Instituto de Parasitologia "López-Neyra"
Sección de Nematodologia
Granada. España

VALORACION DE LA PARTICIPACION DEL VIENTO EN LA DISPERSION DE NEMATODES DEL SUELO FITOPARASITOS SENSIBLES A LA DESECACION

por

TOBAR-JIMENEZ, A *; GALLARDO-BERNAL, MARIA **

SUMMARY

An experimental study was designed and carried out to see whether or not filiform nematodes non resistent to desiccation can withstand their dispersal by the wind with soil dust and remain infective to their host plants.

After studying and selecting a composite soil adequate to be cultivated and susceptible to be dispersed by the wind when dried, a technique was developped to spread by the wind into pots the selected soil previously dried. The operation was done in a chamber called the "dust storm apparatus". A given aggregation in duplicates of the soil dust sedimented into the pots gave constant results in the weights of dust as well as in the levels of a filiform nematode resistent to desiccation (*Tylenchorhynchus sulcatus* De Guiran, 1967), equally spread with the dust and recovered from the duplicates.

A technique was developped to dry the selected soil in discs four milimeters thick of a volume of 100 ml placed in an apparatus built for that purpose.

It was seen that *Tylenchorhynchus dubius* (Bütschli, 1873) Filipjev, 1936 do not withstand the desiccation of the soil, whereas *T. sulcatus* does. Even after two and a half months in desiccated soil 41 per cent of a population of *T. sulcatus* was alive and it is not known whether the remaining 59 per cent died from lack of water of from starvation in the absence of host roots.

For nematodes susceptible to drought (*Macroposthonia curvata* (Raski, 1952) De Grisse & Loof, 1965) it was seen that, when dried until it rea-

* Investigador Cientifico del C.S.I.C. y Jefe de la Sección.
** Doctor en Farmacia adscrito a la Sección.

(Recibido el 10-III-76).

ched 3 per cent humidity, the soil could be spread by the wind and keep an acceptable level of nematodes.

Using the movility as criterion of viability, a comparative study on the resistance to drought of the nematodes *M. curvata, T. dubius, Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913 and *Pratylenchus* CAZ-1 was carried out spreading them by the wind within the "dust storm apparatus" after the partial desiccation of the soil. *M. curvata* was choosen for further experimental work owing to its lowest rate of survival.

After drying the soil infested by *M. curvata* until it reached 3 per cent humidity and dispersing it by the wind within the "dust storm apparatus", where the nematodes are exposed in the dust to a further lower humidity such as 0.69 per cent, the cultivation of a host showed that some *M. curvata* were infective after their dispersal with the soil dust by the wind.

Statistical analyses basically of the final humidity of the soil discs, the levels of motile nematodes recovered from the dust, the time used to aggregate the dust into duplicates and the correlation between the last two series of values, as well as the final levels of nematodes recovered from the soil after the cultivation of host plants, showed that for filiform nematodes non resistent to desiccation the endurable time of exposure to an extremely low level of humidity is short though effectively controled under experimental conditions, which, no doubt, can be reproduced by nature.

Whirlwinds and wind storms can therefore disperse with the soil dust considerable numbers of plant parasitic nematodes considered unable to withstand desiccation As long as their stay in the air is short and they fall down on a moist soil, the posterior farming of it and the cultivation of a host plant will allow the establishment and rise of the nematode populations.

INTRODUCCION

Los nematodes parásitos de vegetales están dotados de movilidad y se desplazan a través de los espacios existentes entre los grumos del suelo; no obstante, las distancias que pueden recorrer por sí solos son extremadamente cortas. Existen a este respecto casos extremos, como el de *Xiphinema index* Thorne y Allen, 1950 en viñedos de "secano", en los que, por vivir el nematode por debajo de los 20 cm. de profundidad (37) y ser de lentos movimientos, forma bolsas o "nidos" muy localizados (6).

Para el desplazamiento de los nematodes tienen una gran importancia los movimientos del suelo; así, en el caso mencionado de los viñedos el movimiento de suelo profundo en las

replantaciones tiene una gran significación para la contaminación a largo plazo del viñedo entero (7). Las faenas de labranza en general, con los movimientos de suelo que llevan consigo, son de particular importancia para la dispersión de los nematodes dentro de la misma parcela o de unas parcelas a otras. La maquinaria e instrumentos de labranza pueden contaminar parcelas de terreno hasta ese momento libres de nematodes parásitos (1, 2 y 4).

