



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**IDENTIFICACIÓN Y PROSPECCIÓN DE NEMATODOS EN EL SISTEMA
AGROECOLÓGICO EN EL CAMPUS SALACHE, CANTÓN LATACUNGA,
PROVINCIA DE COTOPAXI, 2022-2023.**

Autora:
Villarroel Camalli Karen Dayana

Tutor:
Chancusig Espin Edwin Marcelo

LATACUNGA – ECUADOR

Febrero 2023

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Karen Dayana Villarroel Camalli , con cédula de ciudadanía No. 1850135813, declaro ser autora del presente proyecto de investigación “Identificación y Prospección de nematodos en el Sistema Agroecológico en el Campus Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi, 2022-2023”, siendo el Ingeniero Ph.D. Edwin Marcelo Chancusig Espín. Tutor del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

Karen Dayana Villarroel Camalli
Estudiante
CC: 1850135813

Ing. Edwin Chancusig Espin, Ph.D.
Docente Tutor
CC: 0501148837

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **VILLARROEL CAMALLI KAREN DAYANA**, identificada con cédula de ciudadanía **185013581-3** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Doctor Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agronomía titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Identificación y Prospección de Nematodos en el Sistema Agroecológico en el Campus Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi, 2022-2023”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Marzo 2019 - Agosto 2019

Finalización de la carrera: Octubre 2022 – Marzo 2023

Aprobación en Consejo Directivo: 30 de noviembre del 2022

Tutor: Ingeniero Edwin Marcelo Chancusig Espín, Ph.D.

Tema: “Identificación y Prospección de Nematodos en el Sistema Agroecológico en el Campus Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi, 2022-2023”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 15 días del mes de febrero del 2023.

Karen Dayana Villarroel Camalli
LA CEDENTE

Dr. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez
LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

IDENTIFICACIÓN Y PROSPECCIÓN DE NEMATODOS EN EL SISTEMA AGROECOLÓGICO EN EL CAMPUS SALACHE, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI, 2022-2023, de Villarroel Camalli Karen Dayana, de la carrera de Agronomía, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

Ing. Edwin Marcelo Chancusig Espín, Ph.D.

DOCENTE TUTOR

CC: 0501148837

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Villarroel Camalli Karen Dayana , con el título del Proyecto de Investigación: “IDENTIFICACIÓN Y PROSPECCIÓN DE NEMATODOS EN EL SISTEMA AGROECOLÓGICO EN EL CAMPUS SALACHE, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI , 2022-2023”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

Lector 1 (Presidente)

Ing. Emerson Jácome Mogro, Ph.D.

CC: 0556897423

Lector 2

Marcela Janine Morillo Acosta M.Sc.

CC: 1719994392

Lector 3

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, Mg.

CC: 0502409725

AGRADECIMIENTO

La presente investigación se la dedico a Dios por sus bendiciones recibidas a mis queridos padres: Fausto y Sonia por su apoyo incondicional y sus sabias palabras de motivación, por su gran esfuerzo y sacrificio, han sido mi motor e inspiración para cumplir con este objetivo tan anhelado y convertirme en una profesional.

A mi Esposo y Hermanas por ser una parte primordial en mi vida personas que siempre creyeron en mí y me apoyaron hasta el final con su frase que “la paciencia no es la espera pasiva. Es la aceptación activa del proceso necesario para obtener tus metas y sueños” gracias por coincidir en todo momento.

Karen Dayana Villarroel Camalli

DEDICATORIA

A Dios y a mi Niño de Isinche por los propósitos perfectos que me pusieron en el camino, bendiciéndome y haciendo de mí una persona llena de metas y propósitos, por no dejarme caer y darme cuenta que cada día existe un motivo para seguir adelante.

Mi familia por estar en cada etapa de mi vida por inculcarme buenos hábitos y valores sobre todo hacer una persona que lucha por lo que se propone.

A mi querida Universidad Técnica de Cotopaxi por abrirme sus puertas y dejarme ser parte de esta prestigiosa Institución y que pueda formarme como una gran profesional.

Al Ingeniero Edwin Chancusig, por sus enseñanzas, paciencia y apoyo principal para poder culminar con éxito este proyecto, con sus palabras positivas y de mucha motivación para llegar a la meta.

Karen Dayana Villarroel Camalli

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “IDENTIFICACIÓN Y PROSPECCIÓN DE NEMATODOS EN EL SISTEMA AGROECOLÓGICO EN EL CAMPUS SALACHE, CANTON LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI, 2022-2023”.

AUTOR: Villarroel Camalli Karen Dayana

RESUMEN

La presente investigación, identificación y prospección de nematodos en el Campus Salache, se cuantifico el número de individuos de nematodos en el lote del sistema de producción de hortalizas agroecológicas, se recolecto 12 muestras de suelo a profundidad de 5cm,10cm y 15 cm, utilizando el método de Zig Zag, con un barreno se pesó 100g de suelo para luego ser puestas en las fundas ziploc selladas y etiquetadas, para ser transportadas al laboratorio en donde estas fueron homogenizadas, tamizadas, centrifugadas y observadas en el microscopio, en donde a profundidad de 5cm se identificó, Scutellonema sp. con 40 individuos, Helycotilenchus sp. con 32 individuos y Meloydogyne sp. con 11 individuos. A Profundidad de 10cm Scutellonema sp. con 25 Helycotilenchus sp. con 8 individuos y Meloydogyne sp. Con 6 individuos. A Profundidad de 15 cm Scutellonema sp. con 19 Helycotilenchus sp. con 6 individuos y Meloydogyne sp. Con 3 individuos. En el lote se encontró un total de 150 nematodos. Según los resultados obtenidos y comparados en el sistema agroecológico ya que es una producción netamente orgánica, el suelo es sano fértil y por lo tanto la plusvalía con alta materia orgánica y biodiversidad se incrementa. Comparando la diversidad de nematodos encontrados en la investigación con los cultivos presentes en el sistema agroecológico al no haber infección por los mismos toda la diversidad de plantas que existen han crecido normalmente y sin ningún problema y por el tamaño y vigorosidad el costo de las plantas incrementa.

Palabras clave: Profundidad, Nematodos, Scutellonema, Cultivo.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES**

TITLE: "IDENTIFICATION AND PROSPECTION OF NEMATODES IN THE AGROECOLOGICAL SYSTEM IN THE SALACHE CAMPUS, LATACUNGA CANTON, COTOPAXI PROVINCE, 2022-2023".

AUTHOR: Villarroel Camalli Karen Dayana

ABSTRACT

The present investigation, identification and prospection of nematodes in the Salache Campus was quantified by the number of nematodes individuals in the lot of the agroecological vegetable production system, 12 soil samples were collected at a depth of 5cm, 10cm and 15 cm, using the Zig Zag method, 100g of soil were weighed with a soil auger and then placed in sealed and labeled Ziploc bags to be transported to the laboratory where they were homogenized, sieved, centrifuged and observed under the microscope, where at a 5cm depth, Scutellonema sp. with 40 individuals, Helycotilenchus sp. with 32 individuals and Meloydogyne sp. with 11 individuals. At a 10cm depth Scutellonema sp. with 25 Helycotilenchus sp. with 8 individuals and Meloydogyne sp. with 6 individuals. At a 15 cm depth Scutellonema sp. with 19 Helycotilenchus sp. with 6 individuals and Meloydogyne sp. with 3 individuals. A total of 150 nematodes were found in the lot. According to the results obtained and compared in the agroecological system, since it is a purely organic production, the soil is healthy and fertile and therefore the capital gain with high organic matter and biodiversity increases. Comparing the diversity of nematodes found in the research with the crops in the agroecological system, since there is no infection by them, all the plants diversity that exist have grown normally and without any problem and because of the size and vigorousness the cost of the plants increases.

Key words: Depth, Nematodes, Scutellonema, Crop.

INDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INDICE DE CONTENIDOS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	2
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:.....	2
4.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	3
5. OBJETIVOS:.....	3
5.1. General.....	3
5.2. Específicos.....	3
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	4
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	6
7.1. NEMATODOS	6
7.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS NEMATODOS.....	6
7.3. REPRODUCCIÓN Y ÓRGANOS SEXUALES	8
7.4. ALIMENTACIÓN	8

7.5. NEMATODOS DE VIDA LIBRE Y BENÉFICOS PARA EL HOMBRE.....	9
7.6. CICLO BIOLÓGICO	9
7.7. GENERALIDADES DE LOS NEMATODOS	9
7.8. CLASIFICACIÓN DE LOS NEMATODOS.....	10
7.8.1. CLASE ADENOPHOREA.....	10
7.8.2. CLASE SECERNENTEA	10
7.9. EJEMPLOS DE NEMATODOS PARÁSITOS DE PLANTAS	10
7.10. HABITAD	11
7.11. DAÑOS CAUSADOS POR LOS NEMATODOS	11
7.12. ENFERMEDADES CAUSADAS POR NEMATODOS.....	13
7.13. ESPECIES OBSERVADAS EN LA INVESTIGACIÓN.....	14
7.13.1. <i>Helicotylenchus.sp</i>	14
7.13.2. Importancia económica de los nematodos <i>Helicotylenchus spp</i>	15
7.13.3. Morfometría de los nematodos <i>Helicotylenchus spp</i>	15
7.13.4. Condiciones predisponentes de los nematodos <i>Helicotylenchus spp</i>	15
7.14. <i>Scutellonema bradys</i>	15
7.14.1. TAXONOMIA Y ESPECIES.....	16
7.14.2. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA.....	16
7.14.3. REPRODUCCIÓN Y CICLO DE VIDA	16
7.15. MELOIDOGYNE SPP.....	17
7.15.1. TAXONOMIA	17
7.15.2. HÁBITAT.....	17
7.15.3. REPRODUCCIÓN.....	18
7.15.4. IMPORTANCIA FITOSANITARIA	18
8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS	18
8.1. HIPÓTESIS	18
9. METODOLOGÍA.....	19

