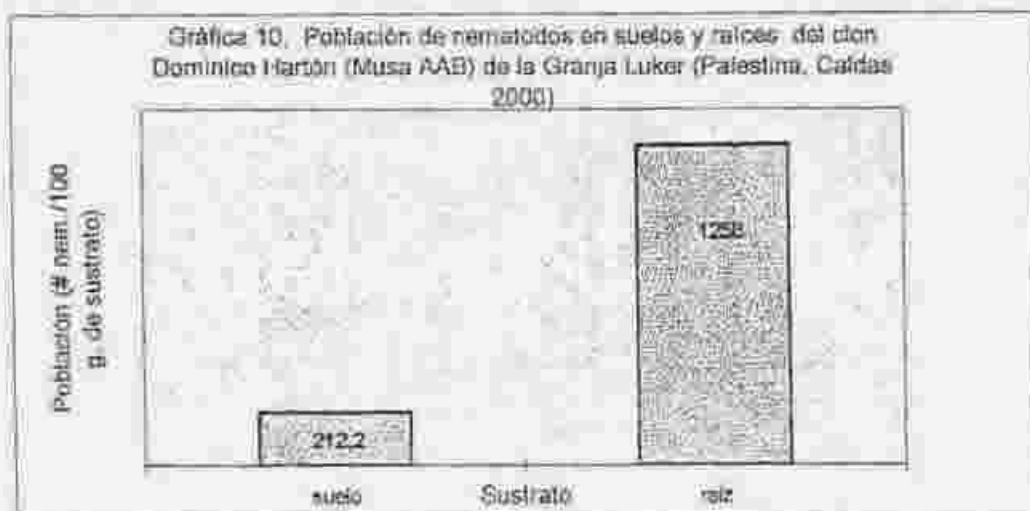


Igualmente se estableció que no hay una diferencia significativa entre las poblaciones de los tres (3) géneros identificados con relación al peso de los racimos evaluados, esto debido posiblemente a que el lote fue destinado durante aproximadamente 20 años al cultivo del cacao que ha sido reportado como hospedero natural de estos tres géneros (Agudelo y Escobar, 1993). Teniendo en cuenta la información anterior se puede comprender la baja población encontrada de nemátodos parásitos específicos del plátano como lo son *Radopholus* y *Pratylenchus*.

- EXTRACCIÓN DE NEMATODOS PARA SUELO Y RAÍCES DE PLÁTANO (Musa AAB) CLON DOMINICO HARTÓN

La mayor población de nemátodos (85%) se detectó en el sistema de raíces, mostrando una diferencia significativa ( $P < 0.05\%$ ) con respecto al suelo. Esto se puede considerar normal, si se tiene en cuenta el hecho de que en el lote existen hospederos alternos que según los hábitos de estos microorganismos viven en la lamina de agua de la región más cercana al sistema de raíces de las planta, como lo hace *Helicotylenchus* (ectoparásito o semiendoparásito) y otros habitan el interior del sistema radicular como el caso de *Meloidogyne*. Sin embargo, como habitantes

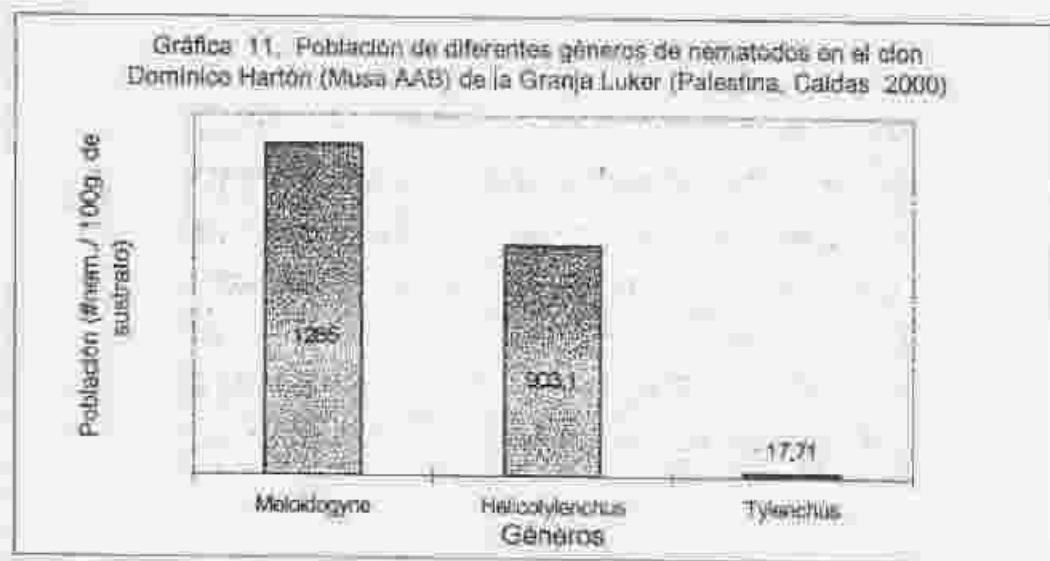
naturales del suelo, se espera que la mayor población se encuentre en este sustrato; lamentablemente no se cuenta con publicaciones que realicen evaluaciones similares en el cultivo del plátano y permitan realizar algunas comparaciones (Gráfica 10.).



