

Universitat Autònoma de Barcelona
Servei de Biblioteques



1500488938



UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Facultat de Ciències

Departament de Biologia Animal, de Biologia Vegetal i d'Ecologia

**Los Nematodos Entomopatógenos (Rhabditida:
Steinernematidae y Heterorhabditidae) presentes
en Cataluña y su utilización para el Control
Biológico de Insectos**

**Fernando García del Pino
Septiembre de 1994.**



UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
Facultat de Ciències
Departament de Biologia Animal, de Biologia Vegetal i d'Ecologia

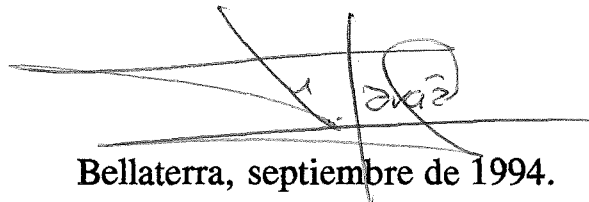
**Los Nematodos Entomopatógenos (Rhabditida:
Steinernematidae y Heterorhabditidae) presentes
en Cataluña y su utilización para el Control
Biológico de Insectos**

Fernando García del Pino
Septiembre de 1994.

Los Nematodos Entomopatógenos (Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae) presentes en Cataluña y su utilización para el Control Biológico de Insectos

Memoria presentada para la
obtención del Título de Doctor
en Ciencias Biológicas por:

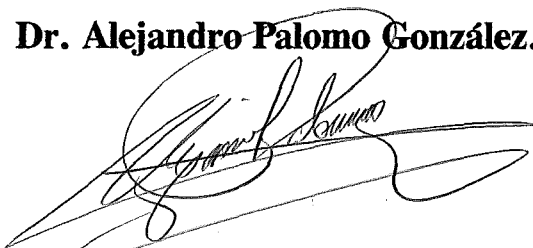
Fernando García del Pino.



Bellaterra, septiembre de 1994.

Director:

Dr. Alejandro Palomo González.



Profesor Titular.
Departamento de Biología Animal,
Biología Vegetal y Ecología.
Universidad Autónoma de Barcelona.

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por las ayudas concedidas por la "Fundació Caixa de Barcelona: Ajuts a la Recerca, 1988, Àmbit d'Ecologia i Medi Ambient y Ajuts a la Recerca, 1989, Àmbit d'Agricultura"

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que de una u otra forma me han ayudado a lo largo de estos años, y que, aunque parezca un tópico es sincero, sin su ayuda no hubiese sido posible la realización de esta tesis:

En primer lugar debo agradecer al Dr. Leopoldo Caltagirone de la Universidad de Berkeley, California (EEUU) el haberme sugerido el tema de la tesis, aunque nuestro encuentro fue muy breve, cambió el rumbo de mi investigación mostrándome una nueva línea de trabajo en el campo de los nematodos entomopatógenos. También debo agradecer al Dr. George O. Poinar de la misma universidad el haberme enviado las primeras cepas de nematodos entomopatógenos que tuve en mis manos y sus consejos iniciales que fueron tan importantes en aquellos momentos.

Un agradecimiento especial merece el director de la tesis, el Dr. Alejandro Palomo, que me ha ayudado en todo momento para que la tesis siguiera adelante. Es de agradecer trabajar con un director como Alejandro que además de sus cualidades científicas desborda humanidad y cordialidad.

No me puedo olvidar de los compañeros de la Secció Territorial de Barcelona del Servei de Protecció dels Vegetals de la Generalitat de Catalunya: Martí Casadevall que creyó en los nematodos entomopatógenos y supongo que también un poco en mí, Ricard Sorribes y Xavier Ferrer por su ayuda en los ensayos de campo, así como Joan Torrens y Salvador Durán por su ayuda en la recogida de material.

Mi agradecimiento al Cap del Servei de Protecció dels Vegetals, Sr. Josep María Vives, por su colaboración y al Sr. Carlos González, Cap del Laboratori Agrari de Cabrils, por permitir la realización, en el citado laboratorio, de los análisis edáficos de las muestras de suelos.

También quiero expresar mi mas sincero agradecimiento a Josep Bellavista, que durante su estancia como ADV del Baix Llobregat me ayudó en la recogida de las muestras en el Baix Llobregat, guiándome entre ese laberinto de campos por el cual es prácticamente imposible orientarse cuando no se conoce la zona.

Igualmente quiero expresar mi agradecimiento a todos los agricultores, muchos anónimos, otros conocidos, que me han permitido recoger muestras de suelo de sus campos. Muy especialmente a aquellos que, aunque encantados de colaborar, contemplaban como, mes tras mes, me llevaba una pequeña parte de su campo, que al fin y al cabo es una pequeña parte de sus vidas. Gracias a todos.

Agradezco a mis ex-compañeros y amigos del Departamento de Biología Animal de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona, la ayuda prestada para que pudiera continuar con el desarrollo de la tesis durante mi estancia en el citado departamento.

Un especial agradecimiento para el Dr. Ralf-Udo Ehlers que me ha ayudado a lo largo de todo el desarrollo de la tesis, contestando las numerosas dudas que surgían y enviándome cuanto material le he solicitado. Igualmente agradezco a su equipo del Laboratorio del Departamento de Biotecnología y Control Biológico de Ralsdorf (Alemania) su cordial acogida durante mi corta estancia en el citado laboratorio. Especialmente agradezco la ayuda y los comentarios taxonómicos de Bella Tallósi, así como la confirmación taxonómica del Dr. Dieter Sturhan de muchas de las especies identificadas en el presente estudio.

Al Dr. Peter Smits del IPO-WLO Wageningen (Holanda), la realización del análisis del polimorfismo de los fragmentos de ADN de las cepas de *Heterorhabditis*.

En la última fase de la realización de la tesis agradezco al Profesor Cándido Santiago Alvarez, las apasionadas discusiones que tuvimos en las largas noches de Hungría durante la revisión del manuscrito de la tesis. Esas discusiones me hicieron reflexionar sobre muchos aspectos que creo, han podido enriquecer de alguna forma el texto definitivo. Espero que, cada uno desde nuestra perspectiva, podamos seguir discutiendo allá donde nos encontremos.

Quiero agradecer al Servei de microscopía electrónica de la U.A.B. su siempre agradable disponibilidad para resolverme cualquier problema que tuviera con el microscopio electrónico.

Agradezco a Pilar y a Manolo del Departamento de Biología Animal de la U.A.B. que me han solucionado multitud de pequeños problemas que facilitan el trabajo diario.

Entre los agradecimientos no puedo olvidar la ayuda prestada por los compañeros y amigos que me rodean:

A Javi un gran amigo que ha colaborado en todo momento en casi todos los aspectos de esta tesis, y especialmente la estadística. Aunque yo siempre cuestionaba sus consejos, al final "casualmente" solían coincidir con "mi idea" para solucionar el problema, en fin... ¡para eso están los amigos !

A Joan y a Xim, hace tanto tiempo que ya casi no puedo recordar su colaboración específica en la realización de esta tesis (que seguro que la hubo) pero que, además de viejos compañeros de fatigas, siguen siendo dos buenos amigos y esto ya ayuda mucho.

A Valentín que siempre está dispuesto a echarme una mano (en aquello que le apetece) y últimamente me ha aguantado estoicamente cuando necesitaba conversación.

A cuantos amigos han escuchado pacientemente, entre copas, mis historias de nematodos que matan insectos, (especialmente a Gloria y Diego) y al sentirse interesados me han animado a continuar en este tema.

Finalmente quiero agradecer muy especialmente a mis padres que desde el primer momento me animaron a continuar en este, en ocasiones arduo pero apasionante, camino de la investigación.

Por último agradecer a Maite su constante apoyo, animándome en los momentos difíciles y compartiendo las alegrías. Igualmente, gracias por todo.

No me quiero olvidar de Mar, espero que algún día cuando tengas las dos tesis en tus manos y las leas, puedas comprender el porqué durante su realización no recibías toda la atención que te merecías.

A Maite, Mary

INDICE

1.- INTRODUCCION	1
1.1. NEMATODOS ENTOMOPARÁSITOS.	5
1.1.1. <u>Phaenopsitylenchidae.</u>	5
1.1.2. <u>Mermithidae.</u>	6
1.1.3. <u>Sphaerulariidae.</u>	7
1.1.4. <u>Tetradonematidae.</u>	7
1.1.5. <u>Iotonchiidae, Parasitylenchidae y Allantonematidae.</u>	8
1.1.6. <u>Presencia de nematodos entomoparásitos en la Península Ibérica.</u>	8
1.2. NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS.	13
1.2.1. <u>Steinernematidae y Heterorhabditidae.</u>	13
1.2.2. <u>Presencia de nematodos entomopatógenos en España.</u>	20
2.- OBJETIVOS GENERALES	21
3.- PRESENCIA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN CATALUÑA.	25
3.1. INTRODUCCIÓN.	27
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.	30
3.3. RESULTADOS.	37
3.3.1. <u>Eficacia del método de detección de los nematodos entomopatógenos.</u>	37
3.3.2. <u>Patron de distribución en la aparición de muestras con nematodos.</u>	39
3.3.3. <u>Aparición de nematodos en función de la estacionalidad.</u>	40
3.3.4. <u>Aparición de nematodos en función del hábitat.</u>	41
3.3.5. <u>Aparición de nematodos en función de la altitud.</u>	42
3.3.6. <u>Aparición de nematodos en función de la temperatura.</u>	45
3.3.7. <u>Aparición de nematodos en función de la pluviometría.</u>	48
3.3.8. <u>Interrelación de los factores ambientales en la aparición de nematodos.</u>	51
3.4. DISCUSIÓN.	54
4.- ASPECTOS ECOLÓGICOS DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELOS CULTIVADOS.	59
4.1. OCURRENCIA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELOS DE CULTIVOS HORTÍCOLAS.	61
4.1.1. <u>Introducción.</u>	61
4.1.2. <u>Materiales y Métodos.</u>	61
4.1.3. <u>Resultados.</u>	64
1) Estudio edáfico de las dos zonas muestreadas.	64

2) Aparición de nematodos entomopatógenos.	75
4.1.4. <u>Discusión.</u>	96
4.2. PERSISTENCIA DE POBLACIONES NATURALES DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELOS DE CULTIVOS HORTICOLAS.	101
4.2.1. <u>Introducción.</u>	101
4.2.2. <u>Materiales y Métodos.</u>	102
4.2.3. <u>Resultados.</u>	104
4.2.4. <u>Discusión.</u>	126
5.- ESTUDIO TAXONÓMICO DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS.	135
5.1. INTRODUCCIÓN.	137
5.1.1. <u>Familia Steinernematidae.</u>	137
1) Posición Taxonómica.	139
2) Descripción de la familia Steinernematidae.	140
3) Diagnósis.	141
5.1.2. <u>Familia Heterorhabditidae.</u>	148
1) Posición Taxonómica.	148
2) Descripción de la familia Heterorhabditidae.	149
3) Diagnósis.	150
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS.	153
5.2.1. <u>Material recogido.</u>	153
5.2.2. <u>Procesado de los nematodos.</u>	153
5.2.3. <u>Caracteres morfológicos estudiados.</u>	154
5.2.4. <u>Cruzamientos.</u>	158
5.2.5. <u>Análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción de ADN.</u>	160
5.3. RESULTADOS.	162
5.3.1. <u>Familia Steinernematidae.</u>	162
1) <i>Steinernema feltiae</i> .	162
A.- <u>Descripción.</u>	162
B.- <u>Estudio morfométrico de las cepas aisladas.</u>	167
2) <i>Steinernema carpocapsae</i> .	214
A.- <u>Descripción.</u>	214
B.- <u>Estudio morfométrico de las cepas aisladas.</u>	219
3) <i>Steinernema affinis</i> .	226
A.- <u>Descripción.</u>	226
4) <i>Steinernema intermedia</i> .	231
A.- <u>Descripción.</u>	231
B.- <u>Diagnósis.</u>	239
C.- <u>Estudio morfométrico de las cepas aisladas.</u>	239
5) <i>Steinernema</i> sp.	246
A.- <u>Descripción.</u>	246
B.- <u>Diagnósis.</u>	247
6) <i>Steinernema</i> sp. (n. sp.).	248
A.- <u>Descripción.</u>	248
B.- <u>Cruzamientos.</u>	258

C.- <u>Diagnosis.</u>	259
D.- <u>Estudio morfométrico de las cepas aisladas.</u>	260
7) <u>Estudio morfológico comparativo de las especies aisladas.</u>	265
A.- <u>Formas infectivas (L3).</u>	265
B.- <u>Machos.</u>	276
8) <u>Caracterización ecológica de las especies aisladas.</u>	287
9) <u>Conclusiones.</u>	290
5.3.2. <u>Familia Heterorhabditidae.</u>	293
1) <u>Descripción de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>.</u>	294
A.- <u>Machos.</u>	294
B.- <u>Formas infectivas.</u>	295
2) <u>Estudio de las cepas aisladas.</u>	300
A.- <u>Estudio morfométrico.</u>	300
B.- <u>Análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción de ADN.</u>	304
 6.- APLICABILIDAD DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATOGENOS EN EL CONTROL BIOLOGICO DE PLAGAS DE INSECTOS.	 307
6.1. ANTECEDENTES.	309
6.1.1. <u>Introducción.</u>	309
6.1.2. <u>Eficacia de los nematodos contra insectos del suelo.</u>	310
6.1.3. <u>Eficacia de los nematodos contra insectos de hábitats crípticos.</u>	315
6.1.4. <u>Eficacia contra insectos en la superficie de las hojas.</u>	319
6.1.5. <u>Eficacia contra insectos que se desarrollan en otros hábitats.</u>	320
 6.2. ENSAYOS REALIZADOS PARA LA UTILIZACIÓN DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE ALGUNOS INSECTOS QUE OCASIONAN PLAGAS.	 323
6.2.1. UTILIZACIÓN DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DEL TALADRO DE LA MADERA, <i>Zeuzera pyrina</i> L. (Lepidoptera: Cossidae).	325
1) <u>Introducción.</u>	325
2) <u>Antecedentes.</u>	326
3) <u>Material y Métodos.</u>	328
4) <u>Resultados y Discusión.</u>	329
 6.2.2. UTILIZACIÓN DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DEL TALADRO DE LA ALCACHOFA, <i>Gortyna xanthenes</i> (Germar.) (Lepidoptera: Noctuidae).	 331
1) <u>Introducción.</u>	331
2) <u>Material y Metodos.</u>	332
3) <u>Resultados.</u>	335
4) <u>Discusión.</u>	341

6.2.3. UTILIZACIÓN DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE LA POLILLA DEL PUERRO, <i>Acrolepiopsis assectella</i> Zeller. (Lepidoptera: Plutellidae).	345
1) Introducción.	345
2) Materiales y Métodos.	346
3) Resultados.	349
4) Discusión.	355
6.2.4. UTILIZACIÓN DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DEL GUSANO CABEZUDO, <i>Capnodis</i> <i>tenebrionis</i> L. (Coleoptera: Buprestidae).	359
6.2.4.1. Susceptibilidad de las larvas de últimos estadios de <i>Capnodis tenebrionis</i> L. al nematodo entomopatógeno <i>Steinernema feltiae</i> .	361
1) Introducción.	361
2) Materiales y Métodos.	361
3) Resultados.	362
6.2.4.2. Susceptibilidad de las larvas neonatas de <i>Capnodis</i> <i>tenebrionis</i> L. a diversos nematodos entomopatógenos.	364
1) Introducción.	364
2) Material y Métodos.	365
3) Resultados.	367
4) Discusión.	372
7.- CONCLUSIONES GENERALES.	377
8.- BIBLIOGRAFÍA.	383

" The nematodes, poor beasts, do not furnish hides, horns, tallow, or wool; they are not fit for food, nor do they produce anything fit for food; neither do they sing or amuse us in any way; nor are they ornamental - in fact, when they are displayed in museums the public votes them hideous. "

N. A. Cobb (1859-1932)

1.- INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

El estudio de la patología de los insectos ha estado desde siempre íntimamente relacionado con la búsqueda de métodos de control biológico de insectos que ocasionan plagas.

En este contexto, la nematología es una de las disciplinas que está emergiendo con más fuerza dentro de la patología de insectos. Este interés puede ser atribuible a los recientes éxitos conseguidos con la utilización de nematodos como método de control biológico para la lucha contra las plagas de insectos.

Se conocen un gran número de asociaciones entre nematodos e insectos que comprenden más de 30 familias de nematodos pertenecientes a ocho órdenes distintos, siete de la clase Secernentea: Rhabditida, Tylenchida, Aphelenchida, Strongylida, Oxyurida, Ascaridida, Spirurida, y el orden Mermithida perteneciente a la clase Adenophorea.

Sin embargo, no todos los **nematodos entomófilos** (del griego "entomo" = insecto, "-filo" = afinidad por; amante de) presentan una relación parasítica con los insectos (Kaya, 1993). Las relaciones simbióticas entre nematodos e insectos son muy amplias, abarcando desde la forensis hasta el parasitismo. Por ejemplo, el comensalismo, relación en la cual una especie es beneficiada pero la otra no obtiene ni perjuicio ni beneficio, es una de las asociaciones más comunes entre nematodos e insectos.

En contraste con el comensalismo, el parasitismo tiene efectos perjudiciales para el hospedador. En las relaciones parasíticas, los **nematodos entomoparásitos** pueden ser facultativos u obligados y utilizar al insecto como hospedador intermedio o definitivo.

Dentro de esta asociación parasítica entre nematodos e insectos, diferenciamos a aquellos nematodos propiamente parásitos, que viven y se alimentan a expensas de su hospedador, pudiendo producir diversos daños en el mismo y eventualmente provocar su muerte, de los **nematodos entomopatógenos** que presentan una relación simbiótica con microorganismos y que invariablemente generan una rápida septicemia letal al insecto parasitado (Kaya, 1993).

Estas diferencias entre los nematodos entomoparásitos y los entomopatógenos en cuanto a la forma de actuar frente al hospedador, ha

hecho que los primeros hayan sido utilizados en los programas de lucha contra plagas como clásicos agentes de control biológico de insectos, mientras que los nematodos entomopatógenos hayan sido usados como insecticidas biológicos.

El objetivo de esta introducción es mostrar los diversos grupos de nematodos entomoparásitos y entomopatógenos que pueden mostrar una potencialidad como agentes de control biológico de insectos para su utilización en la lucha contra plagas.

1.1 NEMATODOS ENTOMOPARÁSITOS.

Existen numerosos casos de parasitismo de nematodos en insectos abarcando casi la totalidad de los órdenes de insectos. Como ya hemos comentado, este parasitismo puede ser facultativo u obligado y el insecto puede ser el hospedador definitivo o un hospedador intermedio.

En algunos casos el parasitismo puede provocar únicamente un pequeño daño o un perjuicio casi imperceptible sobre el insecto parasitado. En otras ocasiones puede provocar una reducción significativa de la fecundidad o incluso provocar la esterilidad del insecto, reducir su longevidad, disminuir la actividad de vuelo o retrasar su desarrollo. También pueden existir otras aberraciones comportamentales, fisiológicas o morfológicas que pueden causar la muerte del insecto.

Entre las más de 30 familias de nematodos asociados de alguna manera con insectos, las familias: Rhabditidae, Carbonematidae, Syrphonematidae, Oxyuridae, Thelastomatidae, Diplogasteridae, Aphelenchoididae, Entaphelenchidae y Fergusobiidae, contienen especies que parasitan insectos pero que por su baja virulencia no se pueden considerar como posibles agentes de control biológico de plagas de insectos. Únicamente siete familias de nematodos entomoparásitos han sido consideradas para su utilización en el control biológico de insectos: Phaenopsitylenchidae, Mermithidae, Sphaerulariidae, Tetradonematidae, Iotonchiidae, Parascitylenchidae y Allantonematidae.

1.1.1. Phaenopsitylenchidae.

Esta familia de tilénquidos incluida dentro de la superfamilia Sphaerulrioidea se caracteriza por la alternancia de una generación parasítica heterosexual y una o más generaciones libres heterosexuales o partenogénicas (Remillet y Laumond, 1991).

La especie *Beddingia* (= *Deladenus*) *siricidicola* ha sido utilizada en el control de la avispa de la madera *Sirex noctilio* en Australia (Haugen y Underdown, 1990).

Durante la generación libre de esta especie, se alimenta de los micelios del hongo *Amylostereum areolatum*, que son también la fuente de

alimento de la avispa *S. noctilio*. En la generación parasítica las hembras fecundadas del nematodo penetran en el interior del insecto, provocando la esterilidad del mismo. Cuando el insecto comienza la oviposición, deposita las formas juveniles del nematodo que ocupaban su sistema reproductor, actuando así como agente dispersivo del nematodo.

1.1.2. Mermithidae.

Los nematodos mermítidos producen invariablemente la muerte del hospedador, y este hecho ha suscitado su interés en el control biológico de insectos.

Dos especies de mermítidos han sido utilizadas en el control biológico de plagas de insectos; *Romanomermis culicivorax*, parásito de las larvas de mosquitos (Petersen, 1984) y *Filipjevimermis* (= *Oesophagomermis*) *leipsandra*, parásito de las larvas del coleóptero *Diabrotica balteata* (Creighton y Fassuliotis, 1981).

El ciclo biológico de la mayor parte de las especies de mermítidos se inicia con la emergencia del huevo de un segundo estadio juvenil preparasítico que es el encargado de buscar al insecto hospedador. Una vez ha encontrado el hospedador, el nematodo penetra a través de la cutícula, gracias al estilete que poseen, hasta el hemocele donde se produce la absorción de los nutrientes directamente a través de la cutícula del nematodo. Generalmente la forma parasítica permanece libre por el hemocele, aunque en algunas especies el nematodo penetra en el cerebro o los ganglios nerviosos del hospedador. Cuando se completa la fase parasítica, el nematodo emerge del hospedador a través de la cutícula y comienza su estado libre. La muerte del insecto se produce rápidamente después de la salida del nematodo debido al orificio producido durante su emergencia. El estado postparasítico del nematodo penetra en el suelo (en los mermítidos terrestres) o en el sedimento (en los mermítidos acuáticos), madura, se reproducen y deposita los huevos en el medio, completando así su ciclo biológico.

1.1.3. Sphaerulariidae.

Los nematodos de la familia Sphaerulariidae presentan un ciclo biológico simple con una única generación heterosexual. Morfológicamente se caracterizan por poseer un útero hipertrofiado que generalmente emerge por fuera de su cuerpo. Los nematodos de esta familia raramente matan a su hospedador, pero con mucha frecuencia causan su esterilidad, reducen su fecundidad, retrasan su desarrollo y/o alteran su comportamiento.