9.1. Localización del ensayo.....	19
9.2. Ubicación geográfica del ensayo	19
9.3. Tipo de investigación	19
9.3.1. Modalidad básica de investigación.....	19
9.4. MATERIALES Y EQUIPOS	20
9.5. Factores en estudio	21
9.6. Diseño experimental.....	21
9.7. Colección y extracción de muestras.	22
9.7.1. Colección.....	22
9.7.2. Extracción.....	22
10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	23
11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS).....	26
12. PRESUPUESTO DEL PROYECTO	27
13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	28
14. BIBLIOGRAFIA	29
15. ANEXOS	32

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA DE ACTIVIDADES.....	4
TABLA 2 N°.1	23
Tabla 3Cuadro N°.2.....	24
Tabla 4 Cuadro N°3.....	25

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Fotografías.....	32
Anexo 2. Protocolo De Identificación y Prospección de nematodos en el sistema Agroecológico en el Campus Salache, Cantón Latacunga, Provincia De Cotopaxi, 2022 – 2023.....	41
Anexo 3. Aval del Traductor.....	46

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

IDENTIFICACIÓN Y PROSPECCIÓN DE NEMATODOS EN EL SISTEMA AGROECOLÓGICO EN EL CAMPUS SALACHE, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI, 2022-2023.

Fecha de inicio:

Octubre 2022

Fecha de finalización:

Febrero 2023

Lugar de ejecución:

Salache-Eloy Alfaro-Latacunga-Cotopaxi-zona 3 Universidad Técnica de Cotopaxi

Facultad que auspicia

Facultad de Ciencias Naturales Y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Ingeniería Agronómica

Equipo de Trabajo:

Responsable de la Investigación: Karen Dayana Villarroel Camalli

Tutor : Ing. Edwin Marcelo Chancusig Espín, Ph.D.

Lector 1: Ing. Emerson Jácome Mogro, Ph.D.

Lector 2: Marcela Janine Morillo Acosta M.Sc.

Lector 3: Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, Mg.

Coordinador del Proyecto:

Nombre/s: Karen Dayana Villarroel Camalli

Teléfonos:0984188021

Correo electrónico: karen.villarroel5813@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

Agricultura, silvicultura y pesca - producción agropecuaria.

Línea de investigación:

1.2 Línea 1:

a. Desarrollo soberanía y seguridad alimentaria

Sub líneas de investigación de la Carrera:

a. Producción agrícola sostenible

1.3. Línea de vinculación

Línea de vinculación de la carrera:

Gestión de recursos naturales, biodiversidad, biotecnología y genética para el desarrollo humano social.

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La presente Investigación se realizó en el Campus Salache en el Sistema Agroecológico, donde se efectuó la Identificación y Prospección de Nematodos a distintas profundidades según Rocha, manifiesto que en los últimos años, las investigaciones realizadas en el campo de los nematodos fitoparásitos, han cobrado particular importancia, teniendo en cuenta el papel negativo que desempeñan estos organismos en el desarrollo de cultivos de gran interés económico (2018, pág. 15).

En la provincia de Cotopaxi el tema de nematodos es de un desconocimiento total sin embargo es de mucho interés y muy importante que el agricultor analice, conozca que al existir estas especies de nematodos en la agricultura estos pueden causar grandes pérdidas económicas ya que algunos nematodos son perjudiciales y un porcentaje son benéficos. Por lo tanto, Rocha, asegura que los nematodos parásitos de vegetales se encuentran atacando todas las partes vegetativas como flores, semillas, hojas, brotes, tallos y raíces, causando trastornos y decaimiento en el vegetal, hasta producir la muerte y destrucción de éste. (Torres, 2000) (2018, pág. 13).

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO**Beneficiarios directos**

Estudiantes de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Docentes y Comunidades de los sectores priorizados Carrera de Ingeniería.

Beneficiarios indirectos

Los beneficiarios indirectos son las Instituciones públicas, privadas y las ONG que están en relación al sector Agrícola (MAG, COLEGIOS TECNICOS AGROPECUARIOS).

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

Al ser Cotopaxi una zona mayoritariamente productiva en relación a la agricultura se desconoce investigaciones relacionadas a nematodos ya que estos vienen hacer de gran interés de estudio por el daño que causan a los cultivos y las pérdidas económicas que estos generan.

El Desconocimiento de los géneros, especie y la densidad poblacional de nematodos que se encuentran presentes en el sistema agroecológica.

El estudio investigativo se realizó por la falta de información que existe relación a la presencia de la diversidad de nematodos en un sistema agroforestal, el mismo que es un sistema diverso, en el que se encuentran arboles forestales nativos, frutales, ornamentales y medicinales, que tienen importancia ambiental, embellecen el paisaje e importancia económica.

4.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son los géneros, y la densidad poblacional de nematodos asociados al Sistema Agroecológico en el campus Salache Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi?

5. OBJETIVOS:

5.1. General

Identificación y Prospección de Nematodos en el Sistema Agroecológico del Campus Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi, 2022-2023.

5.2. Específicos

Identificar las especies de nematodos en el sistema Agroecológico.

Cuantificar el número individuos de nematodos en 100 g de suelo de acuerdo a la profundidad de (5,10 y 15 cm).

Elaborar el protocolo de la identificación y prospección, de nematodos en el sistema agroecológico.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

1 TABLA DE ACTIVIDADES

OBJETIVO 1	ACTIVIDAD	METODOLOGÍA	RESULTADOS
<p>Identificar las especies de nematodos en el sistema Agroecológico.</p>	<p>Reconocimiento del lote del sistema Agroecológico.</p>	<p>Medición del lote donde se realizó la investigación.</p>	<p>Medidas del área del lote realizó la investigación.</p>
	<p>Adquisición de materiales.</p>	<p>Compra de un barreno, fundas ziploc, marcador color negro, hielera, tamices (coladeras de acero inoxidable de 35 y 45, micras), tela ceda de 20 micras), media nylon de 30 micras, baldes plásticos de 4 litros, palos de brocheta, cajas pequeñas plásticas, tubos NUNC para centrifuga de 5 ml.</p>	<p>Costos de materiales.</p>
	<p>Extracción y recolección de muestras de suelo a diferentes profundidades.</p>	<p>Se dividió el lote en cuatro lotes para realizar la extracción de muestras de suelo en diferentes profundidades (5,10,15cm) con ayuda de un barreno.</p> <p>Una vez selladas las muestras de suelo en las fundas ziploc fueron etiquetadas según el lote y la profundidad que se extrajo puesta la fecha en la que se realizó.</p>	<p>Fotografías</p> <p>Fotografías</p>

	Etiquetado de las diferentes muestras y transporte de muestras en una hielera hasta el laboratorio.	Ubicamos las muestras de suelo etiquetadas en la hielera para preservar la temperatura y la humedad para ser llevadas al laboratorio.	Fotografías
OBJETIVO 2	ACTIVIDAD	METODOLOGÍA	RESULTADOS
Cuantificar la dinámica poblacional de los principales géneros de nematodos encontrados en el sistema agroecológico.	Elaboración de un registro de datos. Extracción de muestras de nematodos. Identificación de especies.	Se realizó un cuadro en el programa Excel. Pesaje, tamizado de la muestra de suelo y utilización de la centrifuga. Visualización de muestras centrifugadas en el microscopio.	Registro de datos Fotografías Fotografías
OBJETIVO 3	ACTIVIDAD	METODOLOGÍA	RESULTADOS
Elaborar el protocolo de la identificación, cuantificación, caracterización y la dinámica de la población de los nematodos en el sistema agroforestal	Ejecución del Proyecto. Cuantificación de nematodos existentes en la parcela.	Redacción de los pasos y métodos utilizados durante la investigación. Microscópicamente se visualizó la cantidad de nematodos obtenidos por muestra.	Proyecto de investigación. Registro de datos y Fotografías.

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1. NEMATODOS

Según Lezaun, “Los nematodos están definidos como animales filiformes con cuerpo sin segmentos y cubiertos de una cutícula hialina, marcada por estrías u otras marcas”, (2016, párr. 2). Así mismo apoyando a lo expuesto, (Paz, 2019, párr. 2), expone que “Los nematodos son parásitos que se desarrollan en el suelo y que afectan a las plantas. Se trata de gusanos microscópicos de un tamaño en torno a 0,1-3 milímetros que succionan los nutrientes de las raíces y de las células de las plantas a través de perforaciones en estas. Así, la incidencia de otros virus, hongos y bacterias es más elevada”. (Universidad Complutense de Madrid, 2013) escribe que existen unas 20.000 especies descritas (aunque se supone que existen muchas más), dioicas; marinas, dulceacuícolas y terrestres. Hay formas parásitas. La alimentación es muy variable. 0,5 mm – 1 m de longitud. Carecen de coloración. Con eutelia. No presentan cilios ni flagelos.