#### • IDENTIFICACIÓN DE GÉNEROS NEMATODOS

Finalmente se observó la presencia de tres (3) géneros diferentes: *Meloidogyne* (58.2%), *Helicotylenchus* (40.9%) y *Tylenchus* (0.08%), los dos primeros con las mayores poblaciones y alta diferencia significativa en relación con el último. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el lote estuvo destinado por algún tiempo al cultivo del cacao y nogal, lo que muy seguramente influye en la baja cantidad de géneros de nematodos patógenos del cultivo del plátano. Aun así, la presencia de los géneros *Meloidogyne* y *Helicotylenchus* coincide con el reporte de identificación de nematodos y el porcentaje de distribución realizado por Grisales y Lascot (1999), por el contrario, los datos no coinciden con las poblaciones presentes. De igual forma estos géneros fueron reportados por Belalcázar (1994) como patógenos para el cultivo del plátano en la zona cafetera, posiblemente no como los de mayor importancia en cuanto al daño, pero sí en cuanto a su distribución por la presencia.

de muchos hospederos alternos como el café, el maíz, el frijol, cacao y banano en la zona (Gráfica 11.).



## CONCLUSIONES

- Para realizar estudios poblacionales de nematodos en el cultivo del plátano (*Musa AAB*) clon Dominico Hartón, con o sin identificación de géneros, las muestras de suelo y raíces deben ser tomadas en los primeros 30 cm. de distancia de la base del pseudotallo y primeros 30 cm. de profundidad radical.
- Para el proceso de extracción de nematodos en muestras de suelo se obtienen muy buenos resultados al someter las muestras a un periodo de centrifugación por 5 minutos a 3600 r.p.m. en agua y una segunda centrifugación con las iguales condiciones en solución azucarada en relación 1:1.
- En extracciones de nematodos de raíces de plátano se obtiene altas poblaciones sometiendo las muestras a un periodo de licuado de 120 segundos en la revolución baja de la licuadora y posteriormente sometiendo las muestras a centrifugación por 4 minutos a 3500 r.p.m. (inicialmente en agua y posteriormente en solución azucarada en relación 1:1).
- Se identificaron tres (3) géneros diferentes de nematodos en las muestras de suelo y raíces del cultivo de plátano (*Musa AAB*) clon Dominico Hartón de la granja Luker, presentándose con las siguientes frecuencias poblacionales *Meloidogyne* (58.2%), *Helicotylenchus* (40.9%) y *Tylenchus* (0.08%), mostrando según el análisis estadístico una diferencia altamente significativa ( $P < 0.05\%$ ) entre las dos primeras poblaciones y la última.
- El análisis de varianza de las poblaciones mostró una diferencia altamente significativa ( $P < 0.05\%$ ) entre la población encontrada en floración (28.7%) y la establecida en el periodo de cosecha (71.3%) presentándose un incremento del 42.6% de la población de nematodos. Esto comparado con la relación inversa mostrada por el peso de los racimos vs. la población de nematodos, nos permite concluir que la disminución de la producción está directamente relacionada con la población el aumento de la población de nematodos en el cultivo.