Otros medios de diseminación de nematodes son el agua, bien de lluvia o de riego, y las semillas por el suelo que pueden transportar y llevar adherido, respectivamente (1, 2, 4 y 12), así como los plantones, que pueden transportar nematodes bien en el suelo adherido a sus raíces o en el interior de las mismas (14).

Se ha mencionado el viento, y en especial a las tormentas de polvo que ocasiona, como agente de dispersión de nematodes formadores de quistes —especies de *Heterodera* A. Schmidt, 1871— (2 y 4), particularmente cuando el nivel de infección del suelo alcanza el nivel de daño para su hospedador y existen numerosísimos quistes por unidad de volumen (1 y 20).

El viento es capaz de transportar restos de vegetales y apreciables cantidades de tierra, que llevan nematodes, de un campo a otro. No obstante, según algún autor, únicamente los resistentes a la desecación sobreviven a esta forma de diseminación (23).

Dentro de los nematodes formadores de quistes —formas clásicas de resistencia— hay especies, como *Heterodera rostochiensis* Wollenweber, 1923, extremadamente resistente a la desecación, muy susceptibles por tanto a ser dispersados por el viento en condiciones de viabilidad, existiendo una relación inversa entre la capacidad de las larvas enquistadas para hacer eclosión en agua y la de sobrevivir a la desecación. La *H. rostochiensis*, cuyo nivel de eclosión en agua es muy bajo, es muy resistente a la desecación, mientras que la *H. avenae* Wollenweber, 1924, que hace eclosión con facilidad, es muy sensible a la desecación (27).

El segundo estadío larvario de *H. rostochiensis* sobrevive mejor a la desecación que el de *H. schachtii* A. Schmidt, 1871, pudiéndose observar al microscopio que las larvas de esta últi-

ma especie pierden agua con facilidad y se arrugan. Estas diferencias son correlativas a la respectiva capacidad de las dos especies para sobrevivir a la desecación. La *H. rostochiensis* sobrevive mejor que la *H. schachtii* (11).

La *H. avenae,* aún siendo muy sensible a la desecación, resiste tres meses con capacidad infectiva cuando se desecan los quistes al aire dentro de su habitat natural el suelo (10).

Aparte de las especies de *Heterodera,* en las que aún poseyendo los estadíos larvarios unas diferencias específicas en su capacidad de resistencia a la desecación, en todas ellas la pared quística actúa ejerciendo una acción protectora, existen varios mecanismos de resistencia. Así las larvas de *Meloidogyne* Goeldi, 1887, que mueren por debajo de una humedad crítica del 3-4 por ciento, pueden resistir la desecación protegidas por los tejidos vegetales de su hospedador (24). Los huevos de fitoparásitos sedentarios, como *Meloidogyne* y *Tylenchulus* Cobb, 1913, son depositados en unos sacos gelatinosos, segregados por seis glándulas rectales en el primer caso y por una enorme célula excretora en el segundo (18) que los protegen contra la desecación.

En los nematodes libres —carentes de formas clásicas de resistencia— se ha observado una diferente capacidad de resistencia a la desecación entre distintas especies. *Tylenchorhynchus dubius* (Bütschli, 1873) Filipjev, 1936 es más resistente que *Trichodorus pachydermus* Seinhorst, 1954 y *T. similis* Seinhorst, 1963, por ello el primero fue encontrado en las capas más altas del suelo, que sufren variaciones importantes en su grado de humedad, y los segundos en las más profundas de humedad más constante (40).

La resistencia a la desecación varía también con la fase del ciclo vital para una misma especie de nematode. El 3.º y 4.º estados larvarios del *T. dubius* son las fases más resistentes (26) y el preadulto de *Paratylenchus* Micoletzky, 1922 lo es más que otras fases de su ciclo vital (25). El *Ditylenchus dipsaci* Kühn, 1857 al final del desarrollo de su hospedador forma verdaderas masas blanquecinas, que llegan a salirse de su hospedador, sobreviviendo en estado infectivo a severas desecaciones (9).