Por lo tanto, los nemátodos parásitos de plantas son un grupo de gusanos microscópicos que viven en el suelo y atacan las raíces o partes aéreas de la mayoría de los cultivos. Con frecuencia causan daños tan serios, que es imposible mantener una agricultura económicamente viable, sin el uso de alguna forma de control nematológico.

7.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS NEMATODOS

Los nematodos incluyen especies tanto de vida libre (monoxenos), que son metabólicamente independientes, como parásitos, que tienen dependencia metabólica de un hospedador a fin de continuar su ciclo de vida. Son dioicos, es decir, los dos sexos en organismos separados.

Todas las especies fitoparásitos de nemátodos poseen estilete, lo que ayuda a diferenciarlas de las especies que pueden resultar benéficas.

Las características principales de los nematodos según (Solano, 2021, párr. 4) son:

- Son animales pseudocelomados, lo que significa que tienen una cavidad interna llamada pseudoceloma pero que no es de origen mesodérmico como en los animales celomados.
- Alcanzan el nivel de organización de sistema de órganos.

- Tienen un cuerpo de forma cilíndrica, sin extremidades y cubierto por una cutícula inerte (sin células) y flexible.
- Tienen un esqueleto hidrostático que da soporte al cuerpo y permite el desplazamiento del animal al transmitir la contracción de la musculatura.
- Tienen un sistema digestivo completo con boca y ano.
- Tienen un sistema excretor único formado por riñones de secreción.
- Poseen órganos sensoriales complejos llamados anfidios.
- Diversidad de hábitats: viven tanto de forma libre en suelos áridos y húmedos, en hábitats de agua dulce y salada, así como parasitando plantas y animales de los que se alimentan.
- Tamaño variado: desde pocos milímetros a más de medio metro.
- Cuerpo redondo y alargado: de forma cilíndrica y sin segmentos. Su simetría es bilateral.
- Diversas estructuras en la boca: esta apertura de los nematodos cuenta con diferentes estructuras que les permiten unirse a tejidos y obtener alimento, tales como dientes, placas e incluso ganchos bucales.
- Superficie exterior resistente: ya que cuentan con una cutícula y con varias capas musculares.
- Diversas estrategias de alimentación: los nematodos han desarrollado diferentes estrategias, tales como la aspiración para la ingestión de sangre, absorción de tejidos destruidos, así como de contenido intestinal y de nutrientes presentes en diferentes líquidos corporales (en animales) o de la savia (en plantas).
- Reproducción sexual y/o asexual: la reproducción de los nematodos puede ser tanto sexual como asexual, mediante partenogénesis, fragmentación o embriogénesis.

De acuerdo con (Lara, 2019) Los nematodos de vida libre son organismos que en los últimos años han cobrado importancia para la investigación científica mundial, debido a la facilidad de cultivo y su ciclo de vida corto, así como su tolerancia a variaciones del ambiente. En los aspectos económicos como es en la alimentación de estadios larvarios de especies comerciales acuáticas, estos gusanos pueden ser una alternativa como alimento vivo. Su importancia

ecológica es de gran relevancia ya que intervienen en la degradación de la materia orgánica para el cumplimiento de los ciclos biogeoquímicos.

7.3. REPRODUCCIÓN Y ÓRGANOS SEXUALES

La reproducción es variable. Se reproducen tanto por partenogénesis como por reproducción sexual. Los sexos están separados; en general los machos son más pequeños que las hembras. Los órganos reproductores son en proporción muy grandes y complejos. En el macho están formados por testículos, vasos deferentes, vesícula seminal y conducto eyaculatorio. Presentan unas espículas como órganos copulatorios, a veces con una bursa o bolsa que le ayuda en la copulación además de órganos accesorios como el gobernáculo. Los órganos reproductores de la hembra constan de ovarios, oviducto, receptáculo seminal, útero y vagina. La hembra puede producir desde varios cientos hasta millones de huevos. Por lo general, la fecundidad es proporcional a la complejidad del ciclo de vida del parásito. (Brusca, 2005, párr. 2).

7.4. ALIMENTACIÓN

Según (Ortuño, 2005), las diferentes especies de nematodos han evolucionado en diversas adaptaciones alimenticias. En el caso de las especies zooparásitos (parásitos de animales) tenemos:

- Aspiración: por ejemplo, en la ingestión de sangre por Ancylostoma spp.
- Absorción de tejidos destruidos: como en el caso de los gusanos incrustados de la especie *Trichuris trichiura*.
- Absorción de contenido intestinal: clásico de Ascaris spp.
- Absorción de nutrientes de líquidos corporales: técnica de las filarias.

Las especies fitoparásitos (parásitos de plantas) poseen un órgano denominado “estilete” con la cual puncionan y se alimentan frecuentemente del tejido de la raíz, particularmente de los vasos conductores, aunque algunos pueden alimentarse de otros tejidos de la planta.

Los nemátodos depredadores de otros nemátodos poseen una boca o cavidad denominada “estoma”, que le permite asir firmemente a su presa y succionarle el líquido interno.

7.5. NEMATODOS DE VIDA LIBRE Y BENÉFICOS PARA EL HOMBRE

(López, 2005), menciona que “aquellos nemátodos que no son fitoparásitos, ni zooparásitos que afecten al humano o animales domésticos. Quizás son el grupo mayoritario dentro del Phylum Nematoda. Se encuentran representados nemátodos saprófagos, fungívoros, bacteriófagos, depredadores, entomopatógenos, etc., abarcando ambientes acuáticos y terrestres.

7.6. CICLO BIOLÓGICO

(Biotecnología, 2016) Aseguro que el ciclo de vida que tienen los nematodos depende de su hábitat y de si son formas libres o parásitas. En las formas libres, normalmente efectúan unas cuatro mudas de piel a lo largo de su vida. Se alimentan de materiales diversos, incluyendo algas, hongos, animales pequeños, materia fecal y restos de otros animales. Tienen un papel importante en procesos de descomposición.

En los nemátodos se puede encontrar dos tipos de ciclo de vida según (Sarmiento, 2018).

- Ciclo directo: Cuando las formas preparasitarias se encuentran libres en el ambiente, su desarrollo es dentro del huevo o al salir de él.
- Ciclo indirecto: Cuando las larvas infectivas se desarrollan hasta la etapa infectiva en el interior del huésped intermediario

7.7. GENERALIDADES DE LOS NEMATODOS

Comúnmente conocidos como gusanos redondos, los nematodos (del griego Nematoda) son uno de los grandes filos taxonómicos en los que se clasifican los invertebrados del reino Animal o Animalia.

Generalmente, los nematodos son conocidos por su capacidad de infección y causa de enfermedades, tanto en plantas como en animales, siendo los responsables de la pérdida de cultivos y plantas ornamentales, así como de enfermedades infecciosas gastrointestinales en los seres humanos y otros animales (mamíferos y peces, principalmente). De esta forma, los nematodos son considerados uno de los fitopatógenos y parásitos más extendidos en cualquier rincón del planeta. (Lumitos, 2018, párr. 6.7).

7.8. CLASIFICACIÓN DE LOS NEMATODOS

Según (Lumitos, 2018),” El filo de los nematodos incluyen a unas 25.000 especies”. Estos animales invertebrados han evolucionado a lo largo de su historia biológica con el objetivo de adaptarse a nuevos huéspedes que parasitar, tanto dentro del reino de los animales como del de las plantas.

Para la clasificación de los nematodos, el método clásico más utilizado es en función de criterios morfológicos, los cuales permiten distinguir dentro del filo nematodos, las siguientes clases y subclases:

7.8.1. CLASE ADENOPHOREA

Dentro de la clase Adenophorea de los nematodos, podemos encontrarnos con las dos siguientes subclases:

- Enoplios (subclase Enoplia).
- Cromadorios (subclase Chromadoria).

7.8.2. CLASE SECERNENTEA

La clasificación de los nematodos dentro de la clase Secernentea quedaría de la siguiente manera:

- Rabdítidos (subclase Rhabditia).
- Senefrénicos (subclase Spiruria).
- Diplogasterios (subclase Diplogasterida).

7.9. EJEMPLOS DE NEMATODOS PARÁSITOS DE PLANTAS

Ahora que ya sabemos cuáles son las características de los nematodos y su clasificación principal, vamos a ver algunos ejemplos de nematodos parásitos de plantas.

- Nematodo de la raíz de la patata (género Globodera).
- Nematodo ectoparásito migrador (genero Xiphinema).
- Nematodos inductores de agallas (género Meloidogyne).
- Nematodos enquistados (Heterodera fici).
- Nematodo espiral (género Helicotylenchus).
- Nematodo del nudo de la raíz (género Meloidogyne).
- Nematodo de la lesión radical (género Pratylenchus).

- Nematodo barrenador (*Radopholus similis*).
- Nematodo de la hoja (género *Aphelenchoides*).
- Nematodo de la pudrición (*Ditylenchus destructor*)

7.10. HABITAD

(Jorgelina, 2016), refiere que “la temperatura del suelo, el grado de humedad y de aireación afecta al movimiento y supervivencia de los nematodos en el suelo”.