Los nematodos de esta familia han sido utilizados en el control de dípteros esciáridos (Sciaridae) en invernaderos y cuevas de cultivo de champiñones (Poinar, 1979).

1.1.4. Tetradonematidae.

Esta familia de nematodos perteneciente al orden Mermithida presenta unas características similares a la familia Mermithidae descrita anteriormente.

Se describieron como parásitos de dípteros (esciáridos), coleópteros (curculiónidos) e himenópteros (formícidos).

La biología de esta familia de nematodos es poco conocida. Presentan un ciclo biológico similar a la familia Mermitidae, pero en esta familia Tetradonematidae, tanto las larvas del nematodo como los adultos se encuentran en el interior del insecto que parasitan. La muerte del hospedador se produce a causa del orificio realizado por las hembras del nematodo durante su salida del hospedador para realizar la oviposición en el suelo (Ferris y Ferris, 1966).

La utilización de esta familia en el control biológico de insectos se limita únicamente a la utilización del nematodo *Tetradonema plicans* en el control del esciárido *Bradysia paupera*, en invernaderos.

1.1.5. Iotonchiidae, Parasytlenchidae y Allantonematidae.

Muchas especies de estas familias no han sido utilizadas en el control biológico de plagas de insectos debido a que poseen ciclos biológicos muy complicados y son difíciles de cultivar y de mantener en el laboratorio (Poinar, 1979).

El nematodo *Paraiotonchium* (= *Heterotylenchus*) *autumnale*, representa un ejemplo de este grupo de nematodos, y su utilización como agente de control biológico del díptero *Musca autumnalis* ha sido evaluada por Kaya y Moon (1978) y Nickle y Welch (1984).

Su complejo ciclo biológico incluye una alternancia de generaciones gametogenéticas y partenogenéticas dentro del hospedador.

El parasitismo de este nematodo provoca la esterilidad de las hembras del díptero, que actúan como agentes dispersantes del nematodo ya que producen una "nemaposición" de las pequeñas larvas del nematodo.

1.1.6. Presencia de nematodos entomoparásitos en la Península Ibérica.

Los trabajos realizados en la Península Ibérica sobre la presencia de nematodos parásitos de insectos son muy escasos. En la tabla 1.1 se muestra una relación de los nematodos citados en la Península, así como de los hospedadores en que fueron encontrados.

Debido al interés medico-veterinario, existen un mayor número de citas de nematodos que utilizan a insectos como hospedadores intermedios y al hombre o animales domésticos como hospedadores definitivos. En la tabla 1.2 se muestra una recopilación de todos estos nematodos citados en la Península Ibérica.

Tabla 1.1. Nematodos parásitos de insectos encontrados en la Península Ibérica.

NEMATODO	HOSPEDADOR		DISTRIBUCIÓN	REFERENCIA
	ORDEN	ESPECIE		
Or. Oxyurida				
Fam. Aoruridae				
<i>Hammerschmidtella neyrai</i>	Dictioptera	<i>Blatta orientalis</i>	Granada	Serrano Sanchez, 1945, 1947
<i>Leidynema appendiculata</i>	Dictioptera	<i>Blatta orientalis</i>	Córdoba, Huelva, Valencia, Valladolid	Serrano Sanchez, 1947
Fam. Thelastomatidae				
<i>Binema (Binema) hispanica</i>	Orthoptera	<i>Gryllotalpa europaeus</i>	Granada	Serrano Sanchez, 1947
<i>Binema (Binema) medinae</i>	Orthoptera	<i>Gryllotalpa europaeus</i>	Granada, Valencia	Serrano Sanchez, 1947
<i>Binema (Ornata) carmeloi</i>	Orthoptera	<i>Gryllotalpa europaeus</i>	Granada	Serrano Sanchez, 1947
<i>Binema (Ornata) ornata</i>	Orthoptera	<i>Gryllotalpa europaeus</i>	Granada, Valencia	Serrano Sanchez, 1947
<i>Binema (Ornata) techae</i>	Orthoptera	<i>Gryllotalpa europaeus</i>	Girona, Granada, Valencia	Serrano Sanchez, 1947
<i>Neyraiella neyrai</i>	Orthoptera	<i>Gryllotalpa europaeus</i>	Granada, Valencia	Serrano Sanchez, 1947

Tabla 1.1. (continuación).

NEMATODO	HOSPEDADOR	DISTRIBUCIÓN	REFERENCIA
ORDEN	ESPECIE		
Or. Rhabditida			
Diplogasterinae (larvas)	Coleoptera	Barcelona y Pirineos orientales en general	Theodorides, 1949
		<i>Geotrupes spp.</i> <i>Typhaeus spp.</i>	
Or. Mermithida			
Mermithidae	Hymenoptera	<i>Pheidole pallidula</i>	Tinaut y Jimenez, 1980
<i>Paramermis contorta</i>	Diptera	<i>Chironomus spp.</i>	Comas Camps, 1928
<i>Mermis nigrescens</i>	Orthoptera	<i>Dociostaurus maroccanus</i>	Benlloch, 1949
<i>Hexamermis serenensis</i>	Orthoptera	<i>D. maroccanus</i>	Hernandez Crespo y Santiago Alvarez, 1991,
			Hernandez Crespo, 1993
<i>Hexamermis sp.</i>	Lepidoptera	<i>Ocnogyna baetica</i>	Lipa et al. 1993

Tabla 1.2. Nematodos encontrados en la Península Ibérica que utilizan insectos como hospedador intermedio.

NEMATODO ESPECIE	HOSPED. ORDEN	INTERMEDIO ESPECIE	HOSP. DEFINITIVO	REFERENCIAS
<i>Spirura rhypleurites</i>	Dictpoptera	<i>Blatta orientalis</i>	Gato y perro	López Neyra, 1947, 1955
<i>Ascarops strongylina</i>	Coleoptera	<i>Geotrupes pyrenaicus</i> <i>G. stercorarius</i>	Cerdo	Theodorides, 1949.
<i>Physocephalus sexalatus</i>	Coleoptera	<i>Geotrupes pyrenaicus</i> <i>G. stercorarius</i>	Cerdo y jabalí	Theodorides, 1949.
<i>Pterygodermatites</i> <i>hispanica</i>	Orthoptera	<i>Locusta migratoria</i>	Ratón (<i>Apodemus sylvaticus</i>)	Quentin, 1973
<i>Dipetalonema reconditum</i>	Anoplura	<i>Haematopinus</i> sp.	Perro	López Neyra, 1955
<i>Dipetalonema reconditum</i>	Siphonaptera	<i>Ctenocephalides</i> sp.	Perro	López Neyra, 1955
<i>Dirofilaria immitis</i>	Siphonaptera	<i>Ctenocephalides</i> sp.	Perro	López Neyra, 1947
<i>Dirofilaria repens</i>	Siphonaptera	<i>Ctenocephalides</i> sp.	Perro y hombre	López Neyra, 1953

Tabla 1.2. (continuación).

NEMATODO ESPECIE	HOSP. ORDEN	INTERMEDIO ESPECIE	HOSP. DEFINITIVO	REFERENCIAS
<i>Habronema microstoma</i>	Diptera	<i>Stomoxys calcitrans</i>	Equinos	López Neyra, 1947
<i>Setaria cervi</i>	Diptera	<i>Stomoxys calcitrans</i>	Vaca	Pijuán Jiménez, 1948
<i>Thelazia rhodesii</i>	Diptera	<i>Musca corvina</i>	Vaca	López Neyra, 1947
<i>Habronema megastoma</i>	Diptera	<i>Musca domestica</i>	Equinos	Arroyo Martín, 1927
<i>Habronema muscae</i>	Diptera	<i>Musca domestica</i>	Equinos	Paredes, 1936
<i>Dirofilaria immitis</i>	Diptera	<i>Aedes spp.</i>	Perro	López Neyra, 1947
<i>Dirofilaria repens</i>	Diptera	<i>Anopheles sp.</i>	Perro y hombre	López Neyra, 1953
<i>Dipetalonema reconditum</i>	Diptera	<i>Culex sp.</i>	Perro	López Neyra, 1955
<i>Onchocerca cervicalis</i>	Diptera	<i>Culicoides spp.</i>	Equinos	Salerno, 1950
<i>Onchocerca linealis</i>	Diptera	<i>Simulium sp.</i>	Vaca	López Neyra, 1947

1.2. NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS

Dentro de esta denominación únicamente se incluyen los nematodos pertenecientes a dos familias de rhabdítidos; la familia Steinernematidae y la familia Heterorhabditidae.

1.2.1 Steinernematidae y Heterorhabditidae.

Los nematodos entomopatógenos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* presentan una relación simbiótica con bacterias del género *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* (Enterobacteriaceae) respectivamente (Thomas y Poinar, 1979; Boemare et al. 1993). Cada especie de nematodo de la familia Steinernematidae presenta una asociación natural con sólo una especie de *Xenorhabdus* (Akhurst y Boemare, 1988, 1990), aunque una especie de *Xenorhabdus* puede estar asociada con más de una especie de nematodo. Todos los nematodos de la familia Heterorhabditidae tienen a la bacteria *Photorhabdus luminescens* como simbionte, pero esta especie está compuesta por varios grupos con ciertas diferencias en su ADN, los cuales podrían también estar considerados como especies separadas (Smits y Ehlers, 1991).

Las formas infectivas de estos nematodos, que corresponde a un tercer estadio larvario con doble cutícula (encerrado en la cutícula del segundo estadio), es la única fase del ciclo biológico del nematodo que se encuentra fuera del insecto. Este estadio infectivo, llamado en ocasiones "larvas dauer", transporta la bacteria simbionte en su intestino, y es el estadio encargado de sobrevivir en el medio hasta que localiza un nuevo hospedador. En este estado el nematodo no se alimenta, posee la boca y el ano cerrado y sobrevive de las reservas acumuladas antes de su salida del cadáver del insecto donde se encontraba.

La localización del hospedador se produce de forma activa como respuesta a diversos estímulos físicos y químicos generados por el insecto, entre los que destacan los gradientes de temperatura, CO₂, y de diferentes productos de excreción de los insectos (Schmidt y All, 1978, 1979; Burman y Pye, 1980a, 1980b; Gaugler et al., 1980; Pye y Burman, 1981; Byers y Poinar, 1982).

Una vez el nematodo ha localizado al insecto, debe penetrar en su interior a través de las aberturas naturales (boca, ano y espiráculos) (Ishibashi y Kondo, 1990; Poinar, 1990) o también a través de la cutícula en el caso de los heterorhabdítidos (Bedding y Molyneux, 1982), penetrando posteriormente al interior del hemocele. Cuando el nematodo ha alcanzado el hemocele, se produce la liberación, a través del ano, de la bacteria que llevaba en su tubo digestivo. La bacteria comienza a multiplicarse y mata rápidamente al insecto por una septicemia. En el inicio de la infección de la bacteria, ésta recibe la ayuda de productos de excreción del nematodo que reprimen el sistema inmunitario del insecto, inhibiendo la acción de enzimas antibacterianos (Götz et al., 1981; Dunphy y Thurston, 1990), lo que permite su rápida multiplicación. Posteriormente la bacteria produce antibióticos para inhibir el crecimiento de otros microorganismos en el cadáver del insecto (Akhurst, 1982a). El nematodo se encuentra así en condiciones de establecerse en un cultivo monoxénico de su bacteria simbiote en el interior del cadáver del insecto. A partir de este momento y a través de la acción de los enzimas proteolíticos liberados por la bacteria, se produce la destrucción total de las estructuras internas del insecto, lo que proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo del nematodo (Akhurst, 1982b ; Gerritse et al., 1992).

Como vemos la relación entre el nematodo y la bacteria se enmarca dentro de una clásica relación mutualística. En la naturaleza, ni la bacteria ni el nematodo pueden sobrevivir independientemente.

La bacteria se beneficia de esta relación al ser protegida y transportada en el interior del intestino estéril del nematodo que actúa como vector de la misma. El nematodo también proporciona a la bacteria una ventaja competitiva frente a otros microorganismos, al liberar inhibidores del sistema inmunitario del insecto.

El nematodo se beneficia de esta relación, ya que la bacteria se propaga por el interior del hospedador, causando una rápida septicemia letal para el insecto, y convierte los tejidos del mismo en nutrientes aprovechables por el nematodo para ser usados como fuente de alimento. La bacteria también protege estos nutrientes en el cadáver del insecto contra la invasión de microorganismos secundarios, produciendo antibióticos con un amplio rango de actividad.

Una vez comienza el desarrollo de los nematodos en el interior del insecto, las dos familias de nematodos entomopatógenos presentan ciertas diferencias en cuanto a su ciclo biológico (fig. 1.1).

En el caso de los steinernemátidos, los nematodos que penetran en el insecto dan lugar a una primera generación de adultos "gigantes" de sexos separados que se reproducen y, en función de la cantidad de alimento disponible, dan lugar a una o más generaciones de menor tamaño. Cuando comienzan a disminuir los recursos alimenticios se produce el desarrollo de nuevas formas infectivas que saldrán del interior del cadáver del insecto para buscar un nuevo hospedador. En el caso de los heterorhabdítidos, los nematodos que penetran en el hospedador producen invariablemente una primera generación de hembras hermafroditas que darán lugar a una o más generaciones de sexos separados, hasta que disminuyen los recursos alimenticios. En ese momento, y al igual que ocurría en el caso de los steinernemátidos, se produce el desarrollo de las nuevas formas infectivas que saldrán del interior del cadáver del insecto para buscar un nuevo hospedador, cerrando así su ciclo biológico.

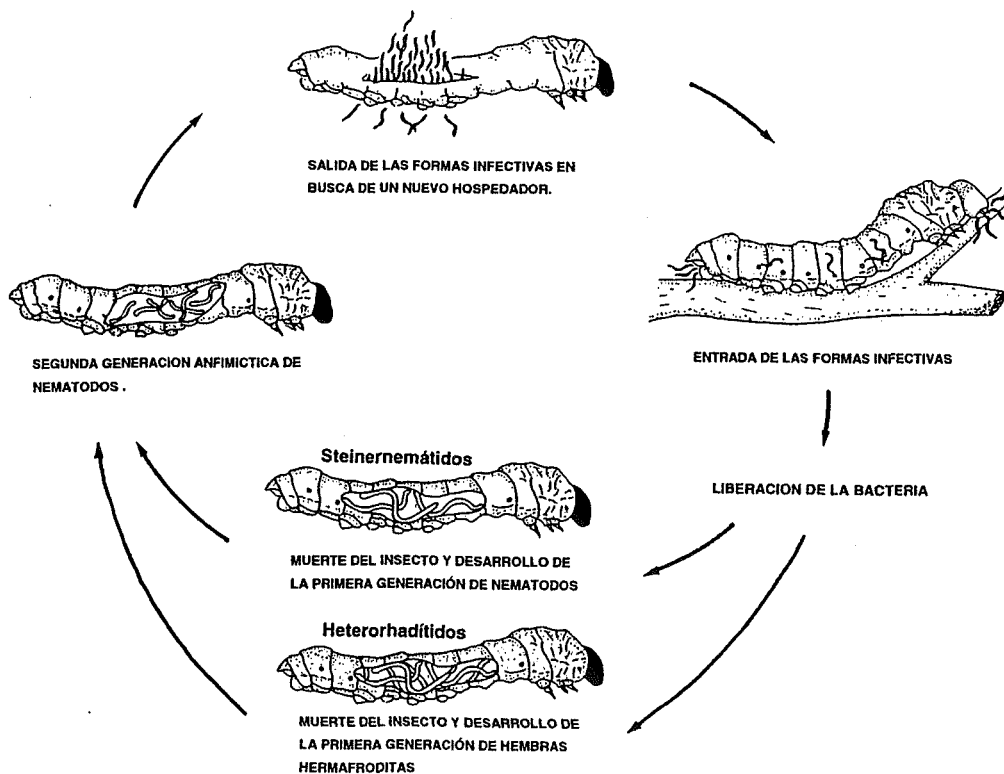


Figura 1.1. Ciclo biológico de los steinernemátidos y los heterorhabdítidos.

Estas diferentes estrategias reproductivas de las dos familias de nematodos entomopatógenos hace que los steinernemátidos requieran para su reproducción la entrada en el hospedador de una forma juvenil macho y otra hembra. No obstante, para matar al hospedador sólo es necesaria la entrada de una forma infectiva, que iniciará la infección bacteriana aunque no pueda reproducirse. Por otro lado los heterorhabdítidos únicamente necesitan la entrada de una forma infectiva que provocará la muerte del insecto y se desarrollará en una hembra hermafrodita iniciando así su reproducción en el interior del hospedador.

A temperatura ambiente, el ciclo biológico de la mayor parte de los steinernemátidos, desde la infección a la emergencia de nuevas formas infectivas, varía de 7-10 días, y de 12-15 días para los heterorhabdítidos.

Los insectos parasitados por nematodos presentan una apariencia flácida. No poseen un olor pútrido debido a que los antibióticos producidos por la bacteria asociada impiden el crecimiento de otros microorganismos descomponedores.

Los cadáveres de insectos en donde se están desarrollando los nematodos steinernemátidos presentan un color ocre, amarillo-marrón o negro, mientras que en los que se desarrollan heterorhabdítidos el color es rojo, púrpura, anaranjado o en ocasiones verde. En la oscuridad, los insectos infectados por heterorhabdítidos, presentan luminiscencia debido a la bacteria simbiótica *Photorhabdus luminescens*.

En la tabla 1.3. podemos observar sintetizadas las diferencias más importantes entre los nematodos steinernemátidos y heterorhabdítidos.

Tabla 1.3. Algunas características diferenciadoras entre los steinernemátidos y los heterorhabdítidos.

Características	Steinernemátidos	Heterorhabdítidos
• Retención de la cutícula del segundo estadio larvario.	La pierden fácilmente.	Buena retención.
• Cutícula del segundo estadio visible alrededor del estadio infectivo.	Cuando está presente, es fácil de ver al estar holgadamente alrededor de la forma infectiva.	Muy ajustada alrededor de la forma infectiva, difícil de ver.
• Modo de infección de las formas infectivas	A través de las aberturas naturales (boca, ano, o espiráculos).	A través de las aberturas naturales y atravesando el tegumento.
• Localización de las bacterias en las formas infectivas.	Primariamente en una porción ventricular del intestino.	Primariamente por todo el intestino.
• Luminiscencia de la bacteria simbiótica.	No.	Sí.
• Coloración de los insectos infectados.	Ocre, beige, o negro.	Rojo, pero también verde, anaranjado o púrpura.
• Desarrollo de las formas infectivas en adultos.	Machos o hembras.	Hembras hermafroditas.
• Reproducción.	Sexual (anfimíctica), todas las generaciones.	Hermafrodita la primera generación y anfimíctica las siguientes generaciones.
• Presencia de bursa en los machos.	No.	Sí.

La potencialidad de los nematodos para su utilización en el control biológico de plagas de insectos ha venido precedida por la amplia susceptibilidad de un gran número de insectos a estos nematodos.

Bajo condiciones de laboratorio, los steinernemátidos y heterorhabdítidos pueden considerarse como patógenos generalistas (Klein, 1990) capaces de matar a una gran diversidad de especies de insectos y otros artrópodos (Poinar, 1979, 1986). Sin embargo, los ensayos de laboratorio para determinar el rango de hospedadores de los nematodos son artificiales, ya que en muchos casos se modifican las barreras ecológicas y comportamentales que determinan la infectabilidad.

En algunas ocasiones la infectabilidad de los nematodos puede venir limitada por aspectos morfológicos del propio hospedador (filtros sobre los espiráculos, gruesas membranas peritróficas, etc.) (Forschler y Gardner, 1991), comportamentales (rápido movimiento del alimento a través del intestino, comportamiento de aseo, etc.) (Akhurst, 1986), y mecanismos fisiológicos (encapsulación de los nematodos, sustancias antibacterianas, etc.) (Dunphy y Thurston, 1990).

A pesar de estas limitaciones puntuales, podemos seguir manteniendo que los nematodos poseen un amplio rango de posibles insectos hospedadores.

En la tabla 1.4 se muestran las características más destacables que han hecho que los nematodos entomopatógenos estén considerados como un excelente agente de control biológico de insectos.

Tabla 1.4. Atributos positivos y negativos de los nematodos entomopatógenos para su utilización como agentes de control biológico de insectos.

Positivos	Negativos
<ul style="list-style-type: none"> • Amplio rango de hospedadores. • Inocuo para los vertebrados, plantas y otros organismos; no se conocen efectos negativos sobre el medio ambiente. • Están exentos de registro en EEUU y otros muchos países. • Se producen fácilmente <i>in vitro</i>. • Se aplican fácilmente con los equipos convencionales de aplicación de productos fitosanitarios. 	<ul style="list-style-type: none"> • Amplio rango de hospedadores. • Son bastante susceptibles a las condiciones ambientales; requieren humedad, y son sensibles a la temperatura y la radiación ultravioleta. • Las formulaciones actuales presentan algunos problemas de almacenaje a largo plazo. • En ocasiones presentan una persistencia en campo baja. • Por el momento poseen un "precio" más elevado que los productos químicos (sin considerar el "precio ecológico" de estos últimos).
<ul style="list-style-type: none"> • Poseen la capacidad de buscar al hospedador. • Presentan una gran eficacia contra algunos insectos que se desarrollan en el suelo. • Mata al hospedador rápidamente (dentro de las 48 horas). • Poseen la capacidad de reciclarse sobre los insectos que se encuentran en el medio. • Son compatibles con otros productos fitosanitarios. • Son susceptibles de selección genética para potenciar características deseables como la búsqueda del hospedador. 	<ul style="list-style-type: none"> • Son susceptibles a la acción de sus antagonistas (ácaros, colémbolos, nematodos, hongos, bacterias, virus)

1.2.2. Presencia de nematodos entomopatógenos en España.

En el momento de iniciarse el presente estudio no existía en España ningún trabajo sobre los nematodos entomopatógenos, ni se había detectado su presencia en la Península Ibérica.

Posteriormente, y en algunas ocasiones de forma paralela o colateral al presente estudio, han visto la luz diversos trabajos sobre la presencia de nematodos entomopatógenos en la Península e Islas Canarias. Sin embargo los datos sobre la presencia de los nematodos entomopatógenos en España siguen siendo muy escasos, y más aún los que se refieren a aspectos de su biología, ecología y aplicabilidad.