Los nematodes son animales acuáticos que viven en la película de agua con sustancias disueltas que tapiza los espacios existentes entre los grumos de suelo. A medida que el suelo se seca esta película se torna más delgada, sometiendo al nematode a un "stress" de humeda que depende del llamado "potencial de succión", determinado por el tamaño de los poros y la tensión superficial del agua, y de la concentración osmótica de la solución de sustancias en agua. La habilidad que un nematode tiene para regular la concentración osmótica de sus fluidos internos determina en parte su capacidad para sobrevivir al stress de humedad o proceso de desecación del suelo. La osmorregulación parece es efectuada por la acción combinada de la cutícula o envoltura corporal, el sistema excretor y el tubo digestivo (9).

La diferente capacidad específica de resistencia a la desecación ha llegado a ser utilizada para conseguir una recuperación selectiva de los nematodes del suelo. Secando filtros de nematodes utilizados en el proceso de extracción, el *Ditylenchus dipsaci* permaneció vivo y fue recuperado sumergiendo en agua los filtros secos, mientras que el 99 por ciento de los demás nematodes que lo acompañaban sucumbieron a la desecación (15). Procesos de desecación diferencial semejantes al descrito parece ocurren a veces en la naturaleza. Análisis efectuados con tomas de suelo y raíces procedentes de la isla de Alborán, cuyo suelo está sometido a periódicos "stress" de humedad, demostraron la existencia de poblaciones bien establecidas de nematodes parásitos de plantas constituidas casi exclusivamente por especies de *Tylenchorhynchus* Cobb, 1913 resistentes a la desecación, particularmente *T. sulcatus* De Guiran, 1967 que posee entre otros caracteres una gruesa cutícula que envuelve y proteje su cuerpo (33).

El suelo seco puede albergar nematodes vivos pertenecientes a géneros que han sido considerados sensibles a la desecación (17). Es más, análisis efectuados con muestras de polvo recogidas en el oeste de Tejas, U.S.A., a unos dos metros sobre el nivel del suelo reflejaron la existencia en el mismo de nematodes pertenecientes a 28 géneros, algunos de ellos parásitos de plantas, encontrándose en las muestras algunos nematodes dotados de movilidad, aunque carentes de capacidad infectiva (22).

Si algunos nematodes sobreviven en estado infectivo a la desecación, el viento en los países cálidos y templados podría ser un importante vehículo para la dispersión de los nematodes fitoparásitos, existiendo sospechas de que, en casos de nematodes muy resistentes a la desecación, éstos pudieran incluso ser llevados de un continente a otro (33).

Puesto que los nematodes carecen de mecanismos para controlar la temperatura de su cuerpo, su actividad y metabolismo dependen de la temperatura ambiente. La temperatura para la vida de los nematodes parásitos de plantas suele oscilar entre 5 y 30 grados centígrados, tienen su óptimo entre 15 y 30 y se tornan inactivos entre 30 y 40. Temperaturas inferiores a 5 grados o superiores a 40 pueden ser letales (3, 5, 13 y 23).

Hay nematodes sensibles a las bajas temperaturas. Así, *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 no puede prosperar sometido al frío (28). Podrían utilizarse las siembras tempranas en países templados para obtener un buen desarrollo radicular antes de que el nematode entrara en actividad. El *M. hapla* Chitwood, 1949, por el contrario, está bien establecido y puede causar serios daños en países de clima frío inapropiados para *M. javanica* (23). La *Heterodera schachtii* tiene una distribución más generalizada, pudiendo por otro lado, sobrevivir a temperaturas esporádicas superiores a 52 grados centígrados (23 y 29).