- Aparecen en mayor abundancia en el nivel del suelo comprendido entre 15 y 30 cm.
- La distribución de los nematodos en los suelos cultivados es usualmente irregular y es mayor en o alrededor de las raíces de las plantas susceptibles que en ocasiones alcanzan profundidades considerables (30-150 cm o más).
- La mayor concentración de nematodos en la región de las raíces se debe a su mayor tasa de reproducción por la disponibilidad continua del alimento y también a un proceso de atracción de los nematodos por determinadas sustancias liberadas en la rizosfera.
- La dispersión de los nematodos a través del suelo por sus propios medios es lenta y muy limitada, de tal forma que la distancia máxima cubierta por un nematodo probablemente no excede unos pocos metros por estación. Dentro del suelo se mueven más rápidamente cuando los poros están recubiertos por una fina película de agua (de pocas mm de espesor) que cuando el suelo está totalmente saturado de agua. Además de por su propio movimiento, los nematodos se dispersan también fácilmente por cualquier medio que mueva y pueda transportar las partículas de suelo.
- La maquinaria agrícola, irrigación, aguas de drenaje o inundaciones, patas de animales, pájaros y tormentas de polvo dispersan a los nematodos en áreas locales, mientras que en grandes distancias los nematodos se dispersan primariamente con los productos de las explotaciones agrícolas y las plantas de vivero.

7.11. DAÑOS CAUSADOS POR LOS NEMATODOS

Los nematodos, pueden producir síntomas característicos en el sistema radicular como agallas, lesiones necróticas en las raíces, proliferación de raíces secundarias y pobre crecimiento radicular, lo que se traduce en clorosis y en general plantas débiles con pobre crecimiento.

¿Cómo atacan los nematodos a las plantas?

Los nemátodos parásitos de plantas reciben el nombre de fitoparásitos. Son un grupo de organismos microscópicos que viven en la película de agua que rodea la raíz y parasitan las raíces o partes aéreas (tallo y hojas) de la mayoría de los cultivos, pudiendo provocar importantes pérdidas económicas.

Los nematodos fitopatógenos se alimentan mediante una pieza bucal hueca en forma de aguja, llamada lanza o estilete, que les permite perforar las raíces y a través de la cual inyectan enzimas digestivas que digieren parcialmente el contenido de éstas y que luego succiona hacia su aparato digestivo.

Los nematodos pueden introducirse dentro de la raíz o alimentarse desde fuera, atendiendo a esto podemos diferenciar los nematodos fitopatógenos en endoparásitos y ectoparásitos.

Los nematodos producen en las plantas síntomas no específicos que pueden confundirse con síntomas de otros problemas como exceso de riego, sequía o deficiencia de algún nutriente. También se producen infecciones secundarias provocadas por hongos y bacterias cuya entrada ha sido facilitada por el nematodo.

¿Cuáles son los síntomas más comunes de infección por nematodos?

Los síntomas frecuentes de la lesión por nematodos incluyen retraso del crecimiento, pérdida del color verde y coloración amarillenta; muerte regresiva de ramitas y brotes; lento declive general, marchitamiento y falta de respuesta al agua y los fertilizantes. Se reducen los sistemas de raíces alimentadoras de la planta y estos pueden estar engrosados o excesivamente ramificados, y a menudo descoloridos y deteriorados.

¿Cómo proliferan los nematodos?

Los nematodos pueden vivir parte del tiempo libres en el suelo alrededor de las raíces. Hacen túneles dentro de los tejidos vegetales (endoparásitos) o se alimentan externamente desde la superficie (ectoparásitos) y pueden entrar en la planta a través de heridas o aberturas naturales o penetrando raíces. Todos los nematodos parásitos de las plantas requieren tejidos vegetales vivos para su reproducción. Los nematodos se sienten atraídos por las raíces del hospedador al detectar el calor que desprenden las raíces o las sustancias químicas secretadas por éstas.

La mayoría de las especies requieren de 20 a 60 días para completar una generación desde el huevo, a través de cuatro estadios larvarios, hasta convertirse en adulto. Algunos nematodos tienen solo una generación al año, pero aun así producen varios cientos de crías. La duración del ciclo depende de la temperatura y del hospedante. Algunas especies pueden formar estructuras de resistencia y permanecen así hasta que las condiciones sean favorables para reproducirse.

¿Qué daños más comunes pueden causar los nematodos?

Después de que un nematodo infectante de plantas se ha introducido accidentalmente en un campo, pueden pasar varios años antes de que la población se acumule lo suficiente para causar síntomas visibles en un gran número de plantas. Esto se debe a que los nematodos se mueven muy lentamente a través del suelo. Sin embargo, los nematodos se propagan fácilmente al mover tierra infestada, partes de plantas u objetos contaminados, por ejemplo, herramientas y maquinaria agrícola y el material de plantación infectado.

7.12. ENFERMEDADES CAUSADAS POR NEMATODOS

Los nematodos agalladores (especies de *Meloidogyne*) son bien conocidos debido a los llamativos “nudos” o hinchazones en forma de agallas que inducen en las raíces. Más de 2.000 tipos de plantas superiores están sujetas a su ataque. Las pérdidas suelen ser considerables, especialmente en regiones cálidas con largas temporadas de crecimiento.

Los nematodos lesionadores de las raíces (especies de *Pratylenchus*), de distribución cosmopolita, son endoparásitos que causan graves pérdidas a cientos de diferentes cultivos y plantas ornamentales al penetrar las raíces y abrirse paso a través de los tejidos, descomponiendo las células a medida que se alimentan. Depositán huevos a partir de los cuales se desarrollan nuevas colonias. Después de que una raíz comienza a perder vigor, los nematodos se mueven hacia el suelo en busca de raíces saludables. Las lesiones se forman en la raíz cuando los hongos y las bacterias ingresan a los tejidos dañados y, a menudo, se produce la pudrición de la raíz.

El nematodo dorado de la patata (*Heterodera rostochiensis*) es una amenaza para la industria europea de la patata. Se han hecho grandes esfuerzos para controlarlo. Los quistes dorados del tamaño de una mota que salpican las raíces de las plantas infestadas son los restos de cuerpos

femeninos. Cada quiste puede contener hasta 500 huevos, que se incuban en el suelo durante un período de hasta 17 años.

El nematodo de los cítricos (*Tylenchulus semipenetrans*), como su nombre indica, ataca a cítricos. Los síntomas típicos son un lento declive, coloración amarillenta, muerte de las hojas y muerte regresiva de ramitas y ramas en muchas arboledas de 15 años o más.

Los nematodos ectoparásitos que se alimentan de las raíces de las plantas son: nematodos daga (*Xiphinema*), nematodos de raíz rechoncha (*Trichodorus*), nematodos espirales (*Rotylenchus* y *Helicotylenchus*), nematodos agujones (*Belonolaimus*) y nematodos pin (*Paratylenchus*). Los nematodos foliares (especies de *Aphelenchoides*) y los nematodos de bulbos y tallos (*Ditylenchus dipsaci*) causan graves pérdidas en cultivos de bulbos de hortalizas.

Según estimaciones de diversas fuentes sugieren que los nemátodos parásitos de plantas reducen la producción agrícola mundial entre un 12 % y un 20 %. Lo que equivale aproximadamente a 135.000 millones de euros anuales. (Fe, 2003, pág. 33)

7.13. ESPECIES OBSERVADAS EN LA INVESTIGACIÓN

7.13.1. *Helicotylenchus.sp.*

Helicotylenchus.spn “es un nematodo llamado comunmente de espiral.Pertenece al orden Tylenchida y familia Hoplolaimidae.Son nematodos parásitos de plantas o fitoparásitos, además semi-endoparásitos”. (Neval, *Helicotylenchus spp.*, 2018)

TAXONOMIA Y ESPECIES

Reino: Animalia

Filo: Nematoda

Clase: Secernentea

Orden: Tylenchida

Familia: Hoplolaimidae

Género: *Helicotylenchus*

Especie: *H. dihystray H. multicinctus*, son las que revisten la mayor importancia desde el punto de vista agrícola, y la especie que frecuenta el cultivo de café principalmente es *H. erythrinae* (Crozzoli, 2002).

7.13.2. Importancia económica de los nematodos *Helicotylenchus* spp

El género *Helicotylenchus* contiene más de 160 especies, siendo uno de los más abundantes del orden Tylenchida, al cual pertenece la mayoría de nematodos fitoparásitos (Guzmán-Piedrahita, 2010). De acuerdo con las frecuencias y densidades poblacionales, durante el año y en las zonas productoras de musáceas en cada país, *R. similis* es la especie fitoparásita más abundante, constituyendo entre el 82 y 97% de la población de nematodos en raíces y cormos; sin embargo, ésta puede cambiar según el cultivo, variedad y las condiciones agroecológicas (Araya y Moens, 2003).

7.13.3. Morfometría de los nematodos *Helicotylenchus* spp

La longitud del cuerpo de las hembras es de 0,47-0,53mm (promedio de 0,50 mm), es arqueado con forma de C cuando está relajado; posee anulaciones distintivas, cerca de 1,5µm de ancho en la mitad del cuerpo, campos laterales no areolados, con 4 incisuras, aproximadamente una cuarta parte del ancho del cuerpo. Una región labial hemisférica, ligeramente compensada, con 3-5 (usualmente 4) anulaciones y una depresión oral prominente terminal, marco cefálico fuertemente esclerotizado, con conspicuas márgenes exteriores extendiéndose posteriormente a través de 3 a 4 anulaciones del cuerpo, las cuales son mucho más estrechas en esa región que en las otras. El cuerpo de los machos tiene una longitud de 0,43-0,55mm, similar a la hembra, excepto el dimorfismo sexual, son abundantes. Poseen un solo testículo, extendido anteriormente, espermatozoides pequeños y redondeados, espermateca pequeña redondeada (Siddiqi, 1973).