Los primeros estudios sobre nematodos entomopatógenos en España se refieren a los trabajos realizados por García del Pino (1988) sobre su utilización para el control biológico de *Gortyna xanthenes* (Germar) y el aislamiento en el campo de una cepa de *Steinernema feltiae* infectando una larva del gusano cabezudo, *Capnodis tenebrionis*.

Posteriormente Caballero et al. (1989) detectan la presencia en el campo de dos cepas de *Steinernema* sp. infectando larvas de *Agrotis segetum* y *Agrotis ipsilon* en un estudio sobre la presencia de "gusanos grises" y sus patógenos asociados en Andalucía y Extremadura.

Nogueroles et al. (1992) determinan la presencia en Tenerife de diversas cepas de *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema feltiae*, así como de algunas especies no descritas del género *Steinernema*.

Doucet y Gabarra (en prensa) aislaron nematodos de las especies *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema glaseri* en suelos de la localidad de Cabrils (Maresme).

Más recientemente García del Pino y Palomo (en preparación), en un muestreo realizado en diversas plantaciones de cerezo de la provincia de Salamanca, detectan la presencia de *Steinernema feltiae* y *Steinernema anomali*, siendo esta última especie la primera vez que ha sido encontrada fuera de su localidad tipo (Voronez, Rusia) (Kozodoi, 1984).

El presente trabajo pretende abordar de forma más global el estudio de los nematodos entomopatógenos, abarcando aspectos de distribución, ecología, taxonomía y aplicabilidad.

2.- OBJETIVOS GENERALES

Considerando el total desconocimiento que se tiene de los nematodos entomopatógenos en España, el objetivo general de este trabajo es llenar el gran vacío existente sobre el tema, mediante el estudio de los nematodos presentes en Cataluña.

Para alcanzar este objetivo general, se afrontan los siguientes objetivos concretos:

- 1.- Estimar la importancia de la presencia de los nematodos entomopatógenos en Cataluña, y evaluar su aparición en función de la situación geográfica, las condiciones climáticas y el tipo de hábitat analizado (cultivo, prado y bosque).
- 2.- Analizar los factores edáficos, climáticos y culturales que determinan la presencia y persistencia de los nematodos entomopatógenos en los suelos de cultivos.
- 3.- Determinar las especies de nematodos entomopatógenos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae presentes en Cataluña. Valorar los caracteres morfológicos que permiten su diferenciación y estudiar la variabilidad morfológica existente entre las diversas cepas de cada especie.
- 4.- Evaluar la aplicabilidad de los nematodos entomopatógenos en el control de diversos insectos que se desarrollan en hábitats crípticos y en el suelo, analizando algunos aspectos biológicos y ecológicos que determinan la capacidad de infección de los nematodos en los mismos.

3. PRESENCIA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN CATALUÑA

3.1. INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente la obtención de parásitos y patógenos de insectos, y más concretamente de nematodos entomopatógenos, se ha basado en la recogida de insectos parasitados en el campo y su posterior aislamiento en el laboratorio. Mediante este método se han aislado las primeras especies de nematodos entomopatógenos (Bovien, 1937), sin embargo esta metodología presenta diversos inconvenientes que la hacen inadecuada para un estudio amplio de distribución de nematodos entomopatógenos. Por un lado no se detectan nematodos cuando la población de éstos o la de los insectos que parasitan es pequeña, o cuando las temperaturas del suelo son demasiado bajas para la infección y el desarrollo de los nematodos. Por otro lado si se produce este parasitismo en el campo y la temperatura del suelo es elevada, los cadáveres de los insectos infectados se desintegran rápidamente y no es fácil detectar su presencia

Estos inconvenientes hicieron que Bedding y Akhurst (1975), describieran un nuevo método indirecto para el aislamiento de nematodos entomopatógenos, mediante la utilización de larvas de la polilla de la cera *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). Estos autores determinaron que las larvas de *G. mellonella* son más susceptibles al parasitismo por nematodos entomopatógenos que otras especies de insectos. Los primeros ensayos con este método se realizaban *in situ* mediante la colocación de larvas del insecto en pequeñas jaulas de tela metálica en cavidades efectuadas en el suelo. Al cabo de una semana se desenterraban las larvas y se examinaba la posible presencia de nematodos en su interior. Sin embargo este método seguía teniendo diversas desventajas como, tener que volver al lugar de muestreo, la posible depredación de las larvas de *Galleria*, y la influencia de las condiciones ambientales en su eficiencia. Por ello, estos mismos autores propusieron trasladar las muestras de suelo al laboratorio y enterrar las larvas de *Galleria* en recipientes colocados en cámaras climatizadas para controlar las condiciones ambientales.

Se han realizado diversos estudios para determinar la eficacia de este método indirecto de detección de nematodos entomopatógenos, llamado comúnmente "trampa de *Galleria*" (Mracek, 1982, Bednarek, 1986, y Fan y Hominick, 1991), concluyendo que además de ser un excelente método para detectar la ocurrencia de nematodos entomopatógenos, también puede ser utilizado para estimar la abundancia de formas infectivas presentes en el suelo.

Aunque se han estudiado otros sistemas basados en las técnicas de extracción de nematodos libres o fitoparásitos del suelo (Saunders y All, 1982 Doucet, 1986), las numerosas ventajas de este método han hecho que se haya estandarizado su uso en el estudio de la distribución de los nematodos entomopatógenos realizados por todo el mundo.

Existen diversos estudios sobre la distribución de los nematodos entomopatógenos en varios países (Tabla 3.1) que nos muestran como estos nematodos se encuentran por todo el mundo y su presencia es común en aquellas zonas en que se han muestreado

Sin embargo, son escasos los trabajos sobre la presencia de nematodos entomopatógenos en la región Mediterránea (sur de Europa), y concretamente en la Península Ibérica no existe ningún estudio, siendo éste el primer trabajo que se realiza sobre el tema.

El propósito de este capítulo es presentar una primera distribución de los nematodos entomopatógenos presentes en Cataluña, evaluando su aparición diferencial en función de factores geográficos, climáticos o de tipo de hábitat (bosque, prado o cultivo).

Tabla 3.1. Estudios sobre aislamientos de nematodos entomopatógenos.

PAÍS	REFERENCIA
Alemania	Ehlers et al. (1991)
Checoslovaquia	Mracek (1980)
Escocia	Downes y Griffin (1991), Boag et al. (1992)
Finlandia	Vanninen et al. (1989)
Gran Bretaña	Hominick y Briscoe (1990a)
Hungría	Mracek y Jenser (1988)
Irlanda	Blackshaw (1988), Downes y Griffin (1991), Griffin et al. (1991)
Italia	Deseo et al. (1988), Ehlers et al. (1991)
Suecia	Burman et al. (1986)
Australia	Akhurst y Bedding (1986)
EEUU (Carolina del Norte)	Akhurst y Brooks (1984)
Puerto Rico	Roman y Beavers (1982), Figueroa et al. (1993)
Canadá	Mracek y Webster (1993)
Islas Hawai	Hara et al. (1991)

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se han recogido muestras de suelo de 150 áreas, que geográficamente abarcaban la totalidad de las comarcas de Cataluña, en primavera y otoño entre 1989 y 1991. En cada área se tomaban 5 muestras consistentes en un kilogramo de tierra recogida en 1 m², entre 5 y 20 cm de profundidad y separadas entre sí de 1 a 3 metros. Cada muestra se analizaba de forma independiente, por lo que en este estudio se han analizado un total de 750 muestras de suelos. Las muestras se recogían en bolsas de polietileno y se etiquetaban para su traslado al laboratorio, teniendo un especial cuidado de no someterlas a temperaturas elevadas.

Las áreas analizadas pertenecían a tres hábitats diferentes: terreno cultivado, bosque y prado natural (fig. 3.1). Debido a que las formas infectivas de los nematodos que se encuentran en el suelo, son las formas de resistencia al medio, su relación con el tipo de vegetación es mínima. Por ello, la elección de estos tres tipos de hábitat pretenden evidenciar únicamente la posible influencia en la aparición de estos nematodos, de la estabilidad del medio en los hábitats de bosque y prado frente a la intervención humana en los suelos cultivados.

De cada área se registraba su situación geográfica (localidad más próxima y coordenadas U.T.M.), la altitud, el tipo de vegetación, la temperatura y precipitación media anual de la zona (estos dos últimos factores según el Atlas de la Enciclopedia Catalana) (Tabla 3.2).

La extracción de nematodos se ha realizado siguiendo la técnica de "trampa de *Galleria*" de Bedding y Akhurst (1975), con algunas modificaciones. Según estos autores las larvas de *Galleria* se depositan en el fondo de los recipientes, y al colocar la muestra de tierra sobre ellas quedan inmovilizadas.

En nuestros ensayos las larvas de últimos estadios de *Galleria* utilizadas, no quedaban inmovilizadas en el fondo, sino que se desplazaban libremente por el interior de las muestras, pudiendo escapar de la tierra a la parte superior de los recipientes. Para evaluar la incidencia de esta posible huida de las larvas del interior de las muestras en la eficacia de detección de los nematodos, utilizamos recipientes de plástico de 1000 cc. en el fondo de los cuales se introducían dos larvas libres y cuatro larvas inmovilizadas en una malla que impedía su

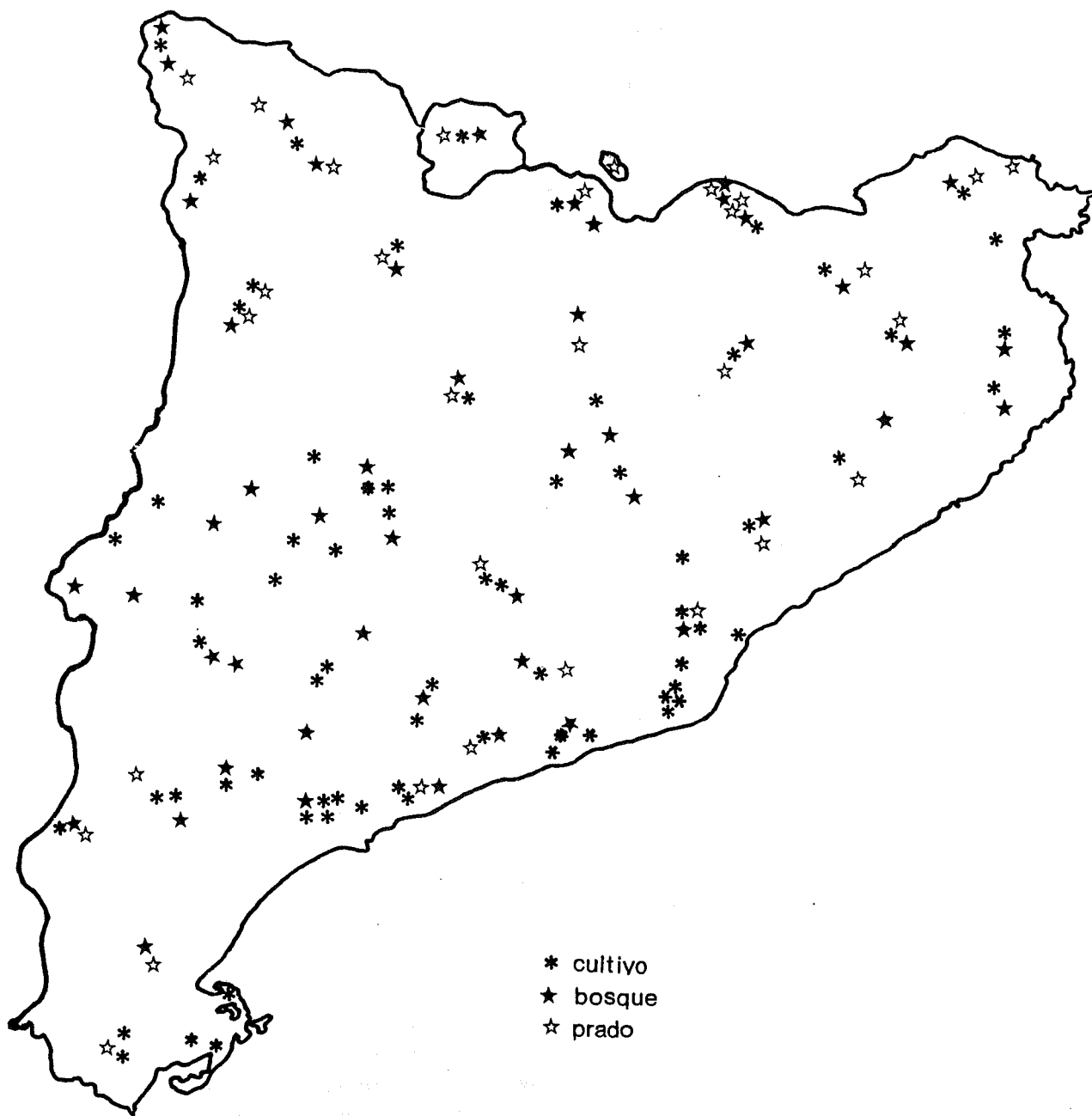


Figura 3.1. Situación geográfica de las áreas muestreadas

Tabla 3.2. Situación y características de las áreas muestreadas

M	FECHA	LOCALIDAD (COMARCA)	U.T.M.	ALT.(m.)	TIPO VEG.	TEMP (°C)	PLUV.(mm)
1	38924	La Garriga (Vallès Oriental)	DG4216	400-600	cereales	14-16	700-800
2	38924	La Garriga (Vallès Oriental)	DG4316	400-600	encinar	14-16	700-800
3	38924	Corró d'Amunt (Vallès Oriental)	DG4311	200-400	prado	14-16	700-800
4	38924	Manlleu (Osona)	DG3850	400-600	prado	12-14	800-900
5	38924	Torelló (Osona)	DG4053	400-600	cereales	12-14	800-900
6	38924	S. Pere de Torelló (Osona)	DG4159	600-800	encinar	12-14	800-900
7	38925	Vilallonga de Ter (Ripollés)	DG4288	1200-1600	hayedo	6-8	1100-1200
8	38925	Vilallonga de Ter (Ripollés)	DG4288	1200-1600	prado	6-8	1100-1200
9	38925	Vallter 2000 (Ripollés)	DG4098	2000-2400	prado	< 6	1100-1200
10	38925	Vallter 2000 (Ripollés)	DG4194	1600-2000	pineda	< 6	1100-1200
11	38925	Vilallonga de Ter (Ripollés)	DG4387	1200-1600	cereales	6-8	1100-1200
12	38925	S. Jaume de Llierca (Garrotxa)	DG6772	200-400	encinar	12-14	900-1000
13	38925	Sadernes (Garrotxa)	DG6575	200-400	cereales(m)	12-14	900-1000
14	38925	Argelaguer (Garrotxa)	DG7074	200-400	prado	12-14	900-1000
15	38926	S. Mª de Camós (Pla de l'Estany)	DG8159	100-200	encinar	14-16	800-900
16	38926	S. Mª de Camós (Pla de l'Estany)	DG8159	100-200	cereales(m)	14-16	800-900
17	38926	Camós (Pla de l'Estany)	DG8160	100-200	prado	14-16	800-900
18	38926	S. Coloma de Farners (La Selva)	DG7036	200-400	alcornoque	14-16	800-900
19	38926	Arbucies (La Selva)	DG6028	200-400	alfalfa	14-16	900-1000
20	38926	Breda (La Selva)	DG6224	200-400	prado	14-16	800-900
21	48915	Garcia (Ribera d'Ebre)	CF0357	100-200	pineda	14-16	400-500
22	48915	Garcia (Ribera d'Ebre)	BF9861	100-200	cereales	14-16	400-500
23	48915	Vinebre (Ribera d'Ebre)	BF9762	100-200	viñedo	14-16	400-500
24	48915	Flix (Ribera d'Ebre)	BF9367	100-200	prado	14-16	400-500
25	48915	Vilalba (Terra Alta)	BF7958	200-400	viñedo	14-16	400-500
26	48915	Vilalba (Terra Alta)	BF7958	200-400	pineda	14-16	400-500
27	48915	Vilalba (Terra Alta)	BF8255	400-600	prado	14-16	400-500
28	48915	Aldover (Baix Ebre)	BF9026	0-100	pineda	16-18	500-600
29	48915	Rabal de Jesús (Baix Ebre)	BF9023	0-100	prado	16-18	500-600
30	48916	Els Muntells (Montsià)	CF1305	0-100	arroz	16-18	500-600
31	48916	Els Muntells (Montsià)	CF0408	0-100	alcachofas	16-18	500-600
32	48916	Godall (Montsià)	BF8603	200-400	almendros	14-16	600-700
33	48916	Godall (Montsià)	BF8402	200-400	prado	14-16	600-700
34	48916	Godall (Montsià)	BF8401	200-400	olivos	14-16	600-700
35	48916	El Fangal (Baix Ebre)	CF1316	0-100	arado	16-18	500-600
36	48930	Jorba (Anoia)	CG7808	400-600	pineda	12-14	600-700
37	48930	Copons (Anoia)	CG7711	400-600	prado	12-14	600-700
38	48930	Copons (Anoia)	CG7710	400-600	cereales	12-14	600-700
39	48930	Jorba (Anoia)	CG7809	400-600	almendros	12-14	600-700
40	48930	S.Quintí Mediona (Alt Penedés)	CF8893	400-600	pineda	14-16	600-700
41	48930	Puigdalber (Alt Penedés)	CF9088	200-400	viñedo	14-16	600-700
42	48930	S.Sadurní de Noia (Alt Penedés)	CF9583	100-200	prado	14-16	600-700
43	48930	S.Lorenç (Baix Penedés)	CF7871	100-200	pineda	14-16	500-600
44	48930	La Bisbal (Baix Penedés)	CF7471	100-200	viñedo	14-16	500-600
45	48930	La Bisbal (Baix Penedés)	CF7371	100-200	prado	14-16	500-600
46	58926	Collado de Clará (Solsonés)	CF7554	600-800	pineda	10-12	700-800
47	58926	Solsona (Solsonés)	CG7652	600-800	cereales	10-12	700-800
48	58926	Solsona (Solsonés)	CG7652	600-800	prado	10-12	700-800
49	58926	Organyà (Alt Urgell)	CG6581	800-1000	pineda	10-12	600-700
50	58926	Noves de Segre (Alt Urgell)	CG6584	800-1000	prado	10-12	600-700

Tabla 3.2. (continuación).

M	FECHA	LOCALIDAD (COMARCA)	U.T.M.	ALT.(m.)	TIPO VEG.	TEMP (°C)	PLUV.(mm)
51	58926	El Pla de St.Tirs (Alt Urgell)	CG6886	800-1000	cereales	10-12	600-700
52	58926	Ordino (Andorra)	CH8013	1200-1600	tabaco	6-8	900-1000
53	58926	Ordino (Andorra)	CH7914	1600-2000	avellano	6-8	900-1000
54	58926	Erts (Andorra)	CH7714	1200-1600	prado	6-8	900-1000
55	58927	Olopte (La Cerdanya)	DG0494	1000-1200	cereales	8-10	800-900
56	58927	Bolvir (La Cerdanya)	DG0997	1000-1200	prado	8-10	800-900
57	58927	Llivia (La Cerdanya)	DH1702	1000-1200	prado	8-10	800-900
58	58927	Bolvir (La Cerdanya)	DG0898	1000-1200	encinar	8-10	800-900
59	58928	La Molina (La Cerdanya)	DG1091	1200-1600	pineda	< 6	900-1000
60	58928	La Nou (Berguedá)	DG0769	800-1000	encinar	10-12	800-900
61	58928	Berga (Berguedá)	DG0660	400-600	prado	10-12	700-800
62	58928	Puig-reig (Berguedá)	DG0748	400-600	cereales	12-14	600-700
63	98929	Salàs (Pallars Jussà)	CG2974	600-800	pineda	10-12	700-800
64	98929	Salàs (Pallars Jussà)	CG3076	400-600	almendros	10-12	700-800
65	98929	Salàs (Pallars Jussà)	CG3175	400-600	arada	10-12	700-800
66	98929	La Pobla (Pallars Jussà)	CG3381	600-800	cereales(m)	10-12	700-800
67	98929	La Pobla (Pallars Jussà)	CG3381	600-800	prado	10-12	700-800
68	98929	Llavorsí (Pallars Sobirà)	CH5307	1000-1200	prado	10-12	800-900
69	98929	Llavorsí (Pallars Sobirà)	CH5208	1000-1200	pineda	10-12	800-900
70	98929	Esterrí d'Aneu (Pallars Sobirà)	CH4619	1000-1200	alfalfa	< 6	1100-1200
71	98930	Port Bonaigua (Pallars Sobirà)	CH4322	1200-1600	avellano	< 6	1100-1200
72	98930	Port Bonaigua (Pallars Sobirà)	CH3625	2000-2400	prado	< 6	1100-1200
73	98930	Les Bordes (Vall d'Aran)	CH1335	800-1000	avellano	6-8	900-1000
74	98930	Bossost (Vall d'Aran)	CH1240	600-800	cereales(m)	8-10	900-1000
75	98930	Bausén (Vall d'Aran)	CH1445	600-800	robledal	8-10	900-1000
76	98930	Viella (Vall d'Aran)	CH1932	800-1000	prado	6-8	900-1000
77	108901	Coll (Alta Ribagorça)	CH1705	1000-1200	robledal	8-10	900-1000
78	108901	Caldes de Boí (Alta Ribagorça)	CH2212	1200-1600	prado	6-8	1000-1100
79	108901	Barruera (Alta Ribagorça)	CH2009	1000-1200	alfalfa	8-10	900-1000
80	108910	Bellatera (Valles Occidental)	DF2494	100-200	prado	14-16	600-700
81	118904	La Nou (Tarragonés)	CF6462	0-100	pineda	14-16	400-500
82	118904	Catllar (Tarragonés)	CF6060	0-100	prado	14-16	400-500
83	118904	Els Pallaresos (Tarragonés)	CF5461	100-200	vifredo	14-16	400-500
84	118904	Els Pallaresos (Tarragonés)	CF5560	100-200	avellano(1)	14-16	400-500
85	118904	Riudoms (Baix Camp)	CF3657	100-200	avellano(1)	14-16	500-600
86	118904	Botarell (Baix Camp)	CF3156	200-400	olivos	14-16	500-600
87	118904	Botarell (Baix Camp)	CF2958	200-400	pineda	14-16	500-600
88	118904	Gratallops (Priorat)	CF1464	200-400	vifredo	12-14	500-600
89	118904	La Vilella Alta (Priorat)	CF1467	200-400	pineda	12-14	500-600
90	118904	Poboleda (Priorat)	CF1868	400-600	almendros	12-14	600-700
91	118904	Prades (Baix Camp)	CF3278	1000-1200	robledal	12-14	700-800
92	118905	Francolí (Conca de Barberà)	CF4286	400-600	arada	14-16	500-600
93	118905	Blanafort (Conca de Barberà)	CF4488	400-600	vifredo	14-16	500-600
94	118905	Sarraf (Conca de Barberà)	CF5094	600-800	pineda	14-16	400-500
95	118905	El Pont d'Armentera (Alt Camp)	CF6381	200-400	avellano(1)	14-16	500-600
96	118905	Santes Creus (Alt Camp)	CF6379	200-400	pineda	14-16	500-600
97	118905	Vila-rodona (Alt Camp)	CF6275	200-400	vifredo	14-16	500-600
98	49013	Calonge (Baix Empordà)	EG0638	100-200	encinar	12-14	700-800
99	49013	La Bisbal (Baix Empordà)	EG0241	100-200	cereales	14-16	700-800
100	49013	Parlavà (Baix Empordà)	EG0452	0-100	encinar	14-16	700-800

Tabla 3.2. (continuación).