## RECOMENDACIONES

Es necesario dar la importancia que el daño desapercibido de los nematodos ocasiona en las producciones de cultivos tan importantes para la seguridad alimentaria de nuestro país como lo es el Plátano (*Musa AAB*), en especial para el cion Dominico Hartón de gran importancia para la zona central cafetera, principal aporte en la producción de este cultivo a nivel nacional.

Con el fin de mejorar el paquete tecnológico de manejo de una plantación de plátano es necesario realizar más estudios encaminados en comprobar o refutar los datos que de este trabajo de identificación de nematodos en la Granja Luker han surgido, ya que como se mencionó anteriormente se debe mejorar la producción en cantidad y calidad de los racimos no solo con el fin de satisfacer la demanda nacional sino con el objetivo de ingresar en el mercado externo en el cual solo participamos con un 4% de nuestra producción.

Se hace necesario continuar monitoreando y elaborando una base de datos sobre los géneros presentes en la zona central cafetera y su efecto sobre la producción del cultivo del plátano, y adelantar investigaciones sobre su posible control disminuyendo el uso de productos químicos, puesto que ya se conocen practicas bioculturales como la aplicación de materia orgánica al suelo que complementada con el empleo de posibles controladores biológicos pueden ayudar al mejoramiento de la cosecha sin necesidad de incurrir en altos costos de producción.

## AGRADECIMIENTOS

A la Granja Luker, a la doctora María José Botero, al doctor Luis Fabio Aranzazu, al doctor Fernando Gómez, a Luis Eduardo Zuluaga y Carlos Fernando Urrea por el apoyo logístico en la realización de este trabajo.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- AGUDELO S., R.; ESCOBAR Z., H. 1993. Evaluación, cualificación y cuantificación de nematodos fitoparásitos del cultivo de cacao (*Theobroma cacao*). Informe ICA.
- ARAYA, M. y CHEVES, A. 1998. Selección del tipo de planta para el muestreo de nemátodos en banano (*Musa AAA*) En: Infomusa Vol. 7 N° 1 Junio. Panamá
- ARCILA P., M.I; ARANZAZU H., L.F; CASTRILLON A., C; VALENCIA M., J.A; BOLAÑOS B., M.M; CASTELLANOS C., P.A. 1999. El cultivo del plátano. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Comité de Cafeteros del Quindío. Armenia - Colombia
- BELALCAZAR C., S. 1991. El cultivo del plátano en el trópico. Instituto Colombiano Agropecuario. Comité Departamental de Cafeteros del Quindío Manual de asistencia Técnica N° 50. Armenia - Colombia
- CABRALES M., L. 1995. Determinación del sitio de muestreo de raíces en estudios nematológicos del banano. En: Fitopatología Colombiana Vol. 19 No. 1 Junio
- CASTAÑO Z., J.; DEL RIO M., L. 1997. Manual para el diagnóstico de hongos, bacterias, virus y nemátodos fitopatógenos. Ed. Zamorano, Honduras
- Centro Nacional de Investigación de Café "Pedro Uribe M." 1997. Anuario meteorológico cafetero

- VALENCIA M., J. A. ; ARCILA P., M.I.; ARANZAZU H., L.F. 1999. La planta de plátano sus variedades y propagación. CORPOICA Modulo I Manizales - Colombia

### REFERENCIAS DE INTERNET

- \* Bananas in the word [www.inibap.fr/promusa/bitw.html](http://www.inibap.fr/promusa/bitw.html)
- \* Nematodes other than root knot [cygnus.tamu.edu/textlab/multi5.html](http://cygnus.tamu.edu/textlab/multi5.html)