7.13.4. Condiciones predisponentes de los nematodos *Helicotylenchus* spp.

Según Ferris (1960) y Willmontt et al. (1975), *H. dihystra* puede sobrevivir 6 meses en suelo almacenado en sacos de plástico a temperaturas tan altas como 18-24°C en bodegas y tan bajas como 1.1-1.4°C en refrigeradores, pero a una temperatura del suelo de 24 a 35°C no sobrevive 80 días. *H. multicinctus* puede sobrevivir en suelo sin plantas hospedantes por 4 meses en ambiente de laboratorio. Ésta capacidad le permiten al nematodo parasitar e incrementar sus poblaciones en las raíces secundarias ramificadas y superficiales de diferentes especies de plantas (Siddiqi, 1972)

7.14. *Scutellonema bradys*

Scutellonema bradys, también conocido como nematodo del ñame, es un nematodo endoparásito migratorio que causa daños importantes a los cultivos de ñame (*Dioscorea* spp.)

en muchas regiones tropicales de África, así como en partes de América del Sur, América Central y Asia. Pueden causar una reducción del 20-30% en el peso del tubérculo en la cosecha. Este nematodo es capaz de multiplicarse en condiciones secas provocando la pudrición completa de los tubérculos, denominada pudrición seca, lo que disminuye el valor comercial de los tubérculos. La pudrición seca del ñame ocurre en los 1–2 cm exteriores de los tubérculos. Los síntomas de la podredumbre seca del ñame incluyen lesiones necróticas debajo de la piel, seguidas de lesiones amarillas debajo de la piel exterior del tubérculo. Aparecen grietas externas en la piel del tubérculo. Las infecciones creadas por el nematodo pueden servir como apertura externa facilitando la colonización de hongos y bacterias, causando pudrición húmeda.[1] *S. bradys* se alimenta y reproduce en ñames almacenados después de la cosecha. Los tubérculos de ñame infestados se dañan mucho como resultado de la reproducción continua del nematodo.

7.14.1. TAXONOMIA Y ESPECIES

Reino: Animalia

Filo: Nematoda

Clase: Chromadorea

Orden: Rhabditida

Superfamilia Tylenchoidea

Familia: Hoplolaimidae

Género: Scutellonema

Especies: *Scutellonema bradys*

7.14.2. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

S. bradys pertenece a la familia Hoplolaimidae y se describe como un nematodo vermiforme cuando madura, midiendo alrededor de 1 mm de longitud con un estilete bien desarrollado.[1] El cuerpo de la hembra tiene una longitud de $987,1 \pm 16,2 \mu\text{m}$. El estilete tiene protuberancias basales redondeadas con la parte anterior de la lanza estrechándose hacia el final de la mitad delantera de la longitud de la lanza. Las glándulas esofágicas se alargan y superponen el intestino dorsal-lateralmente. Los machos tienen una forma corporal similar a la hembra con $983 \pm 14,3 \mu\text{m}$. Los testículos están estirados, con una bursa grande visible que encierra la cola.

7.14.3. REPRODUCCIÓN Y CICLO DE VIDA

Los huevos se depositan en el suelo o tejido vegetal donde eclosionan y los juveniles se convierten en adultos mediante la muda. Por lo general, infecta los tubérculos jóvenes a través

de los tejidos del punto de crecimiento del tubérculo, junto con las raíces y brotes emergentes, a través de las raíces y también a través de grietas o áreas dañadas en la piel del tubérculo.[2] El nematodo se alimenta intracelularmente en el tejido del tubérculo, provocando la ruptura de la pared celular, la pérdida del contenido celular y la formación de cavidades.[3] El ciclo dura 21 días y en condiciones favorables puede aumentar mucho su población. Las poblaciones de *S. bradys* se ven afectadas por las condiciones de almacenamiento y aumentan al doble de velocidad en los tubérculos almacenados a 22–32 °C y una humedad relativa de 40–85 %, en comparación con los tubérculos almacenados a 16–18 °C.[4] El principal medio de diseminación de *S. bradys* es a través de ñames que se propagan a partir de tubérculos enteros.

7.15. MELOIDOGYNE SPP.

El género *Meloidogyne* spp., agrupa a los nematodos formadores de agallas radicales y comprende a más de 90 especies descritas. La palabra *Meloidogyne* es de origen griego y significa hembra con forma de manzana.

7.15.1. TAXONOMIA

Reino: Animalia.

Filo: Nematoda.

Clase: Secernentea.

Orden: Tylenchida.

Familia: Heteroderidae.

Género: *Meloidogyne*.

Especie: *Meloidogyne* spp.

7.15.2. HÁBITAT

Según Perry y Moens (2009), las poblaciones de *Meloidogyne* spp. de mayor importancia económica son habitantes de suelos agrícolas. En regiones tropicales, donde la temperatura no varía grandemente entre estaciones, *Meloidogyne* spp., puede reproducirse constantemente en la presencia de un hospedero y humedad favorable en el suelo. Con suficiente aireación en el suelo y una adecuada humedad necesarios para el movimiento y la infección, suelos arenosos o bien estructurados y drenados, combinados con un régimen apropiado de irrigación o

suficiente lluvia, favorece la reproducción del nematodo. *Meloidogyne* spp., es encontrado en suelos arenosos o franco arenosos (Taylor y Sasser, 1983).

7.15.3. REPRODUCCIÓN

El estado citogenético del género *Meloidogyne* spp. es complejo pero importante en el entendimiento de la biología y evolución de estos nematodos. Tienen tres modos de reproducción: anfimixis, automixis y afomixis. Únicamente un pequeño número de especies se reproduce por anfimixis; es decir con la fusión obligatoria de los gametos del macho y de la hembra. La mayoría de especies de *Meloidogyne* spp. se reproducen por partenogénesis (automixis y afomixis). Durante la maduración del oocito, las especies apomícticas experimentan sólo una división mitótica. No existe la meiosis en esta división mitótica partenogenética obligatoria. En especies automícticas, los oocitos experimentan una división por meiosis. Cuando hay presencia de machos, el espermatozoide y el huevo se fusionan. Sin embargo, sin la presencia de un núcleo del espermatozoide, el núcleo del segundo cuerpo polar se fusiona con el pronúcleo del huevo y restaura el estado diploide. Por lo tanto, especies automícticas son facultativamente partenogenéticas (Perry y Moens, 2006).

7.15.4. IMPORTANCIA FITOSANITARIA

Cada especie de *Meloidogyne* spp., tiene especies de plantas y cultivares que son altamente susceptibles, moderadamente susceptibles, ligeramente susceptibles e inmunes (Taylor y Sasser, 1983). El rango de hospederos de este género es muy amplio, aproximadamente 3,000 especies de plantas (Perry y Moens, 2009). Algunas especies de *Meloidogyne*, son plagas cuarentenarias y varían mucho, tanto en organismos hospederos como en el nivel de virulencia (Wishart, Phillips y Blok, 2002).

Según (Navone, 2017) se pronuncia que entre los nematodos parásitos de invertebrados, los entomopatógenos son ampliamente utilizados para el control biológico; en tanto los fitoparásitos ocasionan, dependiendo del tipo de asociación parásita, daños en cultivos e importantes pérdidas económicas (por ejemplo, los nematodos agalladores de la raíz).

8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

8.1. HIPÓTESIS

¿En el lote agroecológico existe la presencia de nematodos?

¿En la granja agroecológica no existe?

9. METODOLOGÍA

9.1. Localización del ensayo

La investigación se realizó en el lote de producción de hortalizas Agroecológicas, en el barrio Salache, parroquia Eloy Alfaro, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi en el laboratorio de microbiología de la Carrera de Agronomía, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

9.2. Ubicación geográfica del ensayo

El Campus Salache se encuentra a una altura de 2720 (m s. n. m.) con $78^{\circ}37'23''$ de longitud oeste y $0^{\circ}59'58''$ de latitud sur.



Fuente: (Google Earth, 2021)

9.3. Tipo de investigación

9.3.1. Modalidad básica de investigación

9.3.1.1. De Campo

La investigación es de campo, dado que se extraerá muestras de suelo en 4 lotes a diferentes profundidades de (5,10,15 cm) estas muestras serán etiquetadas para evitar confusiones y posterior llevarlas al laboratorio.

9.3.1.2. De laboratorio

La investigación recae en la fase de laboratorio porque se realizará en un ambiente controlado (de tipo laboratorio) donde se aplicará la técnica de centrifugación y la visualización de nematodos bajo microscopio óptico de una medida de 40 x.

9.3.1.3. BIBLIOGRÁFICA

El estudio va a tener un proceso de recopilación de datos coherente, para la construcción del proyecto y se realizara un procedimiento de abstracción científica.

9.4. MATERIALES Y EQUIPOS

Materiales de oficina

- Laptop
- Papel bond A-4
- Fundas ziploc
- Material bibliográfico

Materiales de laboratorio

- Láminas porta objetos
- Vasos de precipitación de 20, 50 y 100 mL
- Balde de 4ltrs
- Tamiz o coladeras
- Tela ceda
- Media nylon
- Palillo de brocheta
- Tubos de extracción (de microcentrífuga) de 5 ml estériles
- Pizetas
- Gradilla para tubos de 1.5 ml
- Mandil de laboratorio

- Papel toalla
- Marcadores para etiquetar tubos
- Pipeta plástica

Insumos y reactivos

- Agua con azúcar (sacarosa)800gr para 1lt de agua.