M	FECHA	LOCALIDAD (COMARCA)	U.T.M.	ALT.(m.)	TIPO VEG.	TEMP (°C)	PLUV.(mm)
101	49013	Verges (Baix Empordà)	EG0456	0-100	arada	14-16	700-800
102	49014	Fortià (Alt Empordà)	EG0377	0-100	manzanos	14-16	600-700
103	49014	Campmany (Alt Empordà)	DG9391	100-200	encinar	14-16	700-800
104	49014	Campmany (Alt Empordà)	DG9391	100-200	viñedo	14-16	700-800
105	49014	Espolla (Alt Empordà)	DG9992	100-200	prado	14-16	700-800
106	49014	St.Quirze Colera (Alt Empordà)	EG0596	100-200	prado	14-16	600-700
107	59011	Callús (Bages)	CG9828	200-400	cereales	12-14	600-700
108	59011	Argençola (Bages)	DG0137	400-600	pinada	12-14	600-700
109	59011	Balsareny (Bages)	DG1137	400-600	pinada	12-14	600-700
110	59011	Artés (Bages)	DG1328	200-400	viñedo	12-14	600-700
111	59011	Les Arenes (Vallès Occidental)	DG1821	600-800	encinar	12-14	600-700
112	59011	Sentmenat (Vallès Occidental)	DG2807	200-400	cereales	10-12	700-800
113	59012	Sant Cugat (Vallès Occidental)	DF2590	100-200	encinar	14-16	600-700
114	59012	Bellaterra (Vallès Occidental)	DF2494	100-200	cereales	14-16	600-700
115	68909	Sant Boi (Baix Llobregat)	DF2076	0-100	alcachofas	16-18	500-600
116	68909	Sant Boi (Baix Llobregat)	DF2175	0-100	arada	16-18	500-600
117	98905	Vilasar de mar (Maresme)	DF4895	0-100	puerros	16-18	500-600
118	99022	Canyelles (Garraf)	CF9471	100-200	pinada	14-16	600-700
119	99022	St.Pere de Ribes (Garraf)	CF9770	0-100	viñedo	14-16	600-700
120	99022	Cubelles (Garraf)	CF8963	0-100	frutales	14-16	500-600
121	119029	Vinaxa (Garrigues)	CF2988	200-400	pinada	14-16	400-500
122	119029	Cervià (Garrigues)	CF2490	400-600	pinada	14-16	400-500
123	119029	Les Borges Blanques (Garrigues)	CF2393	400-600	olivos	14-16	400-500
124	119101	Castellnou de Oluges (Segarra)	CG5718	400-600	encinar	12-14	400-500
125	119101	Tarroja de Segarra (Segarra)	CG5722	400-600	arada	12-14	400-500
126	119101	Guissona (Segarra)	CG5828	400-600	cereales	12-14	500-600
127	119101	Guardiola (Noguera)	CG5333	400-600	encinar	12-14	500-600
128	119101	Seró (Noguera)	CG4338	400-600	arada	12-14	500-600
129	119101	Cubells (Noguera)	CG2834	200-400	encinar	14-16	400-500
130	119101	Balaguer (Noguera)	CG1729	200-400	pinar	14-16	< 400
131	119101	Alguerri (Noguera)	CG0432	200-400	arada	14-16	< 400
132	119102	Almacellas (Segrià)	BG9327	200-400	melocotón	14-16	< 400
133	119102	Suquets (Segrià)	BG8418	200-400	pinada	14-16	< 400
134	119102	Alpicat (Segrià)	BG9714	200-400	pinada	14-16	< 400
135	119102	Bell-Lloc (Urgell)	CG1311	100-200	alfalfa	14-16	< 400
136	119102	Castellnou de Seana (Urgell)	CG3111	200-400	cereal	14-16	< 400
137	119102	Boldú (Urgell)	CG3521	200-400	manzanos	12-14	400-500
138	119102	Pilar d'Almenara (Urgell)	CG4025	400-600	encinar	12-14	400-500
139	119102	Altet (Urgell)	CG4616	200-400	cereales	12-14	400-500
140	69215	Vallter-2000. Telesilla (Ripollés)	DG4098	2000-2400	bosque	< 6	1100-1200
141	69215	Vilallonga de Ter (Ripollés)	DG4288	1200-1600	prado	6-8	1100-1200
142	108723	Vilafranca Penedés (Alt Penedès)	CF9279	100-200	viñedo	14-16	600-700
143	28811	Vila-Seca (Tarragonès)	CF4453	0-100	algarrobos	14-16	500-600
144	28811	Vila-Seca (Tarragonès)	CF4453	0-100	avellano	14-16	500-600
145	28811	Mas Bovè ((Baix Camp)	CF4461	100-200	almendro	14-16	400-500
146	68809	Sant Boi (Baix Llobregat)	DF2276	0-100	labrada	16-18	500-600
147	78807	Gavá (Baix Llobregat)	DF1871	0-100	tomates	16-18	500-600
148	28810	Sant Cugat (Vallès Occidental)	DF2291	100-200	labrada	14-16	600-700
149	108728	Martorell (Baix Llobregat)	DF1193	100-200	cerezo	14-16	600-700
150	28805	Cervera (Segarra)	CG5812	400-600	cereales	12-14	400-500

dispersión, sobre las cuales se depositaba la tierra a analizar. Los recipientes se guardaban cerrados con una tapa de plástico que impedía su desecación en una cámara climática que mantenía una temperatura de 23 ± 2 °C. Al cabo de 10 días se desenterraban las larvas y se disecaban para comprobar la presencia de nematodos en su interior, anotando si las larvas parasitadas se encontraban libres o inmovilizadas en la malla. Las larvas parasitadas se transferían a placas de Petri con dos piezas de papel de filtro humedecido, hasta que se producía la salida de las formas infectivas, a partir de las cuales se iniciaba el cultivo *in vivo* sobre larvas de *Galleria* con el fin de obtener suficientes individuos para su determinación taxonómica. El estudio taxonómico de las cepas aisladas se describirá en un capítulo posterior.

El tratamiento estadístico de los resultados sobre la eficacia del método de "trampa de *Galleria*" se realizó, contrastando la aparición de nematodos en larvas libres o inmovilizadas, mediante la prueba X^2 (CROSSTABS, SPSS-PC).

Para observar si la aparición de muestras con nematodos presentaba una distribución de contagio, ajustamos la distribución de frecuencias observadas a una distribución binomial negativa (Ludwing y Reynolds, 1988) obteniendo las frecuencias esperadas para este tipo de distribución, y ambas fueron comparadas mediante la prueba X^2 (con q-3 grados de libertad). Posteriormente se ha calculado el índice de dispersión de las muestras (ID) contrastado con el test estadístico d (Ludwing y Reynolds, 1988).

Las posibles diferencias en la existencia de nematodos en las áreas muestreadas en función de las características: hábitat, estación del año en que se recogieron las muestras, altitud, y temperatura y pluviometría media anual, se evaluaron a partir de dos variables:

1.- "Presencia-ausencia de nematodos" mediante la prueba X^2 (CROSSTABS, SPSS-PC).

2) "Abundancia de nematodos", referido al número de muestras con nematodos por área (tanto en el total de las áreas muestreadas, como únicamente en las áreas con presencia de nematodos), mediante las pruebas no paramétricas de Kolmogorov-Smirnov y de Kruskal-Wallis (NPAR TESTS, SPSS-PC), al tratarse de una variable que no sigue una distribución normal.

Finalmente se ha analizado la influencia de todos los factores ambientales considerados conjuntamente, en la presencia de nematodos en las áreas muestreadas, mediante un análisis factorial de correspondencias múltiple (Analyse des Correspondances Multiples, STATITCF).

3.3. RESULTADOS

Se han encontrado nematodos entomopatógenos en 35 de las 150 áreas analizadas (23,3%) (Fig. 3.2).

Aunque la determinación taxonómica de las cepas de nematodos encontradas se verá en un próximo capítulo, cabe señalar que de las 35 áreas con nematodos, en 33 (94,3%) se han encontrados nematodos entomopatógenos pertenecientes a la familia Steinernematidae y únicamente en 2 áreas (5,7%) se han detectado nematodos de la familia Heterorhabditidae.

3.3.1. Eficacia del método de detección de los nematodos entomopatógenos.

Si analizamos la eficacia del método de detección de nematodos por muestra, en función de que las larvas se encuentren libres por la tierra o inmovilizadas en el fondo, observamos que de las 89 muestras que presentaron nematodos, en 60 se encontraron tanto en larvas libres como inmovilizadas, en 24 sólo se encontraron en larvas inmovilizadas y únicamente en 5 se encontraron sólo en larvas libres. Si tenemos en cuenta el total de las muestras analizadas, podemos decir que las larvas de *Galleria* libres por la tierra detectan nematodos en un 8,7% de las muestras, mientras que las larvas inmovilizadas en un 11,2 %. Estas diferencias no son estadísticamente significativas (X^2 , $p > 0,05$) debido al elevado número de muestras sin nematodos. Sin embargo, cuando consideramos únicamente las muestras en las que han aparecido nematodos, el porcentaje de muestras con presencia de nematodos que no han detectado las larvas libres (27%) es estadísticamente mayor que el de las larvas inmovilizadas (5,6%) ($X^2=13,3$, g.l. = 1, $p= 0,0002$).

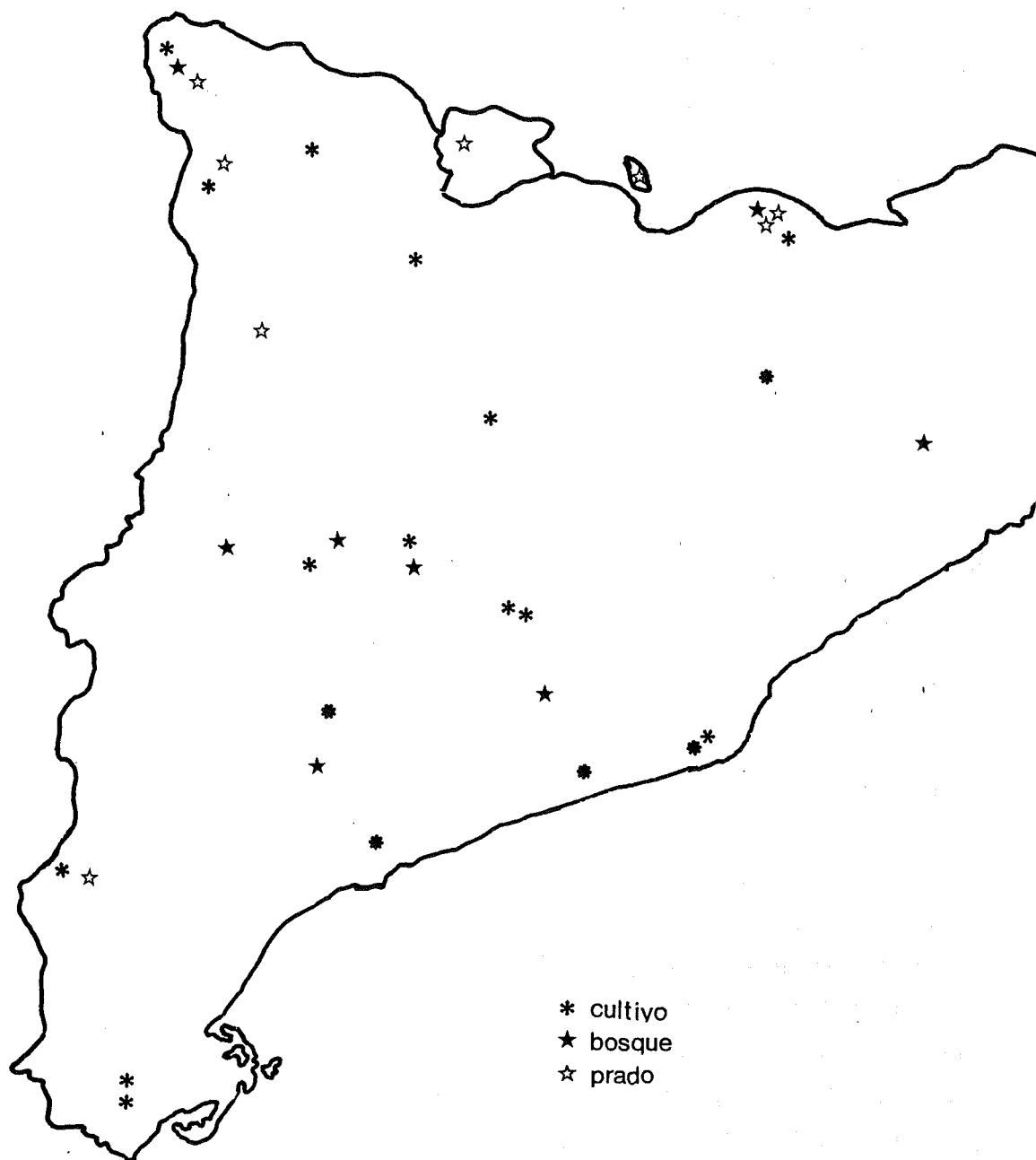


Figura 3.2 Situación de las áreas muestreadas con nematodos entomopatógenos

3.3.2. Patrón de distribución en la aparición de muestras con nematodos.

La distribución que sigue la aparición de muestras con nematodos en las áreas analizadas se presenta en la figura 3.4. La media de muestras con nematodos encontrada por área es de 0,593 y la varianza (s^2) de 1,695. El hecho de que la varianza sea considerablemente más alta que la media, indica que la aparición de muestras con nematodos podría presentar una distribución de contagio, por lo que hemos ajustado nuestros datos a una distribución binomial negativa obteniendo las frecuencias esperadas que se pueden observar en la tabla 3.3.

Tabla 3.3 . Frecuencias esperadas y observadas de las áreas con nematodos entomopatógenos.

Nº MUESTRAS CON NEMATODOS/ÁREA	FRECUENCIAS OBSERVADAS	FRECUENCIAS ESPERADAS (SEGÚN LA DISTRIBUCIÓN BINOMIAL NEGATIVA)
0	115	114,99
1	13	16,21
2	7	7,32
3	4	4,06
4	5	2,46
5	6	4,95

La bondad del ajuste ha sido comprobada por la prueba X^2 con q-3 grados de libertad, cuyos resultados ($X^2 = 3,498$, $p > 0,05$) nos hacen rechazar la hipótesis nula. Por lo que podemos afirmar que el modelo de distribución binomial negativa parece ser adecuado para las frecuencias observadas y por lo tanto existe un patrón agregativo o contagioso en las muestras con nematodos.

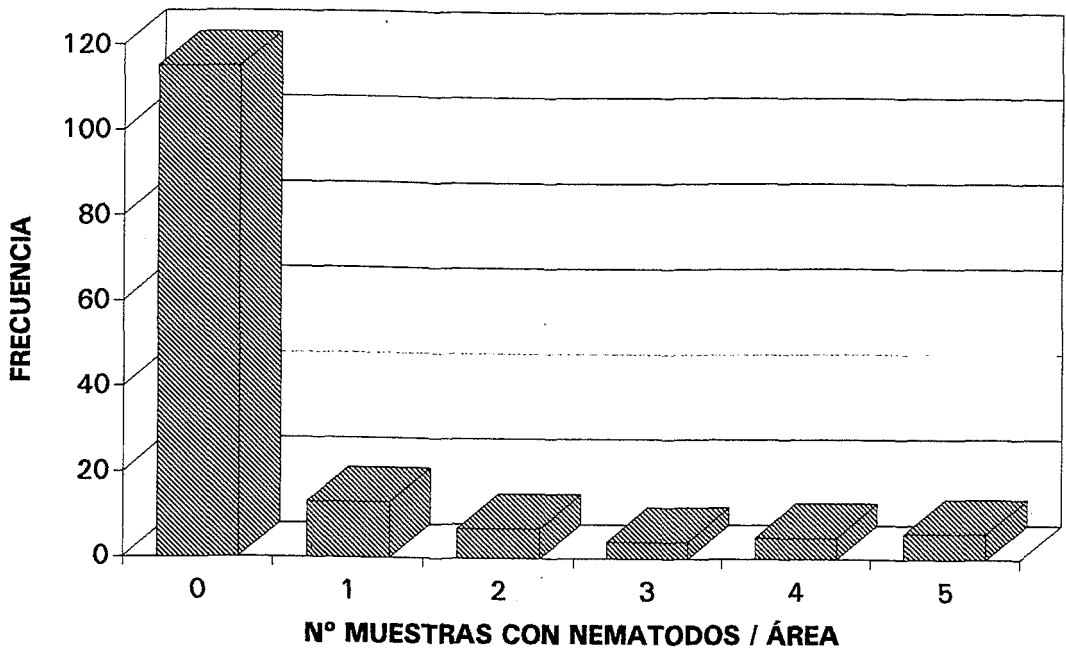


Figura 3.4 Distribución de la frecuencia de las áreas en función del número de muestras con nematodos por área

El índice de dispersión de las muestras ($ID=s^2/x$) nos da un valor de 2,857 y como $N>30$ aplicamos el test estadístico d cuyo valor de 11,94 (al ser mayor de 1,96) nos indica que los datos se ajustan a una distribución contagiosa (Elliot, 1973) lo que apoya lo observado anteriormente.

3.3.3. Aparición de nematodos en función de la estacionalidad.

No se ha detectado estacionalidad en la presencia de nematodos por área muestreada en las dos estaciones analizadas: 22,2% en primavera frente al 25% en otoño (X^2 , $p>0,05$) (Tabla 3.4).

Si se considera la abundancia de nematodos, tampoco se han detectado diferencias en el número medio de muestras con nematodos por área: 0,68 en primavera y 0,47 en otoño (Test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnov, $p>0,05$), ni en el número medio de muestras con nematodos en aquellas áreas con presencia de nematodos: 3,05 en primavera y 1,87 en otoño (Test Kolmogorov-Smirnov, $p>0,05$).

Tabla 3.4. Presencia de nematodos en función de la estacionalidad.

	Nº Áreas Analizadas	Nº Áreas con Nematodos (%)
PRIMAVERA	90	20 (22,2)
OTOÑO	60	15 (25)

3.3.4. Aparición de nematodos en función del hábitat.

Dentro de los tres hábitats muestreados no se han detectado diferencias significativas en la aparición de nematodos: 28,2% en suelos cultivados, 16,3% en bosques y 23,3% en prados (X^2 , $p > 0,05$) (Tabla 3.5).

Si se considera la abundancia de nematodos por área, expresado por el número medio de muestras con nematodos, tampoco se han detectado diferencias estadísticamente significativas: 0,87 en suelos cultivados, 0,28 en bosques y 0,43 en prados (Test no paramétrico de Kruskal-Wallis, $p > 0,05$). Sin embargo, como se puede observar, existe un mayor número de muestras con nematodos en suelos cultivados que en los demás hábitats, cuya significación debe quedar oculta por el gran número de muestras sin nematodos del muestreo. Por ello, al considerar el número medio de muestras positivas únicamente en aquellas áreas que presentan nematodos: 3,1 en suelos cultivados, 1,75 en bosques y 1,46 en prados, sí se detectan diferencias estadísticamente significativas (Test Kruskal-Wallis, $p = 0,037$). Este hecho indicaría que dentro de los hábitats en que ha sido detectada la presencia de nematodos, existe una mayor abundancia en los suelos cultivado que en los otros dos hábitats.

Tabla 3.5 Presencia de nematodos en función del hábitat.

	Nº Áreas Analizadas	Nº Áreas con Nematodos (%)
CULTIVO	71	20 (28,2)
BOSQUE	49	8 (16,3)
PRADO	30	7 (23,3)

3.3.5. Aparición de nematodos en función de la altitud.

Se han detectado nematodos entomopatógenos hasta una altitud de 2.000 metros. La presencia de nematodos en función de la altitud (Tabla 3.6) no difiere significativamente (X^2 , $p > 0,05$) por área analizada, a pesar de que existe cierta tendencia a una mayor presencia de nematodos a mayor altitud (Fig. 3.5).

Si se considera el número de muestras con nematodos por área (Fig. 3.6A) esta tendencia se observa de forma más acusada con diferencias estadísticamente significativas (Test Kruskal-Wallis, $p = 0,026$). Sin embargo si la abundancia de nematodos se contrasta sólo sobre las áreas que presentan nematodos (fig. 3.6B), éstas diferencias se igualan dejando de ser significativas (Test Kruskal-Wallis, $p > 0,05$).

Tabla. 3.6 Presencia de nematodos en función de la altitud.