- Comité Departamental de Cafeteros de Caldas. Centro Nacional de Investigaciones de Café. 1989. Manual sobre el cultivo del plátano. Manizales - Colombia
- GOWEN, S.R. 1976. Control de nemátodos en banano. Windward Islands Banana Research and Development division. Boletín informativo. London
- GRISALES L., F.; LESCOT, T. 1999. Encuesta diagnóstico multifactorial sobre plátano en la zona cafetera central de Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario. Centro Nacional de Investigación de Café "Pedro Uribe M." Boletín Técnico N° 18.
- MAI, W.F. and LYON, H.H. 1975. Pictoria key to genera of plant-parasitic nematodes. Comstock Publishing Associates
- MÚNERA, G. y DE WAELE, D. 1998. Resistencia a nematodos en banano (*Musa spp.*). En: Memorias XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Mayo San Juan de Pasto - Colombia
- PINOCHET, J.; TARTE, R. 1981. Problemas nematológicos del banano, contribuciones recientes a su conocimiento y combate. Publicación UPEB. Panamá
- RODRÍGUEZ M., J.L.; RODRÍGUEZ S., L.A. 1999. Aspectos socioeconómicos del cultivo del plátano en Colombia. CORPOICA. Módulo VII Manizales - Colombia
- SÁNCHEZ D., J.I. 1978. Manual de nematología. En: Temas de orientación agropecuaria No. 133 Mayo-Junio. Colombia

## ANEXOS

### 1. EXTRACCIÓN DE NEMATODOS PARA RAIZ Y SUELO POR EL MÉTODO DE LA CENTRIFUGA (Castaño y Del Río, 1997)

- PARA SUELO: Tomar 1000 ml de muestra homogenizada y agitada en un cubo con agua; los nematodos suspendidos en el agua serán pasados a través de un tamiz de 1000 micras, así los nematodos pasarán al segundo recipiente libre de materiales gruesos.

Filtrar de nuevo por un tamiz de 53 micras la suspensión, en un tercer recipiente donde quedarán retenidos los nematodos y algunas partículas finas, el residuo del recipiente agitarlo con agua y filtrar de nuevo (lavar 3 o 4 veces). Por lavado recoger en un vaso los nematodos retenidos en el tamiz y aforar a 200 ml.

- PARA RAÍCES: Lavar muy bien la muestra con agua, picar y pesar una cantidad determinada de tejidos. Llevar la muestra a una lavadora con agua y licue por unos 30 segundos.

Filtrar la muestra por un tamiz de 1000 micras y lavar con agua a presión baja para que los nematodos pasen al cubo. Filtrar de nuevo en un tamiz de 53 micras, recoger en un vaso por lavado los nematodos retenidos en el tamiz y aforar a 200 ml.

Las dos muestras (suelo, raíces) se ponen en centrifugación a 300 r.p.m. durante 3 a 4 minutos, posteriormente se retira el sobrenadante y aforar a 200 ml los vasos con agua azucarada (1:1), se centrifuga de nuevo a 300 r.p.m. por 3 a 4 minutos. La suspensión se deposita en un siracluse y se observan en el microscopio. -

Esteroscopia. La identificación y clasificación se realiza con la ayuda de las claves taxonómicas.

## 2. METODOLOGIA DE LA EXTRACCIÓN DE NEMATÓDOS POR CENTRIFUGACIÓN Y FLOTACIÓN EN AZÚCAR (Modificado por Calle y Rivillas, 1989 NO PUBLICADO).

### - PARA SUELO :

- a. Pesar 10 gr. de suelo homogeneizado.
- b. Agregar 100 mL de agua destilada y agitar por un (1) minuto.
- c. Tamizar el suelo en tamices de 500 - 250 - 50 micras.
- d. Recolectar lo que queda en el último tamiz en un tubo de ensayo.
- e. Centrifugar la muestra a 3000 r.p.m. durante 5 minutos.
- f. Eliminar el sobrenadante y completar con sacarosa (1:1).
- g. Centrifugar por 5 minutos a 3000 r.p.m.
- h. Lavar la muestra a través de un tamiz de 38 micras y 10 micras.

### - PARA RAICES :

- a. Lavar las raíces.
- b. Se pesan 10 gr. de raíces y se cortan en trozos de 1 cm.
- c. Licuar en tres (3) ruidos de 5 segundos cada uno.
- d. Tamizar las raíces en tamices de 500 - 250 - 50 micras.
- e. Recolectar lo que queda en el último tamiz en un tubo de ensayo.
- f. Centrifugar la muestra a 3000 r.p.m. durante 5 minutos.
- g. Eliminar el sobrenadante y completar con sacarosa (1:1).
- h. Centrifugar por 5 minutos a 3000 r.p.m.
- i. Lavar la muestra a través de un tamiz de 38 micras y 10 micras.