Equipos

- Refrigeradora
- Microscopio
- Balanza
- Centrifuga
- Barreno

9.5. Factores en estudio

Lotes

Lote 1

Lote 2

Lote 3

Lote 4

Profundidad

Profundidad 1= 5cm

Profundidad 2= 10cm

Profundidad 3= 15 cm

9.6. Diseño experimental

En el trabajo de investigación se realizó con una Estadística Descriptiva.

9.7. Colección y extracción de muestras.

9.7.1. Colección

Las muestras de suelo se realizaron con un barreno en el Campus Salache en el sistema Agroecológico en el lote de investigación, a diferentes profundidades de 5cm, 10cm y 15cm, se recolectó una muestra por cada profundidad.

Existen diferentes tipos de muestreo de suelo, pero con la bibliografía estudiada se realizó en forma de Zig-Zag para cubrir la mayor parte del lote.

9.7.1.1. Manejo de muestras

Cada muestra se etiquetó de la siguiente manera:

- a) N° de lote
- b) Lugar de la colecta
- c) Profundidad
- d) Fecha

Las muestras fueron trasladadas en una caja conservadora (Hielera), al laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales en el Campus Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

9.7.2. Extracción

Se utilizó el método de centrifugación según Agrocalidad (2020, pág. 8)

9.7.2.1. Procedimiento del método de centrifugación

Según (Agrocalidad, 2021), los pasos para extraer nematodos por el método de centrifugación son:

- Se homogenizó la muestra de suelo en una bandeja de plástico.
- En un vaso de precipitación tomar un volumen de 100 gr de una muestra representativa de suelo y colocarla en un balde 4 litros.
- Añadir 2 litros de agua y agitar por 1 minuto asegurándose de que todos los agregados de suelo se rompan.
- Esperar 30 segundos y filtrar el líquido en un tamiz de apertura de poro de 250 μ sobre otro tamiz de apertura de poro de 38 μ .

- Se realizó un lavado de tamiz superior con agua de llave sin retirar el tamiz inferior.
- Descartar los restos retenidos en el tamiz superior (250 μ).
- Con la ayuda de una espátula coleccionar el material retenido en el tamiz inferior (38 μ m) en un tubo falcom de 50 ml.
- Se programó la centrifuga a una velocidad de 200 gravedades con una aceleración de 1800 y una desaceleración de 1800. Centrifugar los tubos de la muestra durante 2 minutos.
- Descartar el sobrenadante de los tubos sin perturbar el sedimento.
- Añadir la solución azucarada (340g/l) al tubo con el sedimento hasta 1 cm bajo el borde del tubo y agitar con una espátula pequeña. Lavar la espátula después de cada uso.
- Centrifugar a una velocidad de 400 gravedades con una aceleración de 7 y desaceleración de 5. Centrifugar los tubos con la muestra durante 1 minuto.
- Filtrar el sobrenadante (que contiene a los nematodos) en un tamiz de 25 μ m sin perturbar el sedimento.
- Inmediatamente, lavar a los nematodos contenidos en el tamiz con la ayuda de una piseta por 30 segundos, para eliminar el exceso de la solución azucarada.
- Con ayuda de la piseta recuperar a los nematodos retenidos en el tamiz de 25 μ m en un tubo falcom de 50 ml. Aforar a un volumen final de agua de 20 ml.
- Agitar el extracto obtenido y tomar una alícuota de 5 ml para su posterior identificación y conteo de nematodos en base al Procedimiento para Recuento de nematodos PEE/N10

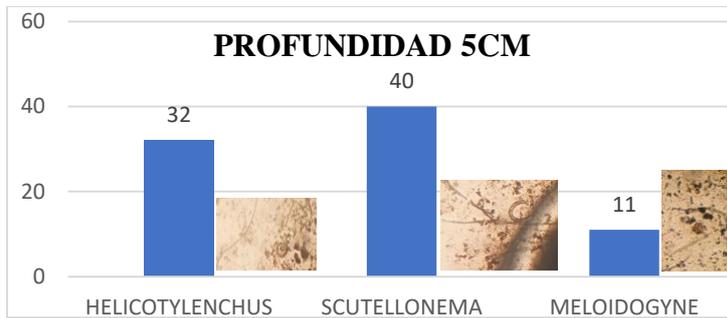
10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Número de nematodos a Profundidad de 5cm

2 Cuadro N°.1

Especie	Nºde nematodos
HELICOTYLENCHUS	32
SCUTELLONEMA	40
MELOIDOGYNE	11
TOTAL	83

Fuente: Villarroel, K. (2023)

Gráfico N° 1

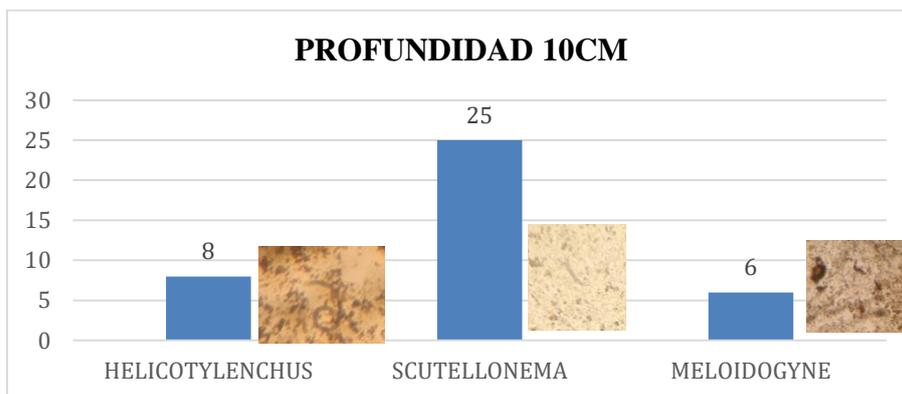
Fuente: Villarroel, K. (2023)

Según el cuadro N° 1 y el gráfico N°1 se indica que en el sistema agroecológico se encontró a la profundidad de 5cm un total de 83 nematodos los cuales se identificaron 3 especies tales como Scutellonema con una cantidad de 40 seguido de Helicotylenchus con 32 y por último Meloidogyne con 11.

Tabla 3 Cuadro N°.2

Especie	Nº de nematodos
HELICOTYLENCHUS	8
SCUTELLONEMA	25
MELOIDOGYNE	6
TOTAL	39

Fuente: Villarroel, K. (2023)

Gráfico N° 2

Fuente: Villarroel, K. (2023)

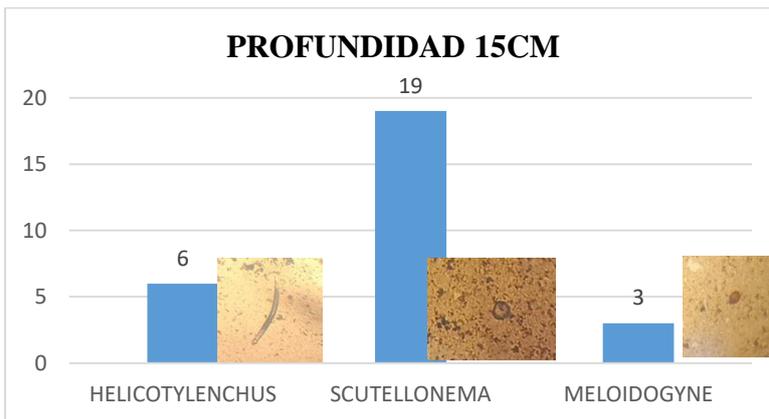
Según el cuadro N°2 y el Gráfico N°2 en el sistema agroecológico indica que en la profundidad de 10 cm existe un total de 39 nematodos de la especie Scutellonema con 25 individuos, Helicotylenchus con 9 nematodos y Meloidogyne con 6 nematodos.

Tabla 4 Cuadro N°3

Espece	N° de nematodos
HELICOTYLENCHUS	6
SCUTELLONEMA	19
MELOIDOGYNE	3
TOTAL	28

Fuente:Villarroel,K. (2023)

Gráfico N° 3



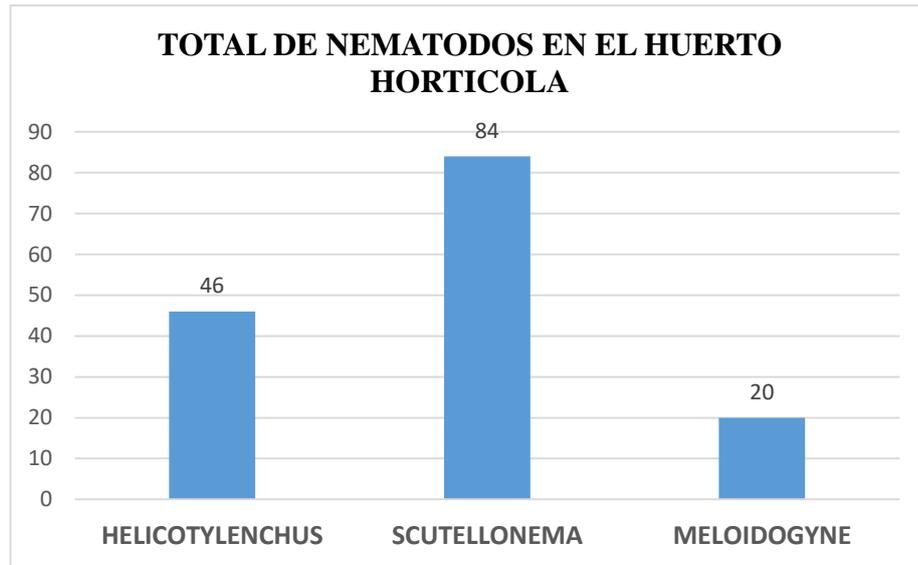
Fuente:Villarroel,K. (2023)

Según el cuadro y grafico N° 3 a profundidad de 15 cm en el sistema agroecológico se encontró un total de 28 nematodos de la especie Scutellonema con 10 nematodos, Helicotylenchus con 6 nematodos y Meloidogyne con 3 nematodos.