ALTITUD (m)	Nº Áreas Analizadas	Nº Áreas con Nematodos (%)
0-100	19	2 (10,5)
100-200	29	2 (6,9)
200-400	33	6 (18,2)
400-600	28	10 (35,7)
600-800	11	2 (18,2)
800-1000	6	3 (50)
1000-1200	10	4 (40)
1200-1600	9	5 (55,5)
1600-2000	2	1 (50)
2000-2400	3	0 (0)

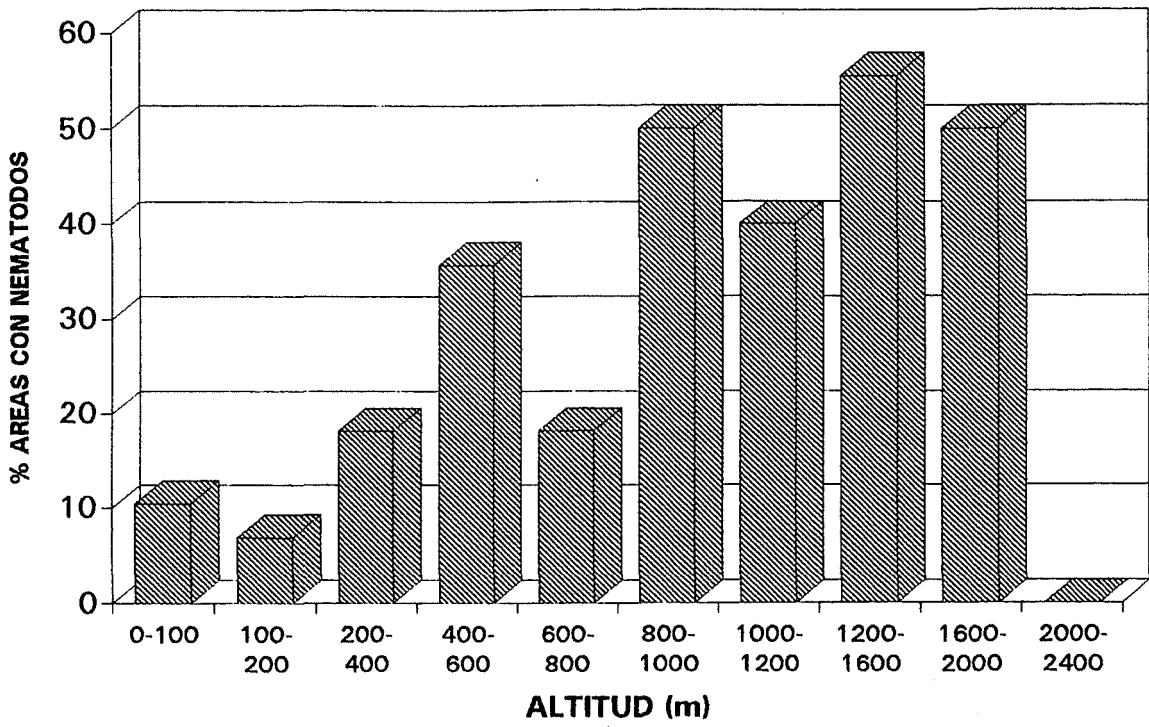


Figura 3.5. Número de áreas con presencia de nematodos en función de la altitud.

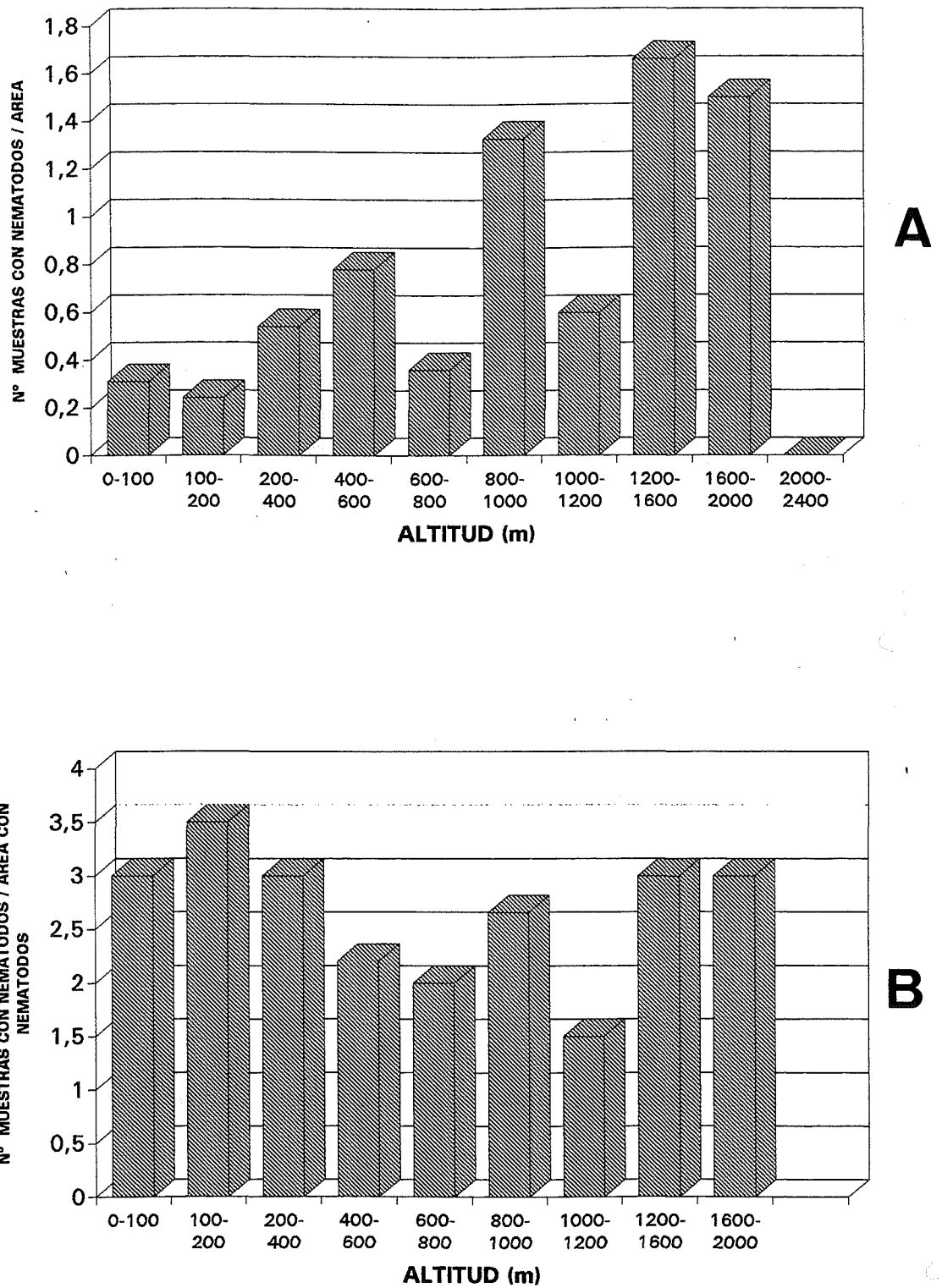


Figura 3.6. Abundancia de nematodos entomopatógenos en función de la altitud. A). Número de muestras con nematodos por área muestreada. B). Número de muestras con nematodos por área con presencia de nematodos.

3.3.6. Aparición de nematodos en función de la temperatura.

La temperatura media anual de las áreas muestreadas (Tabla 3.7) influye significativamente en la aparición de nematodos ($X^2 = 16,63$, g.l.=6, $p=0,010$), existiendo una mayor proporción de áreas con nematodos en lugares con temperaturas medias anuales relativamente bajas (6-10 °C) (fig. 3.7).

Cuando se analiza su abundancia (número de muestras con nematodos por área) (fig. 3.8A), se mantiene esta tendencia con una elevada significación (Test Kruskal-Wallis, $p=0,015$). Sin embargo cuando se tiene en cuenta el número medio de muestras con nematodos, únicamente en aquellas áreas en las que hemos detectado su presencia (fig. 3.8B), no se observan diferencias significativas (Test Kruskal-Wallis, $p>0,05$).

Tabla 3.7. Presencia de nematodos en función de la temperatura.

Tª media anual (°C)	Nº Áreas Analizadas	Nº Áreas con Nematodos (%)
< 6	7	2 (28,6)
6-8	10	7 (70)
8-10	8	3 (37,5)
10-12	16	3 (18,7)
12-14	30	8 (26,6)
14-16	69	10 (14,5)
16-18	10	2 (20)

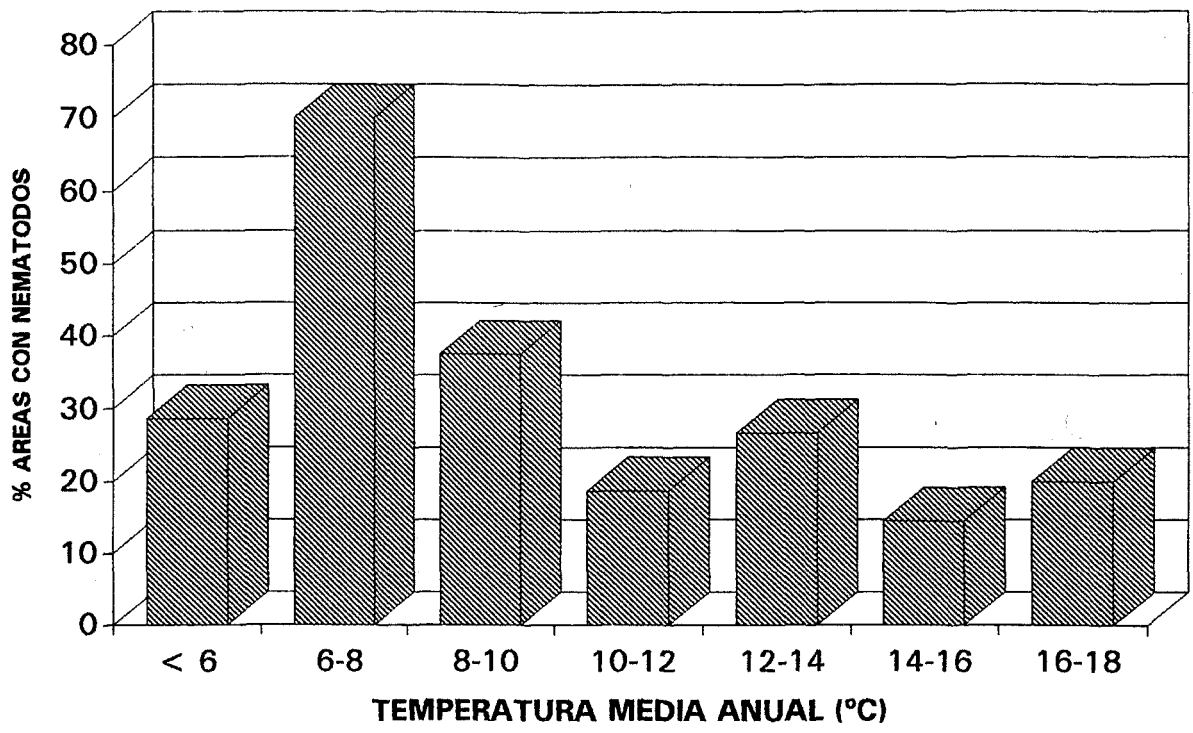


Figura 3.7. Número de áreas con presencia de nematodos en función de la temperatura media anual.

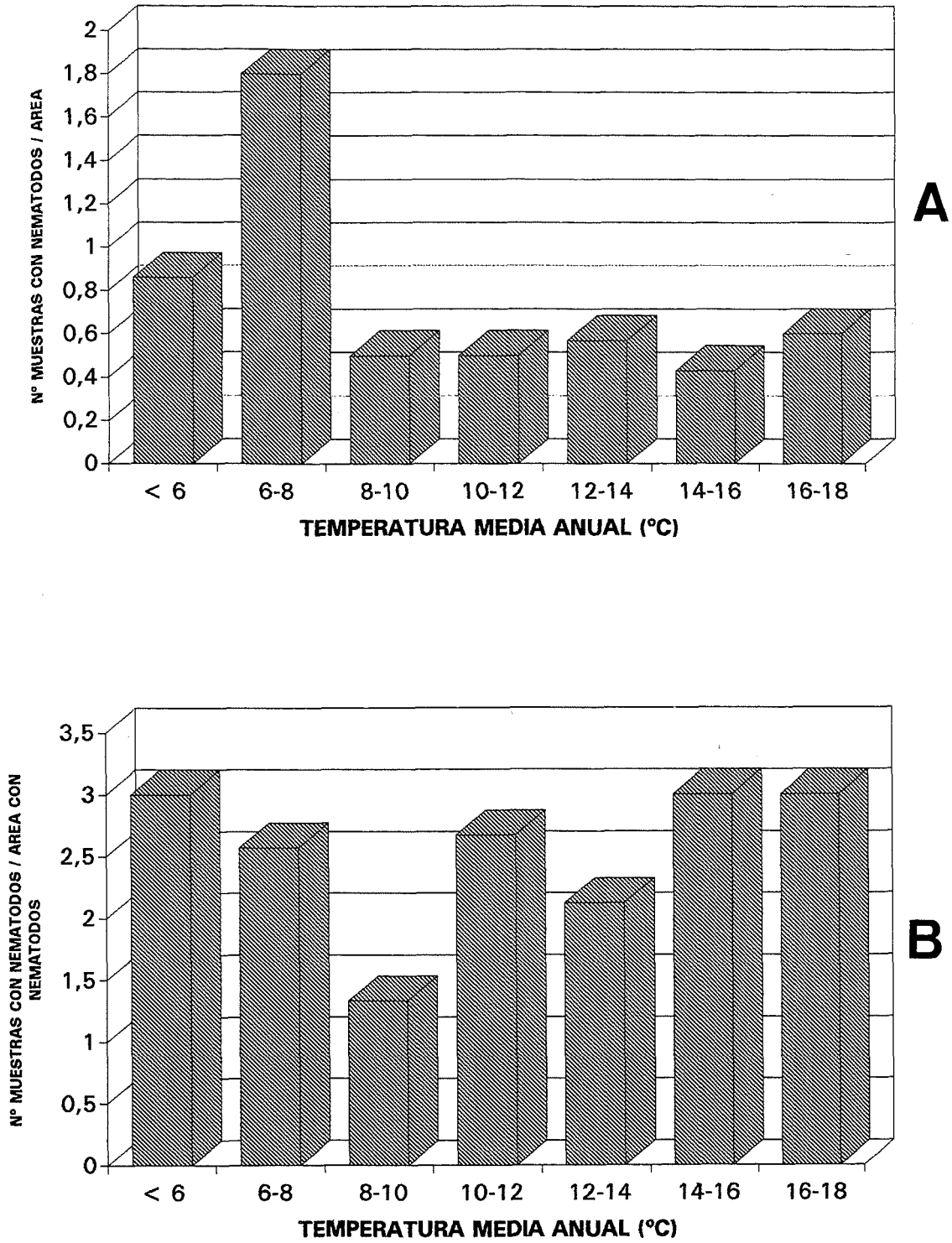


Figura 3.8. Abundancia de nematodos entomopatógenos en función de la temperatura media anual. **A**). Número de muestras con nematodos por área muestreada. **B**). Número de muestras con nematodos por área con presencia de nematodos.

3.3.7. Aparición de nematodos en función de la pluviometría.

La presencia de nematodos no varía significativamente en función de la pluviometría media anual del área analizada (X^2 , $p > 0,05$) (Tabla 3.8). Sin embargo se observa una tendencia hacia una mayor presencia de nematodos en áreas que se encuentran en zonas de mayor pluviosidad (fig. 3.9).

Esta tendencia también se observa, aunque no de forma significativa (Test Kruskal-Wallis, $p=0,062$), al analizar la abundancia de nematodos por área (fig. 3.10A). Mientras que si esta abundancia la referimos al número de muestras con nematodos por área con presencia de nematodos, ésta varía significativamente en función de la pluviometría (Test Kruskal-Wallis, $p= 0,048$) (fig. 3.10B).

Tabla 3.8. Presencia de nematodos en función de la pluviometría.

Pluviometría media anual (mm)	Nº Áreas Analizadas	Nº Áreas con Nematodos (%)
< 400	7	1 (14,3)
400-500	23	7 (30,4)
500-600	29	3 (10,3)
600-700	30	7 (23,3)
700-800	21	3 (14,3)
800-900	15	3 (20)
900-1000	14	5 (35,7)
1000-1100	1	1 (100)
1100-1200	10	5 (50)

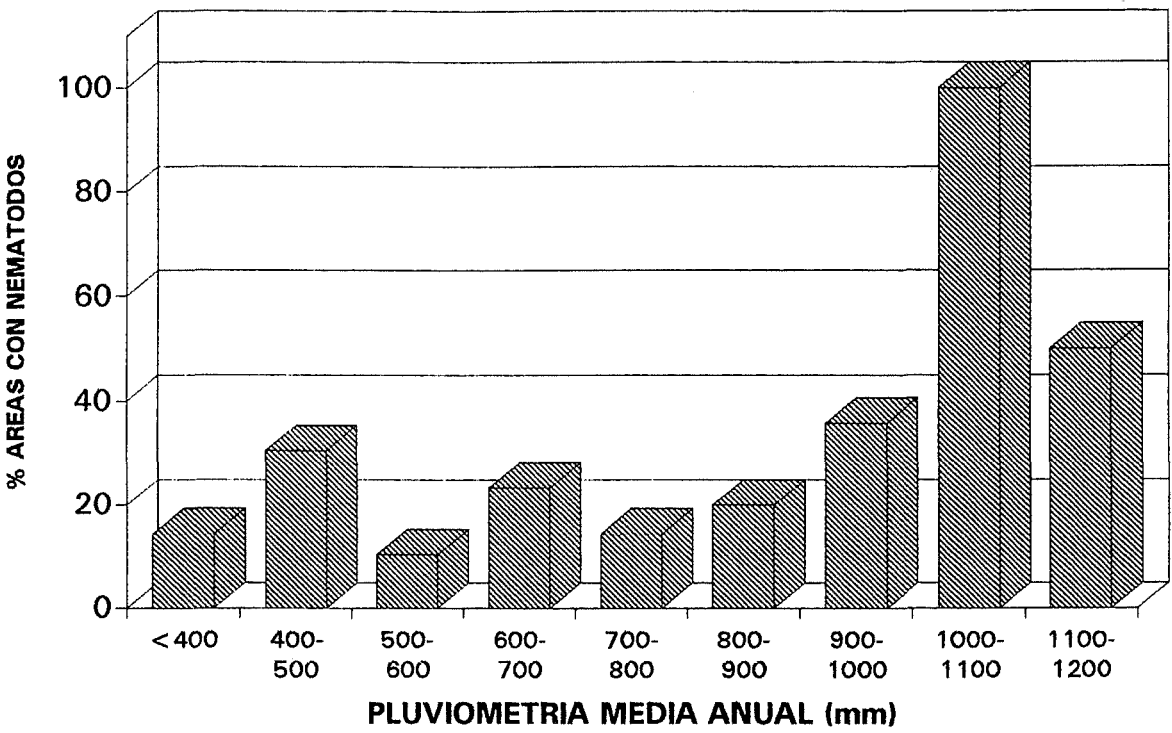


Figura 3.9. Número de áreas con presencia de nematodos en función de la pluviometría media anual.

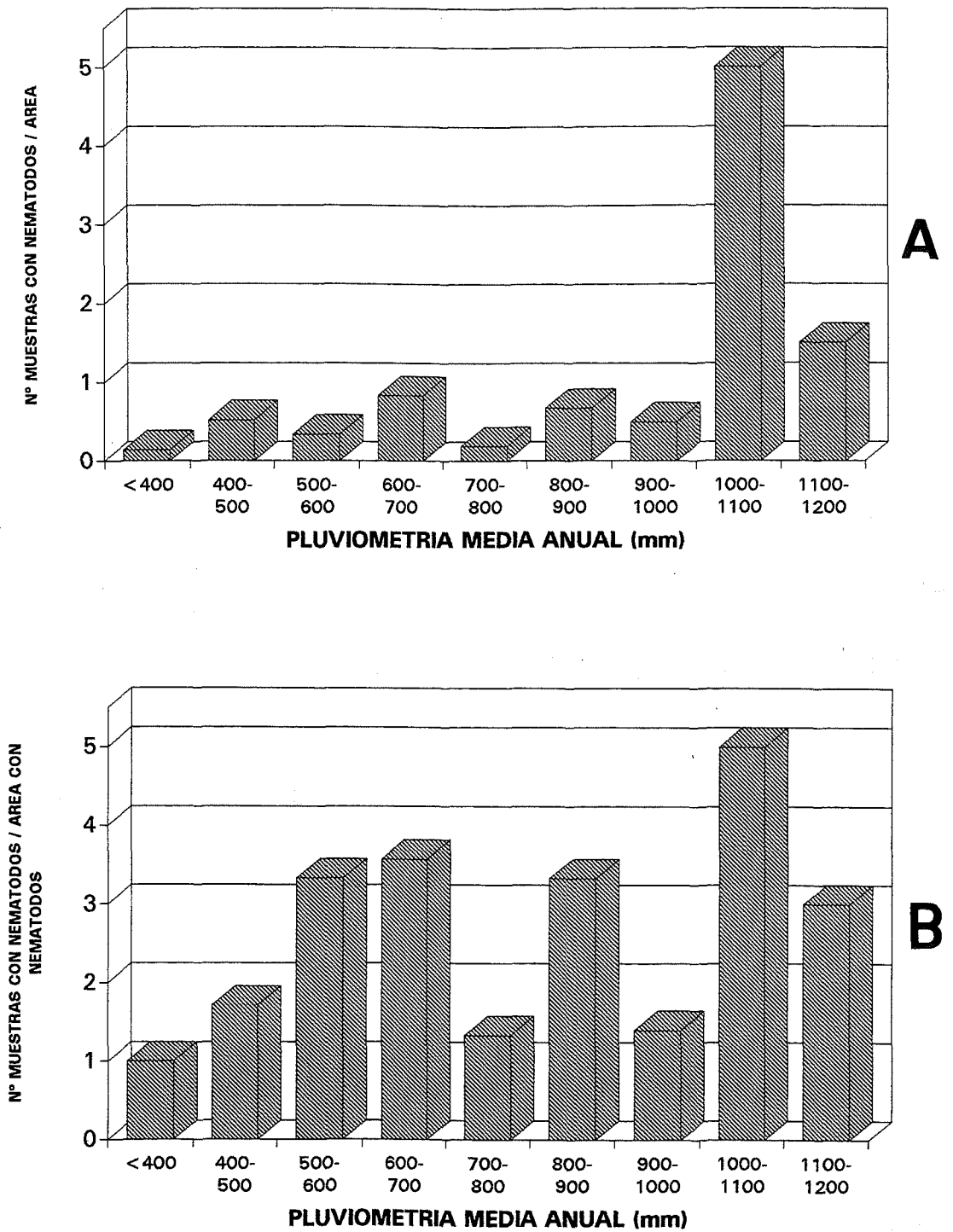


Figura 3.10. Abundancia de nematodos entomopatógenos en función de la pluviometría media anual. A). Número de muestras con nematodos por área muestreada. B). Número de muestras con nematodos por área con presencia de nematodos.