RESULTADOS FINALES

TOTAL DE NEMATODOS EN EL HUERTO HORTICOLA	
Espece	Cantidad de nematodos
HELICOTYLENCHUS	46
SCUTELLONEMA	84
MELOIDOGYNE	20
TOTAL	150

Fuente:Villarroel,K. (2023)



Fuente: Villarroel, K. (2023)

Total de nematodos en el huerto de acuerdo con las extracciones de suelo y las profundidades (5, 10 y 15 cm) se obtuvo un total de 150 nematodos en los cuatro lotes en donde se encontraron tres especies donde Scutellonema fue la de mayor cantidad con 84 seguido de Helicotylenchus y por último Meloidogyne.

11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

Técnico

Al incorporar materia orgánica permanente mente en los diferentes lotes del sistema agroforestal estamos planteando una alternativa menos dependiente de insumos externos.

El mejoramiento de la fertilidad del suelo con la incorporación de material vegetal aumenta la flora microbiana, permitiendo que haya un control biológico entre las diferentes especies de microorganismos.

SOCIAL

Estas investigaciones pueden servir para pequeños agricultores ya que tendrán una base para cultivar parcelas agroecológicas.

Económico

Según los resultados obtenidos y comprados en el sistema agroecológico que es una producción netamente orgánica, el suelo es sano fértil y por lo tanto la plusvalía con alta materia orgánica y biodiversidad se incrementa.

Comparando la diversidad de nematodos encontrados en la investigación con los cultivos presentes en el sistema agroecológico al no haber infección por los mismos toda la diversidad

de plantas que existen han crecido normalmente y sin ningún problema y por el tamaño y vigorosidad el costo de las plantas incrementa.

12. PRESUPUESTO DEL PROYECTO

OBJETIVO 1	ACTIVIDAD	MATERIAL NECESARIO	COSTOS
Identificar las especies de nematodos en el sistema Agroecológico.	Adquisición de materiales.	-Compra de un barreno -Caja de fundas ziploc -Marcador color negro -Hilera -3 Tamices (coladeras de acero inoxidable de 35 y 45, micras) -5 metros de tela ceda de 20 micras) -Media nylon -Balde plástico de 4 litros -Palos de brocheta	\$45 \$6,50 \$0,75 \$13,00 \$10,50 \$6,00 \$1.00 \$1.25
OBJETIVO 2	ACTIVIDAD	MATERIAL NECESARIO	COSTOS
Cuantificar la dinámica poblacional de los principales géneros de nematodos encontrados en el sistema agroecológico.	Extracción de muestras de nematodos. Identificación de especies.	-24cajas pequeñas plásticas -Tubos NUNC para centrifuga de 5 ml. -Caja de porta y cubre objetos	\$14,40 \$4,50 \$3,00
OBJETIVO 3	ACTIVIDAD	MATERIAL NECESARIO	COSTOS
Elaborar el protocolo de la identificación, cuantificación,	Presentar el bosquejo del protocolo.	-Fotocopias e impresiones	\$3,50

caracterización y la dinámica de la población de los nematodos en el sistema agroforestal			
			COSTO TOTAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN \$109.40

13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- De la investigación realizada se identificaron 3 especies de nematodos tales como *Scutellonema* spp, *Helycotilenchus* spp, y *Meloidogyne* spp.
- Se encontró las siguientes especies de nematodos con el siguiente número de individuos, tales como *Scutellonema* spp. con una cantidad de 84 nematodos, *Helycotilenchus* spp. con 46 y *Meloidogyne* spp. con 20 del total de nematodos observados.
- La especie preponderante es *Scutellonema* spp. con una cantidad de 84 nematodos con una profundidad de 5cm.
- Se elaboro un protocolo de acuerdo a las condiciones y realidades del Campus Salache.

RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones relacionadas al tema con suelos convencionales para evaluar en que sistema existe mayor índice de población de nematodos.
- Ejecutar investigaciones en diferentes métodos de extracción de nematodos para verificar cual de estos es más efectivo.

14. BIBLIOGRAFIA

Agrocalidad. (2021). Obtenido de Nematodos: <https://www.agricultura.gob.ec/agrocalidad/>

Brusca, J. (2005). Obtenido de Nematoda: <https://www.quimica.es/enciclopedia/Nematoda.html>

Fe, M. (2003). Obtenido de Nematodos parásitos de plantas en suelos agrícolas: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=631474>

Jorgelina. (2016). Obtenido de Nematodos Fitoparásitos: <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/nematodos-fitoparasitos#:~:text=Muchos%20nematodos%20viven%20libremente%20en,o%20parte%20de%20su%20vida.>

Lezaun. (2016). Nematodos Fitoparasitos. Bogota: CropLife Latin America.

Lezaun, J. (2016). Obtenido de Nematodos fitoparásitos: <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/nematodos-fitoparasitos#:~:text=Los%20nematodos%20est%C3%A1n%20definidos%20como,y%2035%20CE%BCm%20de%20ancho.>

López, L. &. (2005). Obtenido de Qué son los nematodos: características, clasificación y ejemplos: <https://www.ecologiaverde.com/que-son-los-nematodos-caracteristicas-clasificacion-y-ejemplos-2556.html>

Lumitos. (2018). Nematodos. Quimica.ec, 6-7.

Neval. (2018). Obtenido de Helicotylenchus spp.: <https://www.ne-val.com/helicotylenchus-spp/#:~:text=9%20septiembre%2C%202018-,Helicotylenchus%20spp.,fitopar%C3%A1sitos%2C%20adem%C3%A1s%20semi%20Dendopar%C3%A1sitos.>

Neval. (2018). Obtenido de Helicotylenchus spp.: <https://www.ne-val.com/helicotylenchus-spp/#:~:text=9%20septiembre%2C%202018-,Helicotylenchus%20spp.,fitopar%C3%A1sitos%2C%20adem%C3%A1s%20semi%20Dendopar%C3%A1sitos.>

Ortuño, N. (2005). Obtenido de Qué son los nematodos: características, clasificación y ejemplos: <https://www.ecologiaverde.com/que-son-los-nematodos-caracteristicas-clasificacion-y-ejemplos-2556.html>

- Paz. (2019). Anàlisis de nemàtodos del suelo. Innotec, 2.
- Pérez, M. (2018). Identificación de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de rosa (rosa sp), en el sector Lasso provincia de Cotopaxi. (TESIS DE INGENIERIA AGROPECUARIA). UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI, AMBATO. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28377/1/Tesis-198%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20579.pdf>
- Rocha, L. (2018). Obtenido de Identificacion de nematodos fitoparasitos: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28377/1/Tesis-198%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20579.pdf>
- Sarmiento, L. T. (2018). Obtenido de Qué son los nematodos: <https://www.ecologiaverde.com/que-son-los-nematodos-caracteristicas-clasificacion-y-ejemplos-2556.html>
- Solano, J. N. (2021). Obtenido de Nematodos: <https://enciclopediaebiologia.com/nematodos/>
- Universidad de Alicante. (2017). Nematodos. DCM, 1.
- Biotecnología, E. L. R. G. C. (2016, 14 enero). Nematodos, características y ejemplos. Animales y biología. <https://animalesbiologia.com/invertebrados/nematodos/nematodos-caracteristicas>
- L. (2020, 9 diciembre). Como Combatir Y Repeler Los Nematodos En El Huerto. La Huertina De Toni. <https://www.lahuertinadetoni.es/combatar-los-nematodos-huerto/>
- Nematología práctica. Una guía de campo y laboratorio. (s. f.). <http://chilorg.chil.me/post/nematologia-practica-una-guia-de-campo-y-laboratorio-328798>
- Solano, J. N. (2023, 31 enero). ¿Qué son los nematodos? - Características y ejemplos. Enciclopedia de Biología. <https://enciclopediaebiologia.com/nematodos/>
- Universidad Complutense de Madrid. (2013, 22 agosto). <https://www.ucm.es/data/cont/docs/465-2013-08-22-D5+NEMATODOS.pdf>
- (S/f). Repositorioinstitucional.mx. Recuperado el 1 de marzo de 2023, de <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/1746/1/NEMATODOS%20FI%20TOPATOGENOS.pdf>
- (S/f-b). Edu.co. Recuperado el 1 de marzo de 2023, de <https://virtual.uptc.edu.co/ova/fito/archivo/NEMATODOS.pdf>

Andrés, R., Serna, V., Adrián, Ó., Piedrahita, G., Villegas Estrada, B., & Zapata, J. C. (s/f). MANEJO INTEGRADO DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS EN ALMÁCIGOS DE PLÁTANO DOMINICO HARTÓN (Musa AAB SIMMONDS). Org.co. Recuperado el 1 de marzo de 2023, de <http://www.scielo.org.co/pdf/luaz/n39/n39a11.pdf>

Lara, R. (2019, 14 de marzo). Nematología. Portal de UAM Iztapalapa. <http://www2.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n48ne/nematodo.pdf>

(S/f-c). Juntadeandalucia.es. Recuperado el 1 de marzo de 2023, de https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/1337166340Los_Nemxtodos_Fitoparxsites.pdf

Navone, G. (2017, 8 de abril). Phylum Nematoda. SEDICI - Repositorio de la Universidad Nacional de La Plata. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/73987>

Villarroel, K. (2023).Obtenido de especies de nematodos.

Villarroel,K (2023). Obtenido de los nematodos.

Villarroel, K. (2023).Obtenido de Cantidad denematodos.

Villarroel, K. (2023).Obtenido de Resultados de los nematodos.

Villarroel, K. (2023).Obtenido de Sistema Agroecológico.

Villarroel, K. (2023).Obtenido del total de nematodos en el huerto.

15. ANEXOS

Anexo 1. Fotografías.

Imagen 1 Reconocimiento del lote agroecológico



Imagen 2 Método de Zig-Zag



Imagen 3 Toma de muestras con el barreno a diferentes profundidades 5cm,



Imagen 4 embolsado de las muestras de suelo obtenidas



Imagen 5 Sellado y etiquetado de muestras



Imagen 6 Transporte de muestras en una hielera al laboratorio.



Imagen 7 muestras colectadas

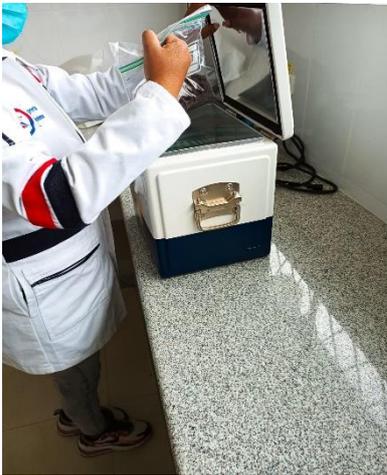


Imagen 8 Peso de 100 gr de muestra homogenizada





Imagen 9 Vaciar en un balde pequeño la muestra de suelo y agregar agua



Imagen 10 Homogenizar las muestras





Imagen 11 Con una piseta lavamos el sobrante del palillo



Imagen 12 Vaciar la muestra sobre una malla de dos tamices uno sobre otro.



Imagen13 Vaciamos el sobrante del tamiz a los tubos de centrifuga



Imagen 14 Preparamos solución de azúcar 340g/l.

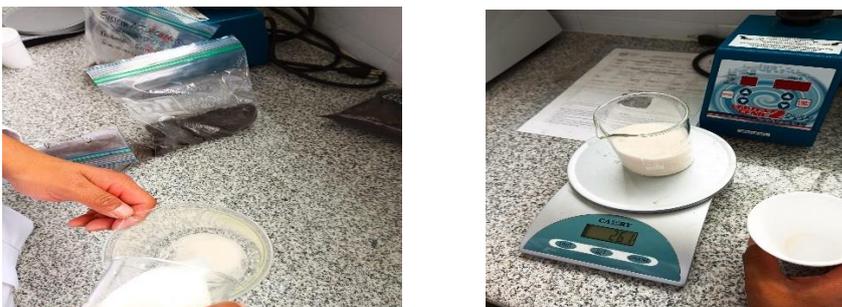




Imagen 15 envoltura de papel y uniformizar el peso de todos los tubos a la centrifuga



Imagen 16 centrifugar a 1800 revoluciones por dos minutos.



Imagen 17 sacar los tubos de la centrifuga y eliminar el agua con cuidado



Imagen 18 llenar los tubos con la solución azucarada



Imagen 19 centrifugar a 1800 revoluciones por 1 minuto 40.



Imagen 20 pasar cuidadosamente la muestra azucarada a las cajas cosmetiqueras de plástico.



Imagen 21 observar en el microscopio las muestras



Imagen 22 guía nematológica



Anexo 2. Protocolo de Identificación y Prospección de nematodos en el sistema Agroecológico en el Campus Salache, Cantón Latacunga, Provincia De Cotopaxi, 2022 – 2023.

1 Fase de campo.

1.1 Reconocimiento del lugar

Donde se realizó el proyecto de investigación Sistema Agroecológico

Ancho: 30m.

Largo: 38m.

Área total: 1140m²



1.2 Extracción de muestras

Las muestras de suelo se extrajeron con la ayuda de un barreno en el lote 1, lote 2, lote 3 y lote 4, en diferentes profundidades de 5cm, 10cm y 15cm, se recolectó una muestra compuesta por cada profundidad, la cantidad por muestra recolectada es de 1 kilo.

La recolección de muestras de suelo se realizó en zigzag planteado en el protocolo de muestreo de

1.3 Sellado y etiquetado.

Las muestras fueron puestas en fundas ziploc y etiquetadas dependiendo a la profundidad y el lote donde fueron extraídas, el suelo debe estar en su capacidad de campo (húmedo).





1.4 Transporte de muestras.

Las muestras fueron trasladadas en una caja conservadora para evitar el contacto directo del sol de esta manera se mantuvo una temperatura de 4° C.

Las muestras fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Agropecuarias y

2 Fase de laboratorio.

2.1 Ordenamiento

Una vez que tenemos las muestras presentes en el laboratorio se procede a separar por lotes



2.2 Pesado

Para este paso se utilizó una balanza analítica y un vaso de precipitación de 50ml se empleó un cantidad de 100g de suelo, este debe estar homogenizado y sin presencia de piedras o restos de material vegetal para poder extraer la mayor cantidad de nematodos y eludir dificultades.

Colocarla en un balde plástico con capacidad para 4 litros.

2.3 Mezcla

Añadir 2 litros de agua y agitar por 1 minuto asegurándose de que todos los agregados de suelo se rompan.



2.4 Tamizado

Esperar 30 segundos y filtrar el líquido en un tamiz o coladera de acero inoxidable poro a media 35 y 40 μ



2.5 Lavado del tamiz

Se realizó un lavado de tamiz superior con agua de llave sin retirar el tamiz inferior.



2.6 Recolección

Con la ayuda de una pipeta coleccionar el material retenido en el tamiz inferior (35 μ) en un tubo falcom de 50 ml.

2.7 Programación de centrifuga

Se programó la centrifuga a 1800 revoluciones. Centrifugar los tubos de la muestra durante 2 minutos.



2.8 Añadir la solución azucarada

Descartar el sobrenadante de los tubos sin perturbar el sedimento.

Añadir la solución azucarada (340g/l) al tubo con el sedimento hasta 1 cm bajo el borde del tubo y agitar con una pipeta pequeña. Lavar

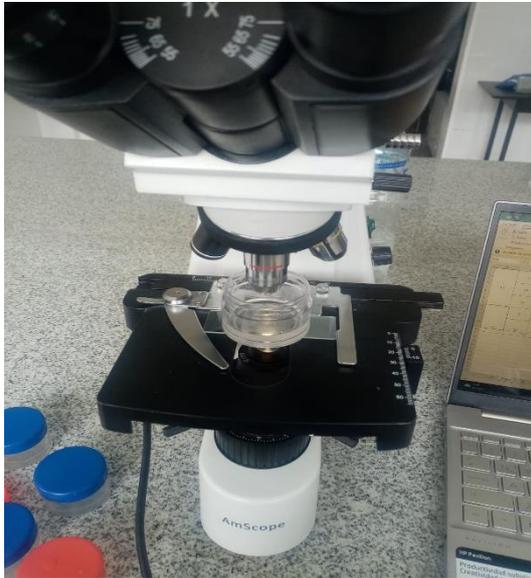
2.9 Programación de la centrifuga para la solución azucarada

Se programó la centrifuga a 1800 revoluciones

Centrifugar los tubos con la muestra durante 1:40 minuto.

Filtrar el sobrenadante (que contiene a los nematodos) en un tamiz de 35 μ sin perturbar el sedimento.





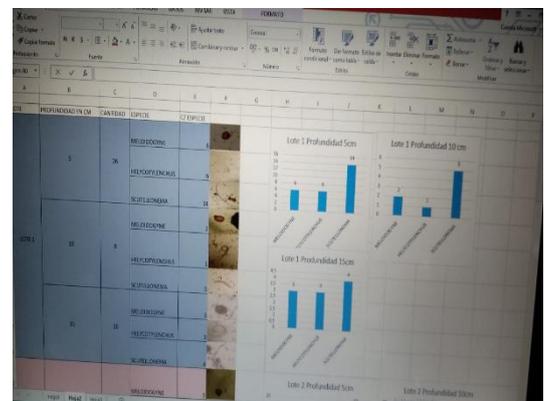
2.10 Identificación y cuantificación.

Agitar el extracto obtenido y tomar una alícuota de 5 ml para su posterior identificación y conteo de nematodos

Se basó en una guía nematológica manual para la identificación de acuerdo a su postura.

Se utilizó un microscopio con un lente de 40x para mayor eficacia.

Se tabulo los datos obtenidos en una matriz de Excel para cuantificar el número de individuos identificados.



Anexo 3. Aval del Traductor