3.3.8. Interrelación de los factores ambientales en la aparición de nematodos.

Si se analizan todos los factores ambientales de forma conjunta mediante el Análisis Factorial de Correspondencia Múltiple, la representación gráfica de dichos factores ambientales y las áreas muestreadas se puede observar en la figura 3.11

El primer eje principal explica el 11% de la variabilidad, mientras que el segundo eje explica el 9%, por lo que los dos ejes principales sobre los que se ha realizado la representación gráfica, explican únicamente el 20% de la variabilidad total. En la tabla 3.9 se muestran las correlaciones entre las variables analizadas y los dos primeros ejes considerados.

Podemos observar una tendencia en la representación de las áreas muestreadas a distribuirse en función de los ejes principales. En el extremo superior derecho se encuentran representadas las áreas que están situadas en hábitats con una mayor temperatura, menor altitud y baja precipitación. En el centro de los ejes se encuentra un gran grupo de áreas con unas temperaturas intermedias altas, una altitud intermedia baja y una precipitación baja. En el extremo inferior central del gráfico (fig. 3.11) se encuentran las áreas con una temperatura, precipitación y altitud intermedias, y finalmente en el extremo superior izquierdo se encuentran las áreas situadas a una mayor altitud con una temperatura media anual inferior y una mayor pluviometría.

Tanto la estacionalidad (primavera, otoño), como el tipo de hábitat (bosque, prado o suelo cultivado), se encuentran situados próximos en el centro de la gráfica, y aportan muy poca variabilidad a la hora de separar los diferentes grupos de áreas muestreadas.

Como se puede comprobar, las áreas con presencia de nematodos (subrayadas en la fig. 3.11) se encuentran representadas en cada uno de los cuatro grupos de áreas anteriormente descritos. Sin embargo, se puede observar una tendencia a una mayor presencia de nematodos en los grupos de áreas con una menor temperatura, mayor altitud y mayor precipitación, aspectos que ya han sido reflejados anteriormente en los análisis univariantes de cada uno de los factores ambientales considerados. Otro aspecto que se puede observar es la presencia de las áreas con nematodos de la familia Heterorhabditidae (sobre todo las muestras M147) entre las que tienen altitudes menores y temperaturas mayores (extremo superior derecho de la fig. 3.11).

Tabla 3.9 Coordenadas factoriales (primera columna), correlaciones (segunda columna) y contribuciones relativas (tercera columna) de las variables originales sobre los dos primeros ejes obtenidos en el análisis. **Leyenda:** PRI: primavera, OTO: otoño, CUL: cultivo, BOS: bosque, PRA: prado, AL: altitud, TE: temperatura, PL: pluviometría (orden ascendente de 1 a 9)

	AXE 1			AXE 2			
PRI	**	-0.082	0.010	0.1*	0.069	0.007	0.1*
OTO	**	0.128	0.011	0.2*	-0.103	0.007	0.2*
	**			0.4 *			0.3 *
AL1	**	0.738	0.079	2.4*	1.501	0.327	12.2*
AL2	**	0.407	0.040	1.1*	0.038	0.000	0.0*
AL3	**	0.410	0.047	1.3*	0.042	0.000	0.0*
AL4	**	0.401	0.037	1.0*	-0.225	0.012	0.4*
AL5	**	-0.088	0.001	0.0*	-1.427	0.161	6.4*
AL6	**	-0.679	0.019	0.6*	-1.017	0.043	1.8*
AL7	**	-0.709	0.036	1.1*	-1.747	0.218	8.7*
AL8	**	-2.603	0.433	13.9*	0.883	0.050	2.0*
AL9	**	-2.505	0.085	2.9*	0.754	0.008	0.3*
AL0	**	-3.232	0.213	7.1*	1.713	0.060	2.5*
	**			31.4 *			34.2 *
CUL	**	0.424	0.162	2.9*	0.287	0.074	1.7*
BOS	**	-0.199	0.019	0.4*	-0.290	0.041	1.2*
PRA	**	-0.669	0.112	3.1*	-0.205	0.010	0.4*
	**			6.4 *			3.2 *
TE1	**	-2.824	0.390	12.7*	1.244	0.076	3.1*
TE2	**	-2.335	0.390	12.4*	0.508	0.018	0.7*
TE3	**	-0.645	0.023	0.8*	-1.993	0.224	9.0*
TE4	**	-0.077	0.001	0.0*	-1.366	0.223	8.5*
TE5	**	0.323	0.026	0.7*	-0.263	0.017	0.6*
TE6	**	0.460	0.180	3.3*	0.157	0.021	0.5*
TE7	**	0.841	0.051	1.6*	2.110	0.318	12.6*
	**			31.6 *			35.0 *
PL1	**	0.597	0.017	0.6*	0.102	0.001	0.0*
PL2	**	0.476	0.041	1.2*	0.024	0.000	0.0*
PL3	**	0.706	0.119	3.3*	1.124	0.303	10.4*
PL4	**	0.340	0.029	0.8*	-0.132	0.004	0.1*
PL5	**	0.191	0.006	0.2*	-0.743	0.090	3.3*
PL6	**	-0.222	0.005	0.2*	-1.322	0.194	7.4*
PL7	**	-1.048	0.113	3.5*	-0.563	0.033	1.3*
PL8	**	-2.850	0.054	1.8*	0.808	0.004	0.2*
PL9	**	-2.863	0.585	18.7*	1.261	0.114	4.5*
	**			30.2 *			27.3 *

3.- Presencia de los nematodos entomopatógenos en Cataluña.

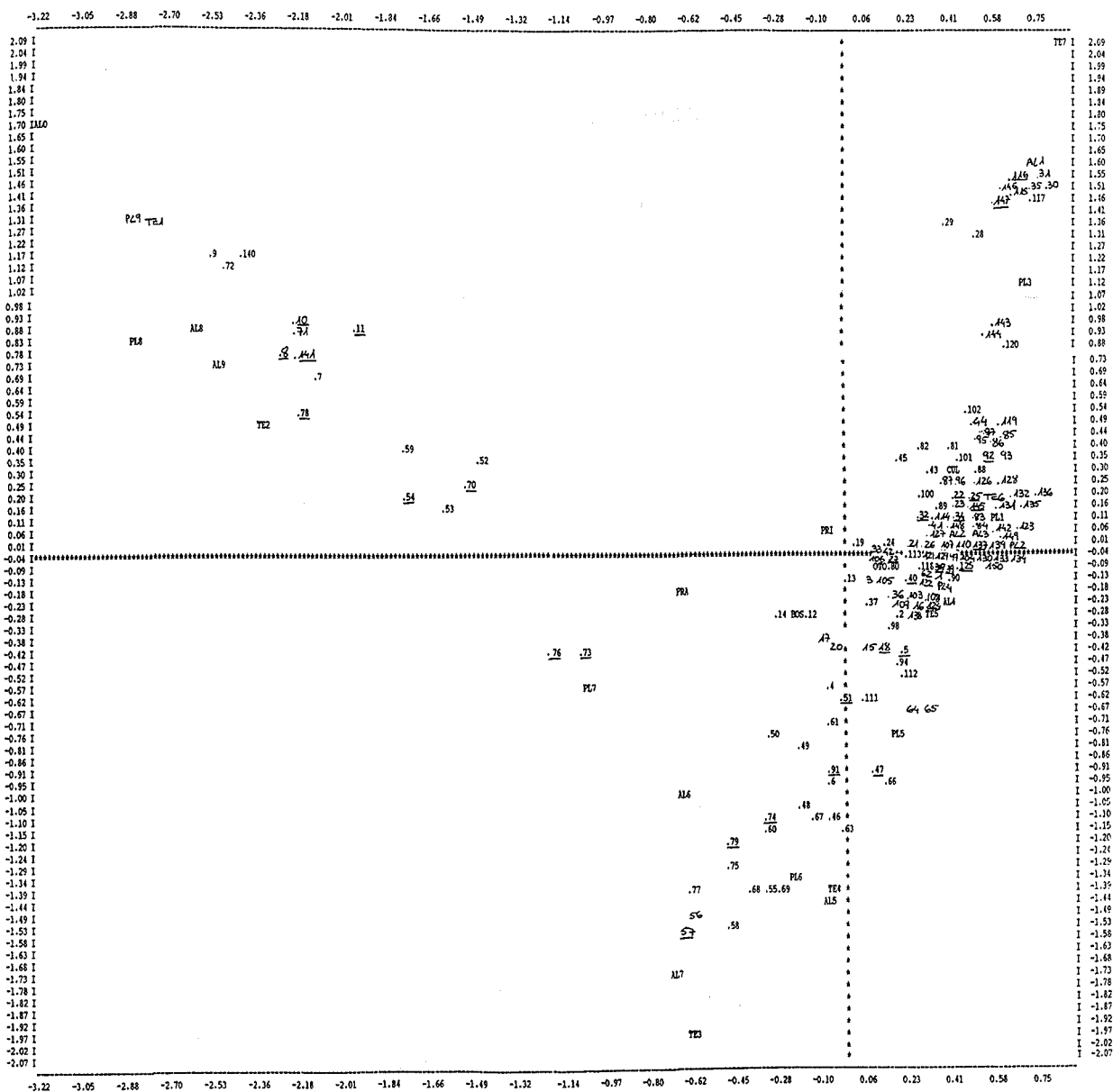


Figura 3.11. Representación de todas las muestras (números) y variables originales (AL: altitud, PL: pluviometría, TE: temperatura, BOS: bosque, PRA: prado, CUL: suelo cultivado, PRI: primavera, OTO: otoño) sobre los dos primeros ejes principales.

3.4. DISCUSIÓN

Los nematodos entomopatógenos están ampliamente distribuidos por toda Cataluña. La frecuencia de aparición del 23,3% es casi cuatro veces mayor a la obtenida por Deseo et al (1988) del 6% en Italia, y superior a la obtenida por otros autores en otros países europeos: 1,16% en Alemania (Ehlers et al, 1991), 3,75% en Irlanda del Norte (Blackshaw, 1988), 10,5% en Irlanda (Griffin et al., 1991), 14% en zonas costeras de Irlanda (Downes y Griffin, 1991), 2,2% en Escocia (Boag et al. 1992), y del resto del mundo: 19% en Australia (Akhurst y Bedding, 1986), 19% en Puerto Rico (Figueroa et al., 1993) y 6,8% en Hawai (Hara et al, 1991), 20% en Canadá (Mracek y Webster, 1993).

Sin embargo existen otros países en que los nematodos entomopatógenos son más comunes, al presentar una frecuencia de aparición superior a la encontrada en nuestro estudio: 25% en Suecia (Burman et al. 1986), 28% en Finlandia (Vänninen et al., 1989), 36,8% en Checoslovaquia (Mracek, 1980), 48,6% en Gran Bretaña (Hominick y Briscoe, 1990a) y 47,2% en Carolina del Norte (USA) (Akhurst y Brooks, 1984).

Por lo que se refiere a la aparición diferencial de las dos familias de nematodos entomopatógenos Steinernematidae y Heterorhabditidae, nuestros resultados muestran una mayor presencia de steinernemátidos (94,3%) que de heterorhabdítidos (5,7%). Estos resultados están en desacuerdo con los datos obtenidos por Deseo et al. (1988) en Italia (32% steinernemátidos y 68% de heterorhabdítidos), mientras que coinciden con los trabajos realizados en otros países: 100% de steinernemátidos en Alemania (Ehlers et al, 1991), Irlanda del Norte (Blackshaw, 1988), Suecia (Burman et al. 1986), Finlandia (Vänninen et al., 1989), Checoslovaquia (Mracek, 1980), y Escocia (Boag et al. 1992), el 99,75% y 98% en Gran Bretaña (Hominick y Briscoe, 1990a) e Irlanda (Griffin et al., 1991) respectivamente, y el 81% de steinernemátidos encontrados en Australia (Akhurst y Bedding, 1986). En Canadá Mracek y Webster (1993) han encontrado un 72% de steinernemátidos y un 28% de nematodos de la familia Heterorhabditidae.

Sin embargo en otros países existe un predominio de nematodos heterorhabdítidos como es el caso de Puerto Rico con un 100% de nematodos pertenecientes a esta familia (Roman y Beavers, 1982;

Figueroa et al., 1993), Hawaii con un 91,6% (Hara et al., 1991), Carolina del Norte (EEUU) con un 84%, y el 100% de heterorhabdítidos encontrado por Downes y Griffin (1991) en un muestreo realizado únicamente en zonas costeras de Irlanda.

Hominick y Briscoe (1990a) atribuyen esta diferente aparición de los nematodos heterorhabdítidos a la temperatura del suelo, ya que según Molyneux (1986) el límite inferior para el desarrollo de los nematodos pertenecientes a esta familia es de 12 °C, por lo que en países del norte de Europa o en climas fríos la presencia de estos nematodos será menor que la presencia de steinernemátidos. Este aspecto ha sido apoyado posteriormente por Boag et al. (1992), indicando que el sur de las Islas Británicas es el límite natural de presencia de esta familia. Del mismo modo Griffin et al. (1991) sugieren que la baja proporción de nematodos del género *Heterorhabditis* encontrado en Irlanda, indica que en el noroeste de Europa los nematodos heterorhabdítidos están cerca del límite de su rango de temperatura y que este aspecto es un factor limitante importante para la presencia de estos nematodos. Este hecho coincide con la nula presencia de heterorhabdítidos en Suecia, Finlandia y Alemania. Mientras que la predominancia de esta familia en Puerto Rico (Roman y Beavers (1982) y Hawaii (Hara et al., 1991) indican que los heterorhabdítidos están más adaptados a climas tropicales (Hara et al., 1991).

Sin embargo la escasa presencia de nematodos del género *Heterorhabditis* en nuestro muestreo (5,7%), indican que, aunque ninguna de las dos cepas encontradas han sido aisladas en regiones frías de Cataluña (de clima atlántico y clima de montaña), deben existir otros factores que delimitan su presencia generalizada en las áreas con un clima mediterráneo como las muestreadas en nuestro estudio. En este sentido tanto los trabajos realizados por Hara et al (1991) en Hawaii como por Downes i Griffin (1991) en Irlanda afirman que la presencia de nematodos heterorhabdítidos está exclusivamente restringida a suelos arenosos en las proximidades del mar. Nuestro trabajo confirma en parte esta teoría ya que aunque una muestra (M40) no se encuentra en las proximidades de la costa., la otra muestra de *Heterorhabditis* (M147), al igual que otras cepas de heterorhabdítidos aisladas en un muestreo posterior (ver capítulo 4.1) fueron aisladas en las proximidades del mar en suelos predominantemente arenosos.

La distribución contagiosa que presentan las muestras positivas en el total de áreas analizadas nos indica que cuando en una área se encuentran nematodos suelen ser detectados por más de una muestra. Como las cinco muestras de cada área fueron analizadas independientemente y se recogieron a una distancia entre sí de 1-3 metros, la existencia de una distribución contagiosa, con una aparición de nematodos en más de una muestra por área, nos indica la presencia generalizada de los nematodos entomopatógenos en estas áreas.

En el presente trabajo no hemos detectado diferencias estacionales en la aparición de nematodos en las dos estaciones en que hemos muestreado (primavera y otoño). Resultados similares han sido observados por Hominick y Briscoe (1990b) en Gran Bretaña.

Sin embargo en otros países se han encontrado diferencias significativas en la aparición estacional de los nematodos. Así Mracek (1980) en Checoslovaquia encontró una mayor presencia de nematodos en primavera y otoño que en verano, mientras que Akhurst y Bedding (1986) en Tasmania encontraron mayor número de nematodos en invierno y primavera que en verano y otoño, Blackshaw (1988) en el norte de Irlanda encontró más nematodos en otoño e invierno que en primavera y verano, y Griffin et al. (1991) encontraron nematodos a lo largo de todo el año pero con una menor proporción en mayo-junio.

Esta menor proporción de nematodos observada en primavera en países de clima frío, puede venir dada, entre otras posibles causas, por la mortalidad natural de las formas infectivas de los nematodos que han pasado el invierno en el suelo (Blackshaw, 1988).

Debido al clima mediterráneo de inviernos suaves en el que se encuentra nuestra zona de estudio, en nuestros resultados no se observa esta mortalidad natural de las formas infectivas, no existiendo diferencias significativas en cuanto a la aparición de nematodos entre primavera y otoño.

En el presente estudio no hemos detectado diferencias significativas en la aparición de nematodos en los tres hábitats muestreados (cultivo, bosque y prado) en el total de muestras analizadas. Resultados similares han sido obtenidos por Akhurst y Bedding (1986) en Tasmania

(Australia), Griffin et al (1991) en Irlanda, y Hominick y Briscoe (1990a) en Gran Bretaña. Estos últimos autores opinan que los nematodos entomopatógenos parecen ser, en este aspecto, especies poco especializadas pudiéndose encontrar en diversos tipos de hábitat.

Sin embargo en otros países han aparecido diferencias significativas en cuanto a la ocurrencia de estos nematodos en los tres hábitats. En Checoslovaquia los steinernemátidos fueron más comunes en bosques que en suelos cultivados y no aparecieron en prados (Mracek, 1980). En Carolina del Norte (EEUU), aparecieron menos nematodos en los bosques que en los suelos cultivados o prados (Akhurst y Brooks, 1984). En Escocia, Boag et al (1992) encontraron que los suelos de los prados presentaban una mayor ocurrencia de nematodos entomopatógenos que los suelos de bosques o los cultivados.

Según Akhurst y Brooks (1984) estas diferencias en la aparición de nematodos en los diversos hábitats de cada país puede ser debida a la particular distribución de los insectos hospedadores en cada hábitat. Sin embargo no hay que olvidar que aunque la presencia de insectos es crucial, las formas infectivas del nematodo deben permanecer vivas el tiempo suficiente para infectar un nuevo hospedador y asegurar así su existencia, por lo que las condiciones que afectan la supervivencia de estas formas infectivas, ambientales o edáficas, influyen en su distribución.

Vänninen et al. (1989) opinan que la presencia y supervivencia de los entomopatógenos en el suelo depende en gran medida de las condiciones ambientales estables del medio, incluyendo la continua o al menos regular presencia de insectos hospedadores. Por ello potencialmente tendrán más nematodos aquellos suelos que no están sometidos a un cultivo intensivo, sin laboreo de la tierra ni tratamientos químicos. En este sentido, Blackshaw (1988) sugiere que la menor presencia de nematodos en primavera en el muestreo realizado en Irlanda del Norte, es debido a que en estas fechas se inician las labores de cultivo. Sin embargo nuestros resultados parecen indicar lo contrario, aunque no hemos visto diferencias significativas en la aparición de los nematodos en los diferentes hábitats en el total de áreas muestreadas, si contemplamos únicamente aquellas áreas que han presentado nematodos, el número de muestras con nematodos, como índice de su abundancia, es significativamente mayor en cultivos que en prados y bosques. Este hecho nos indicaría que, dentro de las áreas que presentan nematodos

entomopatógenos, existe una mayor abundancia de nematodos en las áreas con un hábitat de cultivo que en los demás hábitats. En este sentido, Mracek y Webster (1993) observaron en Canadá una mayor aparición de nematodos en suelo sometidos a una intensa acción humana (suelos agrícolas) que en suelos con una menor o nula intervención humana, y consideran que esta mayor aparición de nematodos en suelos agrícola está en relación con una mayor presencia de insectos en los monocultivos.

Es probable que los suelos de cultivos, a pesar de no ser un hábitat estable, tengan un mayor aporte de insectos que los demás hábitats, y sea el equilibrio entre la existencia de hospedadores y las condiciones físico-ambientales el que determine la presencia o no de nematodos en un determinado hábitat.

Sobre la influencia de la altitud en la aparición de nematodos, así como de la temperatura y precipitación media anual (factores que están íntimamente relacionados con la altitud), no existen muchos trabajos que muestren una clara relación. Así Mracek (1980) no encuentra relación entre las altitudes que muestrea (150-1.000 m) y la presencia de nematodos, aunque no analiza ninguna muestra por encima de los 1.000 metros. Hara et al (1991) encuentra una relación entre la altitud y la aparición diferencial de las dos familias de nematodos entomopatógenos, determinando que a menor altitud existen un mayor número de muestras con heterorhabdítidos, mientras que según aumenta la altitud la presencia de steinernemátidos es predominante, no encontrando nematodos en las 35 muestras recogidas entre 901 y 4.200 m.

En nuestro trabajo hemos detectado nematodos a una altitud de 2.000 m, y observamos una clara tendencia a una mayor presencia de nematodos en áreas de mayor altitud y por lo tanto de mayor precipitación y menor temperatura. La presencia más elevada de nematodos a mayor precipitación es fácilmente explicable conociendo la importancia de la humedad en la supervivencia de las formas infectivas de estos nematodos. Sin embargo la tendencia a una mayor ocurrencia de nematodos steinernemátidos a temperaturas bajas no tiene una explicación tan clara. Una posible teoría ha sido dada por Hominick y Briscoe (1990b) al sugerir que los nematodos que se encuentran en hábitats con bajas temperaturas retrasan o prolongan su ciclo biológico en el interior del hospedador, lo cual les permite una mayor persistencia en el medio.

4.- ASPECTOS ECOLOGICOS DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELOS CULTIVADOS

4.1. OCURRENCIA DE NEMATODOS ENTOMOPATOGENOS EN SUELOS DE CULTIVOS HORTÍCOLAS.

4.1.1 Introduccion.

En el capítulo anterior hemos analizado la presencia de nematodos entomopatógenos en tres hábitats diferentes por toda la geografía catalana, y hemos observado un mayor número de muestras con nematodos en suelos cultivados que en bosques y prados. Este hecho nos incitó a muestrear de una forma más específica los suelos de cultivos intensivos, y más concretamente nos animó a realizar un exhaustivo muestreo sobre suelos de cultivos hortícolas. Estos cultivos, a priori, presentan una mayor potencialidad de presentar nematodos entomopatógenos, al ser un cultivo de regadío y al poseer generalmente una gran problemática de plagas de insectos, lo que representa un mayor número de posibles insectos hospedador para los nematodos.

En este capítulo se presentan los muestreos realizados en dos importantes zonas hortícolas que rodean Barcelona: el Baix Llobregat y el Maresme.

4.1.2. Materiales y Métodos.

Las muestras de suelo del Baix Llobregat se recogieron durante los meses de junio y julio de 1990 en 55 campos de cultivos hortícolas de los términos municipales de Gavá, Viladecans, St. Boi de Llobregat y El Prat de Llobregat. De los 55 campos, 38 eran cultivos al aire libre, mientras que 17 eran cultivos bajo cubierta de plástico (invernaderos).

Las muestras del Maresme fueron recogidas en los meses de junio y julio de 1991 en 50 campos (48 al aire libre y 2 en invernaderos), situados en los términos municipales de Mataró, St. Joan de Vilassar, St. Pere de Premià, Premià de Mar, Teià y El Masnou.

Debido al elevado uso de productos fitosanitarios en estas zonas hortícolas, se elegían suelos que no hubiesen sufrido desinfección total en los dos últimos años. Este requisito no se podía cumplir en los suelos de los invernaderos muestreados, debido a la práctica habitual de estos tratamientos en los suelos de estos cultivos.

De cada parcela se tomaba una muestra compuesta de tres submuestra. Cada submuestra se recogía en 1 m² a una profundidad entre 5 a 20 cm. y una separación entre ellas de 1 a 3 metros, y se guardaban en una bolsa de polietileno etiquetada para su traslado al laboratorio, teniendo un especial cuidado de no someterlas a temperaturas elevadas. En cada campo se anotaba el cultivo existente en ese momento (en caso de ser posible se anotaba también el cultivo anterior al actual) la fecha de recogida y su situación cartográfica.

Una vez en el laboratorio la muestra era repartida en tres recipientes de plástico de 1.000 cc. donde se realizaba la extracción de los nematodos mediante la técnica de "trampa de Galleria" de Bedding y Akhurst (1975), con las mismas modificaciones del muestreo general del capítulo anterior.

Con una parte de la tierra de cada campo se realizaron análisis para determinar los niveles de fertilidad del suelo. Estos análisis fueron realizados en el Laboratori Agrari de la Direcció General de Producció i Indústries Agroalimentàries del Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya. Los parámetros analizados y la metodología utilizada en los análisis se muestran en la tabla 4.1.

Los datos obtenidos en el análisis de fertilidad de los suelos de las dos zonas hortícolas muestreadas, se utilizaron para caracterizar mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP) y un posterior análisis Cluster (a partir de las coordenadas de los factores obtenidos en el ACP) (STAT-ITCF), los posibles grupos diferentes de suelo en función de la textura y de las características organoquímicas obtenidas.

Las medias de cada uno de los factores determinados en estos análisis se compararon entre los suelos con presencia de nematodos y los que no tenían nematodos, mediante la prueba t de student (T-TEST, SPSS-PC) para aquellas variables que cumplieran la condición de normalidad, y mediante la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov (NPAR TEST K-S, SPSS-PC) para las variables que no la cumplieran.

Para determinar las características de los suelos con presencia de nematodos, se han realizado Análisis de Componentes Principales (ACP) y Análisis de Cluster de las muestras de suelo del Baix Llobregat y Maresme tratadas independientemente. Igualmente se han tratado de

forma separada las características organoquímicas del análisis de fertilidad y las características granulométricas de textura de los suelos de ambas zonas.

Tabla 4.1. Parámetros y metodología utilizada en los análisis de fertilidad de las muestras.

	UNIDADES	METODO UTILIZADO
<u>FERTILIDAD</u>		
- Salinidad.	dS/m.	Conductivimétrico (extracto 1:5)
- pH	-	Potenciométrico (en suspensión acuosa 1:2.5)
- Materia Orgánica Oxidable	% p/p	Electroquímico (oxidación via húmeda)
- Fosforo (P)	mg./ Kg.	Colorimétrico (M. Olsen) (Extracción NaHCO ₃ 0,5M)
- Potasio (K+)	mg./ Kg.	Fotometría de llama. (Extracción NH ₄ AcO 1N)
<u>TEXTURA</u> (tamaño de partícula)		
- Arena Gruesa (0,5 < D < 2 mm)	% p/p	Tamices. Gravimétrico
- Arena Fina (0,05 < D < 0,5)	% p/p	Tamices. Gravimétrico
- Arena (0,05 < D < 2 mm)	% p/p	Tamices. Gravimétrico
- Limo (0,002 < D < 0,05 mm)	% p/p	Pipeta Robinson. Gravimétrico
- Arcilla (D < 0,002 mm)	% p/p	Pipeta Robinson. Gravimétrico
- Clase textural U.S.D.A.	-	Cálculo Aritmético

Leyenda de las tablas 3.2 y 3.3 del análisis edáfico de los suelos del Baix Lobregat y del Maresme:

CE: Conductividad eléctrica.

ARG: Arena gruesa.

MO: Materia orgánica.

ARF: Arena fina.

P: Fosforo.

ART: Arena total.

K: Potasio.

ARC: Arcilla.

Clasif.: Clase textual U.S.D.A. (F: franco; Ll: limo; Ar: arena; Ag: arcilla)

4.1.3. Resultados.

1) Estudio edáfico de las dos zonas muestreadas.

Los resultados de los análisis de fertilidad y de textura y de los suelos del Baix Llobregat y del Maresme se pueden observar en las tablas 4.2 y 4.3 respectivamente.

A.- Análisis granulométrico.

El análisis de textura muestra como la mayor parte de los suelos de ambas zonas son francos con ligeras tendencias hacia un mayor contenido de limo, arcilla, o de arena.

En la fig. 4.1 se muestra la representación gráfica de las variables en el Análisis de Componentes Principales de los análisis de textura, sobre los dos primeros ejes principales que explican el 93,3% de la variabilidad total de las muestras de ambas zonas. En la tabla 4.4 se muestran las correlaciones entre las variables y los ejes principales.

El primer eje, que explica el 72,3%, separa por su parte negativa aquellos suelos francos con un contenido mayor de limo y arcilla y por su parte positiva, aquellos que tienen un mayor contenido de arena, mientras que el segundo eje que explica el 21% de la variabilidad de las muestras separa en su parte negativa aquellos suelos franco arenosos con un mayor contenido de arena gruesa y por su parte positiva los que presentan un mayor contenido de arena fina.

La representación de los suelos del Baix Llobregat y del Maresme sobre estos dos ejes principales (fig. 4.2) nos muestran las diferencias entre los suelos de ambas zonas. La clasificación automática (cluster) de los suelos de ambas zonas a partir de las coordenadas de los ejes principales (fig. 4.3), nos separa los tres grandes grupos que señalamos en la fig. 4.2. La mayor parte de los suelos del Baix Llobregat presentan características de suelos francos con cierta tendencia a un mayor contenido de limo y arcilla (hacia la parte izquierda de la gráfica) y unos pocos suelos de esta zona presentan características de franco arenoso con un mayor contenido de arena fina (parte superior derecha de la gráfica).

4.1- Ocurrencia de nematodos entomopatógenos en suelos de cultivos hortícolas.

Tabla 4.1. Análisis edáfico de fertilidad de los suelos muestreados en el Baix Llobregat. (Leyenda en la página 63).

M	CE	pH	MO	P	K	ARG	ARF	ART	LIMO	ARC	CLASIF.
P1	0,33	8,17	3,71	106,86	689,31	2,74	22,13	24,87	59,42	15,71	F-LI
P2	1,16	7,64	4,13	77,24	550,17	1,84	23,26	25,1	56,89	18,01	F-LI
P3	0,51	8,09	3,06	107,93	408,34	1,25	43,52	44,77	40,46	14,77	F
P4	0,52	8,01	3,84	147,7	907,51	1,38	13,61	14,99	60,95	24,06	F-LI
P4-B	0,42	8,1	3,41	106,12	725,45	1,57	15,04	16,61	60,87	22,52	F-LI
P5	0,51	8,03	4,32	90,5	532,32	5,49	17,27	22,76	56,15	21,09	F-LI
P6	0,46	7,88	3,09	73,25	490,73	1,88	31,69	33,57	52,93	13,49	F-LI
P7	0,6	8,16	2,43	50,97	624,14	1,35	34,65	36	51,21	12,79	F-LI
P7-B	0,57	7,9	4,39	225,81	797,22	2,33	30,68	33,01	51,5	15,49	F-LI
P8	1,59	7,96	3,97	147,56	998,98	2,75	28,73	31,48	48,87	19,65	F
P9	0,54	8,36	2,28	88,04	701,53	2,28	17,51	19,59	63,04	17,17	F-LI
P10	0,71	7,98	5,43	292,24	1053,48	2,05	20,6	22,65	57,75	19,58	F-LI
P11	0,51	7,98	4,58	137,94	864,65	8,19	29,78	37,97	42,36	19,67	F
P12	0,3	8,19	3,03	75,34	399,39	1,57	31,31	32,88	52,68	14,44	F-LI
P13	0,32	8,09	2,97	73,39	212,25	0,94	28,45	29,39	56,29	14,32	F-LI
P14	0,36	7,98	3,84	121,3	484,6	1,26	32,13	33,39	52,88	13,73	F-LI
P15	0,27	8,03	3,45	102,35	531,83	3,04	35,19	38,23	47,66	14,11	F
P16	1,18	7,45	4,72	138,96	1112,5	2,02	27,93	29,95	54,37	15,68	F-LI
P17	0,6	8,03	1,92	66,62	435,14	2,88	69,69	72,57	17,14	10,29	F-Ar
P18	0,33	8,07	2,18	53,39	311,57	13,35	50,93	64,28	22,56	13,16	F-Ar
P19	0,44	8,54	0,7	13,7	141,19	4,45	83,01	87,46	9,15	3,39	ARENA
P20	0,45	7,88	1,58	75,68	300,1	0,51	89,48	89,99	3,45	6,56	ARENA
P21	0,23	7,89	1,7	111,83	230,51	2,06	82,48	84,54	8,88	6,58	A-F
P22	0,3	7,91	2	37,16	70,16	2,25	89,32	91,57	5,96	2,47	ARENA
P23	1,42	7,51	1,7	135,23	624,93	7,29	69,47	76,76	15,31	7,93	F-Ar
P24	0,55	7,87	2,1	121,39	384,13	1,24	64,53	65,77	19,66	14,57	F-Ar
P25	1,71	8	3,38	107,98	637,01	4,01	11,52	15,53	52,61	31,8	F-Ag-LI
P26	1,57	7,68	3,67	144,92	641,96	1,91	12,93	14,84	54,64	30,52	F-Ag-LI
P27	0,52	7,79	3,7	90,66	593,95	3,7	16,82	20,52	51,94	27,54	F-Ag
P28	1,58	7,72	3,53	100,87	469,42	3,17	31,67	34,84	37,11	28,05	F-Ag
P29	0,4	7,99	3,16	49,49	299,46	2,2	31,34	33,54	48,38	19,08	F
P29-B	0,77	7,51	4,1	101,34	487,37	4,03	30,32	34,35	44,49	21,16	F
P30	1,58	7,88	2,42	47,56	244,66	17,01	38,17	55,18	32,39	12,43	F-Ar
P31	2,37	7,97	3,08	137,59	282,41	6,1	25,23	31,33	46,68	21,99	F
P32	0,73	7,95	2,99	69,05	271,6	2,1	15,44	17,54	53,96	28,5	F-Ag-LI
P33	0,55	8,18	2,57	121,91	275,47	5,62	36,45	42,07	34,53	23,4	F
P34	0,44	8,03	2,73	51,72	321,61	10,74	41,29	52,03	27,47	20,5	F-Ag-Ar
P35	0,41	7,42	5,46	115,65	342,17	13,54	50,59	64,13	21,44	14,43	F-Ar
P36	0,88	8,08	1,09	37,53	313,55	3,67	44,13	47,8	37,55	14,65	F
P37	0,86	7,81	3,65	121,13	212,12	1,47	29,41	30,88	58,43	10,69	F-LI
P38	1,08	7,92	4,59	141,19	378,41	2,13	29,18	31,31	50,48	18,21	F-LI
P39	2,13	7,96	4,16	181,28	415,07	2,97	26,78	29,75	50,43	19,82	F-LI
P40	1,8	7,26	4,71	258,09	650,36	8,01	28,52	36,54	44,55	18,91	F
P41	0,62	8,18	3,66	87,96	404,05	1,9	7,61	9,51	63,67	26,82	F-LI
P42	0,77	8,16	3,25	55,72	386,57	1,89	9,25	11,14	59,97	28,89	F-Ag-LI
P43	0,6	8,18	2,44	48,8	258,71	0,3	12,93	13,23	61,57	25,2	F-LI
P44	0,61	8	3,16	48,51	352,14	1,68	6,31	8	63,97	28,03	F-Ag-LI
P45	1,83	7,9	2,68	81,63	474,24	1,25	31,77	33,02	49,58	17,39	F
P46	0,88	7,84	1,81	61,1	217,39	1,13	58,64	59,77	29,09	11,14	F-Ar
P47	1,02	7,84	1,76	102,26	659,09	3,94	21,37	25,31	50,4	24,29	F-LI
P48	1,35	7,08	3,21	106,73	804,92	5,25	20,61	25,86	50,2	23,94	F-LI
P49	0,88	7,95	3,58	123,44	400,88	4,65	20,4	25,05	49,98	24,97	F
P50	0,48	8,04	2,08	57,32	123,96	4,34	60,24	64,58	24,83	10,59	F-Ar
P51	0,58	7,66	3,24	99,29	275,17	4,71	38,57	43,28	41,74	14,98	F
P52	0,63	7,76	3,85	89,69	264,86	9,11	26,27	35,38	43,85	20,77	F

4.1- Ocurrencia de nematodos entomopatógenos en suelos de cultivos hortícolas.

Tabla 4.3. Análisis edáfico de fertilidad de los suelos muestreados en el Maresme.
(Leyenda en la página 63).

M	CE	pH	MO	P	K	ARG	ARF	ART	LIMO	ARC	CLASIF.
MA1	0,23	7,98	2,95	96,17	453,39	13,34	39,29	52,63	26,91	20,46	F-AG-Af
MA2	0,17	8,23	1,93	48,69	328,14	18,2	39,92	58,12	23,9	17,98	F-AR
MA3	0,16	8,3	1,52	25,6	122,84	29,91	44,3	74,21	16,29	9,5	F-AR
MA4	0,15	7,88	2,64	101,78	87,37	39,44	41,62	81,06	10	8,94	A-F
MA5	0,18	8,1	2,45	45,6	143,37	29,97	44,85	74,82	14,58	10,6	F-AR
MA6	0,21	6,93	2,02	115,67	167,19	31,24	43,71	74,95	14,39	10,66	F-AR
MA7	0,09	5,97	1,42	48,35	101,91	26,18	47,13	73,31	14,59	12,1	F-AR
MA8	0,15	7,77	2,16	70,01	112,73	46,23	39,83	86,06	7,75	6,19	A-F
MA9	0,12	8,25	0,75	29,57	88,64	41	38,66	79,66	11,4	8,94	A-F
MA10	0,19	7,37	2,39	106,4	477,68	41,79	35,86	77,65	9,37	12,98	F-AR
MA11	0,19	7,56	2,12	101,48	130,27	39,63	39,32	78,95	11,77	9,28	F-AR
MA12	0,24	7,82	1,83	70,6	132,21	25,41	47,22	72,63	17,5	9,87	F-AR
MA13	0,38	7,12	3,14	81,83	144,2	30,9	53,75	84,65	8,47	6,88	A-F
MA14	0,3	7,28	5,64	323,92	350,9	35,5	32,9	68,39	15,66	15,95	F-AR
MA15	0,67	5,5	4,79	166,11	478,59	22,09	41,19	63,29	18,11	18,6	F-AR
MA16	0,4	7,35	4,25	187,58	126,26	26,38	42,16	68,54	15,38	16,08	F-AR
MA17	0,61	7,63	3,95	101,76	227,82	33,51	38,67	72,18	13,92	13,9	F-AR
MA18	0,43	6,99	5,35	182,18	317,3	33,37	43,45	76,82	12,46	10,72	F-AR
MA19	0,43	7,43	4,33	108,61	447,65	20,7	37,37	58,06	20,46	21,48	F-AG-LI
MA20	0,34	7,47	4,53	164,18	233,68	25,56	37,59	63,15	17,33	19,52	F-AR
MA21	0,24	7,94	7,09	75,18	197,34	43,42	36,56	79,98	8,06	11,96	F-AR
MA22	0,17	8,17	2,66	99,46	292,28	41,48	37,53	79	10,98	10,02	F-AR
MA23	0,31	7,7	3,58	117,5	153,76	24,21	42,92	67,12	16,83	16,05	F-AR
MA24	0,47	7,92	2,5	147,17	347	27,44	40,23	67,67	17,22	15,11	F-AR
MA25	0,15	8,27	1,37	32,31	101,11	44,61	36,1	80,71	6,64	12,65	F-AR
MA26	0,65	7,39	5,14	204,9	701,42	20,43	41,93	62,35	20,34	17,31	F-AR
MA27	0,18	8,42	0,79	21,73	54,6	38,92	47,87	86,78	7,33	5,89	A-F
MA28	0,19	8,12	1,65	30,91	153,07	35,6	43	78,6	11,28	10,12	F-AR
MA29	0,3	7,98	1,61	54,87	114,25	36,41	46,36	82,77	9,44	7,79	A-F
MA30	0,32	7,95	3,64	92,94	128,37	39,56	47,11	86,67	6,11	7,23	A-F
MA31	0,17	8,45	0,84	40,17	93,43	44,34	31,29	75,63	14,9	9,47	F-AR
MA32	0,36	8,08	2,07	113,81	225,33	16,25	41,1	57,35	21,29	21,36	F-AG-LI
MA33	0,31	7,97	2,27	99,2	173,43	28,88	46,37	75,26	15,43	9,31	F-AR
MA34	0,32	7,74	3,28	99,2	276,31	25,1	43,72	68,82	19,16	12,02	F-AR
MA35	0,33	7,99	2,37	133,15	252,05	21,02	36,62	57,65	27,07	15,28	F-AR
MA36	0,19	8,39	1,67	46,72	107,43	47,94	28,8	76,75	12,87	10,38	F-AR
MA37	0,27	7,96	2,73	127,37	152,28	31,42	36,64	68,06	19,37	12,57	F-AR
MA38	0,17	8,49	1,34	30,1	80,97	27,41	44,25	71,66	19,67	8,67	F-AR
MA39	0,16	8,17	1,74	122,38	201,52	35,63	35,32	70,95	18,76	10,29	F-AR
MA40	0,19	6,89	1,94	160,42	151,52	38,5	39,28	77,78	14,08	8,14	F-AR
MA41	0,38	5,39	2,41	126,98	201,6	45,56	42,14	87,71	9,09	3,2	ARENA
MA42	0,17	6,61	3,77	106,39	141,13	39,75	44,37	84,12	9,79	6,09	A-F
MA43	0,37	6,26	3,2	100	108,13	24,24	47,86	72,1	15,32	12,58	F-AR
MA44	0,28	7,53	3,58	81,53	476,63	16,08	34,71	50,79	27,59	21,62	F-AG-LI
MA45	0,6	5,8	5,95	184,51	189,13	25,19	52,54	77,73	12,71	9,56	F-AR
MA46	0,42	7,55	2,85	69,77	71,32	21	60,29	81,29	10,51	8,2	AR-F
MA47	0,24	7,73	1,65	35,15	81,97	26,7	41,34	68,04	18,16	13,8	F-AR
MA48	0,38	7,33	1,84	66,82	107,78	21	48,2	69,2	19,07	11,73	F-AR
MA49	0,17	6,78	2,08	68,85	119,72	37,33	38,47	75,8	13,87	10,33	F-AR
MA50	0,36	7,41	3,5	85,85	182,22	30,91	41,32	72,23	14,74	13,03	F-AR

4.1- Ocurrencia de nematodos entomopatógenos en suelos de cultivos hortícolas.

Tabla 4.4. Correlación de las variables consideradas en el análisis de textura con los dos ejes principales del ACP. Primera columna: correlación, Segunda columna: correlación al cuadrado. ARG: arena gruesa, ARF: arean fina, LIM: limo, ARC: arcilla.

		AXE 1		AXE 2	
ARG **	0.7342	0.5391 *	-0.6788	0.4607 *	
ARF **	0.7988	0.6381 *	0.5803	0.3367 *	
LIMO **	-0.9568	0.9155 *	0.1200	0.0144 *	
ARC **	-0.8943	0.7997 *	-0.1674	0.0280 *	

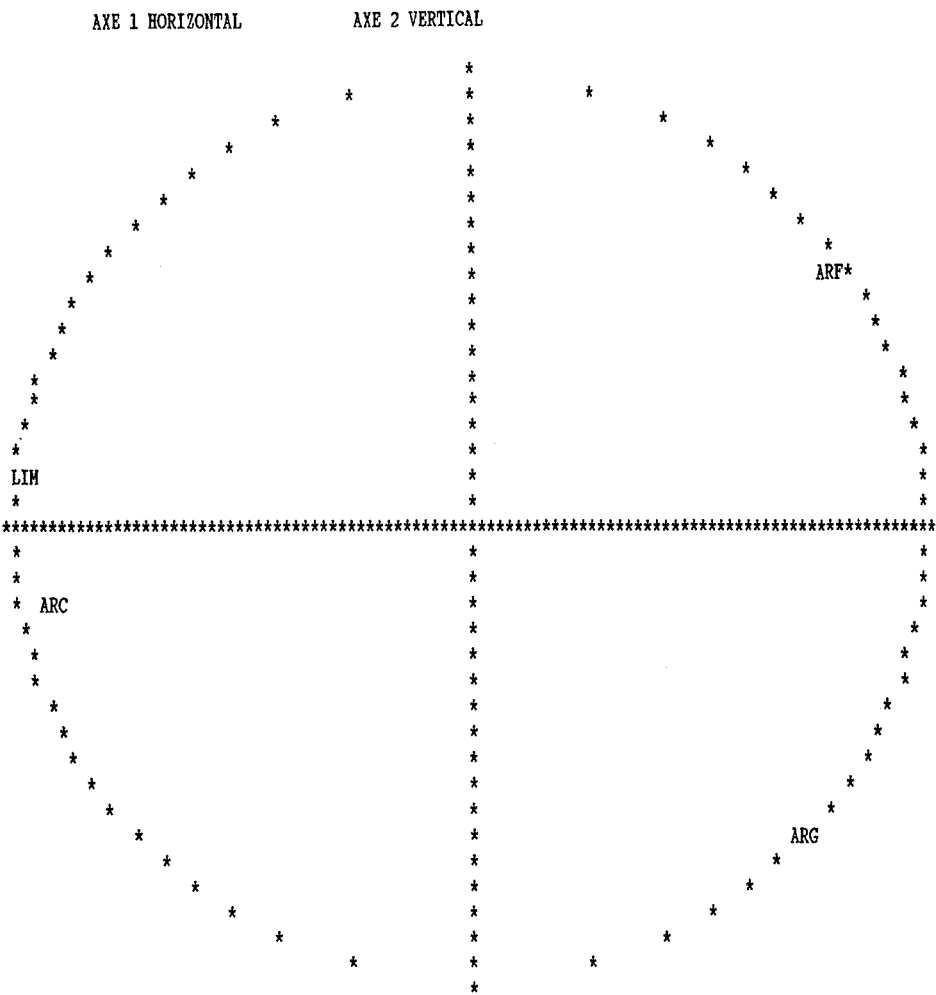


Figura 4.1. Representación de las variables consideradas en el análisis de textura sobre los dos ejes principales. ARG: arena gruesa, ARF: arean fina, LIM: limo, ARC: arcilla.

4.1- Ocurrencia de nematodos entomopatógenos en suelos de cultivos hortícolas.

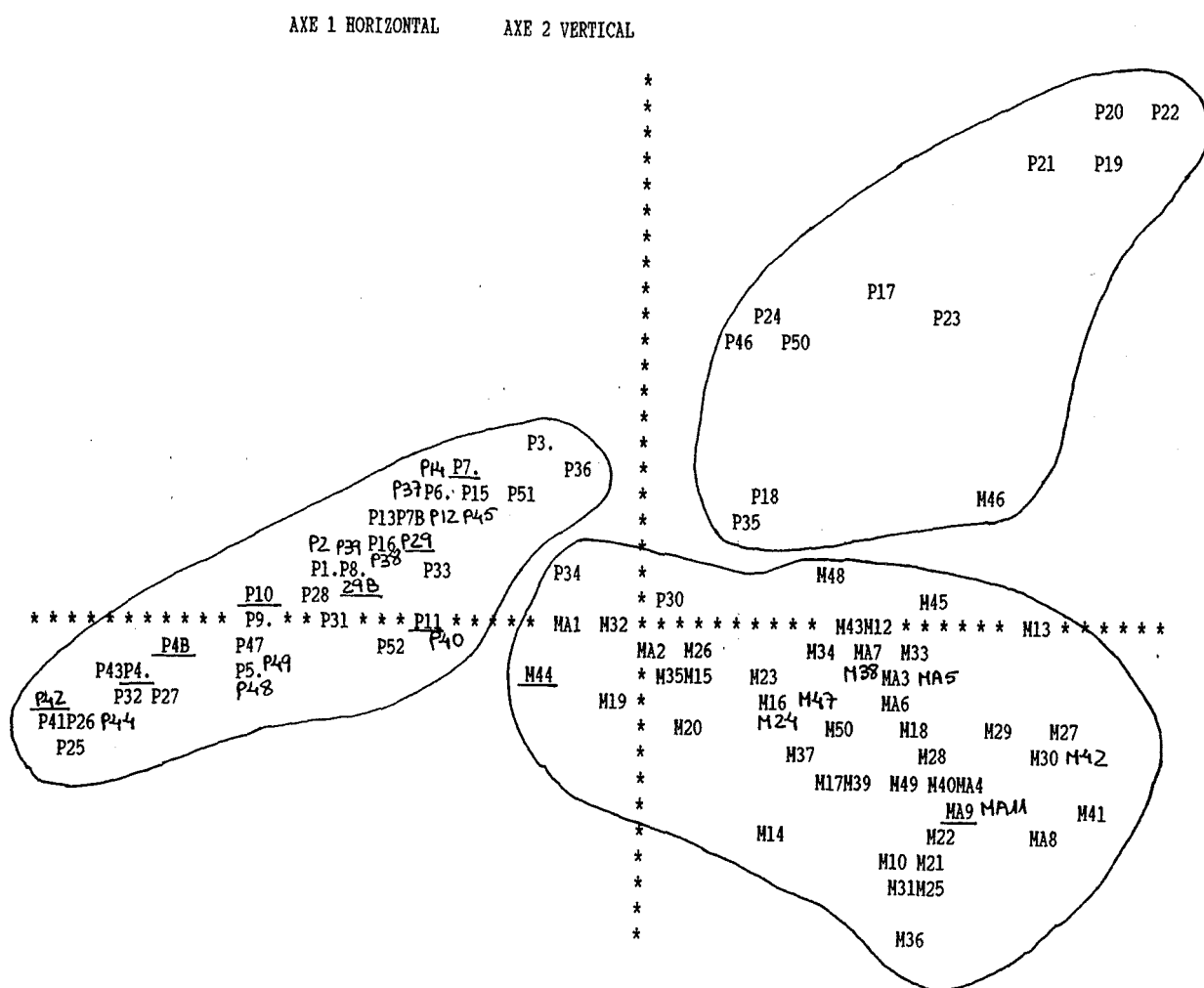


Figura 4.2. Representación de las muestras de suelos del Baix Llobregat y del Maresme sobre los dos primeros ejes principales según sus características granulométricas..

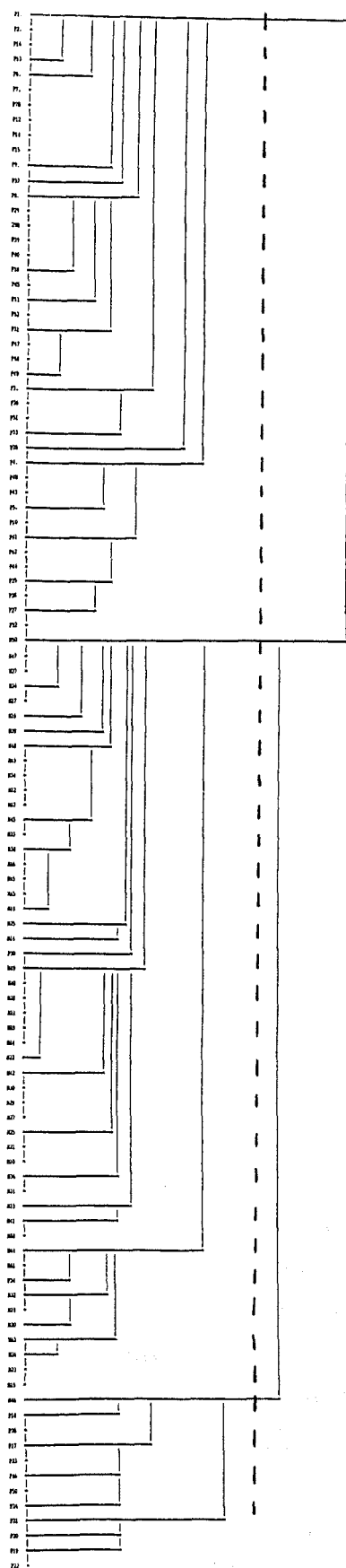


Figura 4.3. Dendrograma de las muestras de suelo del Baix Llobregat y del Maresme, clasificados según sus características granulométricas. La línea discontinua indica el lugar por el que se corta el dendrograma para separar las clases.

Los suelos del Maresme, sin embargo, presentan características de suelos francos con una mayor proporción de arena gruesa (parte central e inferior derecha de la gráfica) (fig. 4.2).

Las diferencias aparecidas, concuerdan con las características propias de cada zona estudiada. El Baix Llobregat es una zona de llanura deltaica con un aporte de sedimentos por parte del río, este hecho le confiere unas características de suelos aluviales y por lo tanto una mayor cantidad de limo. El Maresme, sin embargo, tiene una mayor influencia del sustrato granodiorítico de la cordillera litoral, por lo que presenta unas características de suelos francos pero con una mayor proporción de arena.

B.- Análisis de fertilidad.

El análisis de fertilidad de los suelos de estas zonas hortícolas, nos muestran que en general son suelos con una conductividad eléctrica relativamente elevada lo que muestra que son suelos medianamente salinos (0,56 dS/m) con valores que van de 0,09 dS/m hasta un máximo de 2,37 dS/m.

Los valores del pH oscilan entre 5,39 y 8,54 presentando un valor medio de 7,74 que corresponde a las características de los suelos cultivados medianamente básicos (según clasificación USDA 1971).

La materia orgánica oxidable presenta un valor medio de 3% p/p con un valor mínimo de 0,7% y máximo de 7,09% p/p.

El fósforo asimilable de los suelos de estos cultivos hortícolas es muy variable presentando un valor medio de 100,7 mg./kg. y unos valores extremos de 13,7 y 323,9 mg./kg.

El potasio asimilable también presenta una gran variabilidad, a causa, al igual que en el caso del fósforo, del diferente abonado mineral que se realiza en estos campos, presentando el potasio un valor medio de 346,2 mg./kg. (54,6- 1112,5 mg./kg.).

En la fig. 4.4 se muestra la representación gráfica de las variables consideradas en el Análisis de Componentes Principales del análisis de fertilidad, sobre los dos primeros ejes principales que explican el 72,2% de la variabilidad total de las muestras de los suelos del Baix Llobregat y del Maresme. En la tabla 4.5 se muestran las correlaciones entre las variables y los ejes principales.

El primer eje, que explica el 47,9% de la variabilidad nos separa

por su parte positiva aquellos suelos con una mayor cantidad de fósforo, materia orgánica y potasio y por su parte negativa aquellos suelos con un mayor pH, mientras que el segundo eje que explica el 24,3% de la variabilidad total separa por su parte positiva los suelos con un mayor pH y una mayor salinidad (C.E.).

La representación de todos los suelos sobre estos dos ejes principales (fig. 4.5) nos muestran las pequeñas diferencias entre los suelos del Baix Llobregat y del Maresme. La clasificación automática de estos suelos (fig. 4.6) no discrimina unos grupos muy definidos, sin embargo, podemos ver que en general los suelos del Baix Llobregat presentan una mayor salinidad, pH y cantidad de potasio asimilable que los suelos del Maresme. Esta mayor salinidad de los suelos del Baix Llobregat, debida a las características deltaicas de la zona, va asociada a una mayor presencia de sodio. En relación con este hecho, la presencia de carbonatos, indicada por el elevado pH observado (comprendido entre 7 y 8,5), implica la presencia de calcio que puede amortiguar el efecto negativo de los altos niveles de sodio de estos suelos.

Tabla 4.5. Correlación de las variables del análisis organoquímico con los dos ejes principales considerados en el ACP. Primera columna: correlación, Segunda columna: correlación al cuadrado. CE: conductividad eléctrica, pH, MO: materia orgánica, P:fosforo , K:potasio.

	AXE 1		AXE 2	
CE **	0.5768	0.3327 *	0.5127	0.2629 *
pH **	-0.3581	0.1282 *	0.7990	0.6383 *
MO **	0.8265	0.6830 *	-0.2025	0.0410 *
P **	0.8446	0.7133 *	-0.2218	0.0492 *
K **	0.7332	0.5375 *	0.4706	0.2215 *

4.1- Ocurrencia de nematodos entomopatógenos en suelos de cultivos hortícolas.

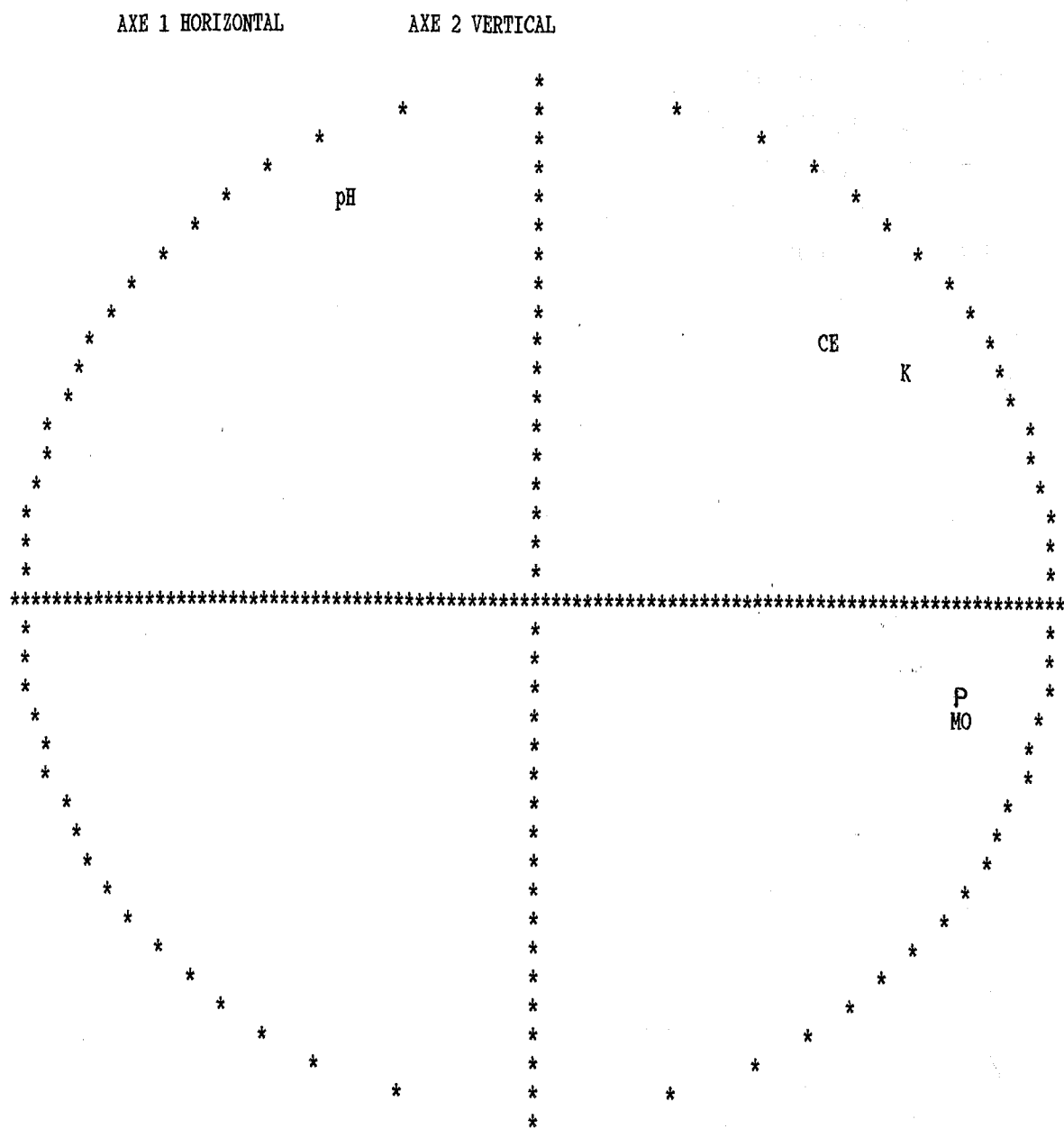


Figura 4.4. Representación de las variables consideradas en el análisis de fertilidad sobre los dos ejes principales. CE: conductividad eléctrica, pH, MO: materia orgánica, P: fosforo , K: potasio

[illegible]

73

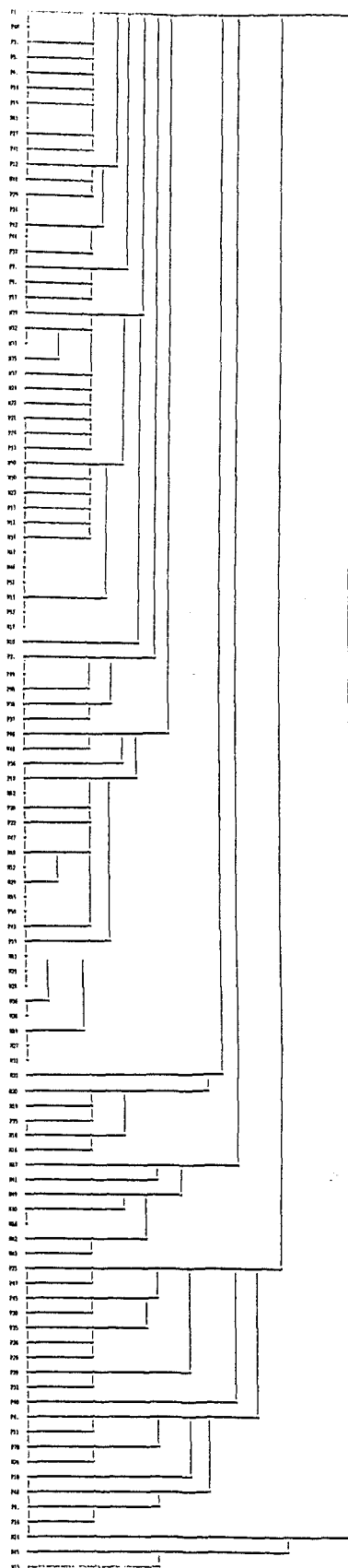


Figura 4.6. Dendrograma de las muestras de suelo del Baix Llobregat y del Maresme, clasificados según sus características organoquímicas.

2) Aparición de nematodos entomopatógenos.

De los 55 campos muestreados en el Baix Llobregat sólo 5 (9,1%) presentaban nematodos entomopatógenos, mientras que de los 50 campos que se analizaron en el Maresme, únicamente en 2 (4%) se detectaron nematodos. Si lo contemplamos de forma global, de los 105 campos de cultivos hortícolas que hemos muestreado, se han encontrado nematodos entomopatógenos en 7 (6,7%). De las 7 especies de nematodos aisladas, 6 pertenecían a nematodos de la familia Heterorhabditidae y únicamente una pertenecía a la familia Steinernematidae (muestra P7, del Baix Llobregat).

Posteriormente se realizaron muestreos repetidos en aquellos campos del Baix Llobregat en los que se había detectado nematodos y en otros 5 campos próximos a ellos, en dos de los cuales también fueron encontrados nematodos heterorhabdítidos (P4B y P29B). Si bien estos dos nuevos campos con nematodos se consideran cuando se analiza la importancia de las características edáficas en la aparición de nematodos, no se han considerado al analizar la frecuencia inicial de ocurrencia de nematodos entomopatógenos en las zonas hortícolas.

Cabe destacar que de los 19 invernaderos muestreados en ninguno de ellos hemos detectado la presencia de nematodos entomopatógenos.

La presencia de nematodos entomopatógenos en los suelos de cultivos hortícolas (6,7%) es significativamente menor que la del hábitat "cultivo" (28,2%) ($X^2 = 13,47$, g.l. = 1, $p < 0,001$), y la del global de hábitats (23,3%) ($X^2 = 11,29$, g.l. = 1, $p < 0,001$) analizados en el apartado anterior.

A.- Influencia de la granulometría del suelo.

Los valores de las características granulométricas de los suelos con nematodos entomopatógenos del Baix Llobregat y del Maresme, la media y desviación típica, así como la media y desviación típica de los suelos en que no han aparecido nematodos se muestran en la tabla 4.6.

El porcentaje de arena gruesa de los suelos con nematodos no difiere significativamente del encontrado en los suelos sin nematodos (Test Kolmogorov-Smirnov, $p > 0,05$), pero el de arena fina y arena total es significativamente menor (T-TEST, $p = 0,008$, y Test Kolmogorov-Smirnov, $p = 0,02$ respectivamente). Las proporciones de limo y arcilla de los suelos con nematodos son significativamente mayores que las de los suelos sin nematodos. (Test Kolmogorov-Smirnov, $p = 0,03$ para el limo y T-TEST, $p = 0,03$ para la arcilla).

Estas características granulométricas de los suelos que presentan nematodos nos permiten clasificarlos dentro de la categoría U.S.D.A. de suelos francos, mientras que los suelos que no presentaban nematodos presentan unas características de suelos franco arenosos (Tabla 4.6).

4.1- Ocurrencia de nematodos entomopatógenos en suelos de cultivos hortícolas.

Tabla 4.6. Características granulométricas de los suelos hortícolas del Baix Llobregat y del Maresme.

	ARENA GRUESA (0,5 < D < 2mm)	ARENA FINA (0,05 < D < 0,5mm)	ARENA TOTAL (0,05 < D < 2mm)	LIMO (0,002 < D < 0,05mm)	ARCILLA (D < 0,002mm)	CLASIF. USDA(1)
SUELOS CON NEMATODOS						
P4	1,38	13,61	14,99	60,95	24,06	F-L
P4B	1,57	15,04	16,61	60,87	22,52	F-L
P7	1,35	34,65	36	51,21	12,79	F-L
P11	8,19	29,78	37,97	42,36	19,67	F
P29	2,2	31,34	33,54	48,38	19,08	F
P29B	4,03	30,32	34,35	44,49	21,16	F
P42	1,89	9,25	11,14	59,97	28,89	F-Arc-L
MA9	41	38,66	79,66	11,4	8,94	A-F
M44	16,08	34,71	50,79	27,59	21,62	F-Arc-L
MEDIA	8,63	26,37	35,00	45,25	19,86	F
± SD	±13,07	±10,75	±21,11	±16,65	±5,92	
SUELOS SIN NEMATODOS						
MEDIA	17,70	38,98	56,68	28,59	14,72	F-Ar
± SD	±15,34	±15,91	±23,60	±18,59	±6,42	

(1)Clasificación U.S.D.A.: F Franco, L limoso, A arenoso, Arc arcilloso.

Todos los valores están expresados en % p/p.

Para clarificar la interpretación de los **análisis multivariantes** sobre la ocurrencia de los nematodos entomopatógenos en las diferentes categorías de suelos, y debido a las diferencias encontradas entre los tipos de suelos del Baix Llobregat y del Maresme, hemos analizado independientemente los suelos de las dos zonas.

- Suelos del Baix Llobregat.

La representación de las variables consideradas en el Análisis de Componentes Principales (ACP) de la textura de los suelos del Baix Llobregat, puede observarse en la fig. 4.7. En la tabla 4.7 se muestra la correlación entre las variables y los ejes principales.

Los dos primeros ejes principales explican el 92,4% de la variabilidad total de los suelos analizados. El primer eje que explica el 67,3% de la variabilidad, separa por su parte negativa aquellos suelos con un mayor contenido de arena fina, mientras que por su parte positiva agrupa a los suelos que presentan una mayor cantidad de limo y arcilla. El segundo eje que explica el 25,1% de la variabilidad agrupa principalmente por su parte positiva aquellos suelos que presentan una mayor cantidad de arena gruesa.

La representación gráfica de este análisis (fig. 4.8) y su posterior agrupamiento mediante una clasificación automática (cluster) (fig. 4.9) nos muestra la existencia de tres grupos principales de suelos; un pequeño grupo de suelos franco-arenosos con una mayor proporción de arena gruesa (parte superior de la gráfica), otro de suelos franco-arenosos con un mayor porcentaje de arena fina (parte inferior izquierda de la gráfica) y un gran grupo de suelos francos (parte central derecha) en el que se puede observar un pequeño subgrupo de suelos franco arcillo limosos (con trazo discontinuo). Como podemos ver, según el análisis, las muestras que contenían nematodos (señaladas en la gráfica de forma subrayada) se encuentran incluidas en el grupo de suelos francos (P7, P11, P29 y P29B) y en el subgrupo de suelos franco con un mayor contenido de limo (P4, P4B, P42).