La temperatura influye sobre la infectividad, crecimiento y reproducción de los nematodes (19 y 23). Influye, incluso, de forma cuantitativa sobre el sexo, determinando los niveles relativos de machos y hembras (8). A temperaturas superiores a la óptima, el número de larvas de *Heterodera rostochiensis* que se convierten en adultos disminuyó con el incremento de la temperatura (38). No obstante este nematode, aún siendo de países fríos y húmedos, parece tener facilidad para aclimatarse a países templados con estación estival calurosa y seca. En una encuesta nematológica de suelos realizada en 1965 en la Vega de Granada (35) se encontró *H. rostochiensis* en un solo lugar, una parcela aislada de las demás por una tapia, estando dotada la población de nematodes de muy escasa vitalidad. Hoy se ha aclimatado perfectamente, constituyendo un grave problema para la patata bastante generalizado en áreas próximas a Granada-ciudad (comunicación personal). Parece haber tenido lugar una perfecta adaptación del nematode con la subsiguiente aparición y multiplicación de una variedad más resistente a la desecación y temperatura elevadas.

A veces no sólo la temperatura sino las variaciones de la misma influyen en el ciclo evolutivo de los nematodes. Tratamientos frío-calor estimularon la salida de larvas de los huevos de *Meloidogyne naasi* Franklin, 1965. El tratamiento consistió en una incubación de los huevos a 6-9 grados centígrados seguida de otra a 21-24 (39). El *M. artiella* Franklin, 1961 parece necesitar de las bajas temperaturas invernales y la posterior elevación de temperatura en primavera para poder completar su ciclo vital (34).

Los nematodes desecados pueden resistir temperaturas más altas o más bajas que los totalmente hidratados, posiblemente porque sus enzimas sean más resistentes en forma deshidratada (23). Parece que éste puede ser el mecanismo del que se vale la fauna indígena de determinadas áreas de la provincia de Granada, de la que *Pratylenchus* Filipjev, 1936 constituye una parte importante, para sobrevivir a los 45 grados centígrados y sólo el dos por ciento de humedad del suelo reinantes durante el mes de Agosto. No obstante, es un hecho la elevada mortalidad a causa de las altas temperaturas y la desecación que sufren los componentes de esta fauna, cuyos niveles de población bajan de forma drástica durante el verano (36). Esta elevación de mortalidad por la desecación y altas temperaturas en verano puede ser el mecanismo de defensa de la naturaleza para equilibrar los niveles de población de los nematodes de la fauna indígena de los países cálidos y templados, en los que además existe la sospecha de que los nematodes puedan ser dispersados por el polvo invadiendo enormes extensiones en muy poco tiempo. No obstante, el problema puede surgir, bien por una completa adaptación de una especie de nematode a estas condiciones extremas, fenómeno ocurrido ya en Alborán en donde el *Tylenchorhynchus aerolatus* Tobar Jiménez, 1970 y *T. alboranensis* Tobar Jiménez, 1970 parecen causar daños a uno de sus hospedadores, *Frankenia corymbosa* Desf., (33), o bien por una puesta en cultivo de un suelo virgen que puede romper el equilibrio natural del mismo a favor

del nematode. Si el nematode puede adaptarse y parasitar al cultivo que se implanta y el suelo se conserva húmedo en verano, el nivel de población del nematode puede subir a límites muy altos, no logrados hasta entonces en condiciones naturales, que pueden causar graves daños al cultivo hospedador.

Ante la posible importancia en climas templados como el nuestro del papel del viento en la dispersión con el polvo de los nematodes parásitos de vegetales, fenómeno hasta ahora no estudiado con rigor científico, se proyectó y se ha realizado esta Tesis doctoral, cuyos resultados se exponen a continuación. Se han utilizado para su realización nematodes filiformes carentes de formas clásicas de resistencia a la desecación y el propósito que nos ha guiado ha sido intentar conseguir de forma experimental la infección de plantas con sus nematodes específicos utilizando polvo arrastrado por el viento como vehículo de dispersión e inoculación.

MATERIAL Y METODOS

Estudio preliminar

Preparación y estudio del suelo

Como suelo base de calidad óptima para ser pulverizado se eligió un suelo pardo-calizo muy ligero procedente de la Sierra granadina de Cázulas, del que se eliminaron los residuos y piedrecitas cribándolo por un cedazo de 5 mm de orificio de malla. Antes de ser cribado, el suelo fue desnematizado y desecado a 120 grados centígrados durante 24 horas en una estufa de desecación.

Pruebas previas para el cultivo de plantas en el suelo elegido demostraron la aparición sistemática con los riegos de hundimientos en las macetas preparadas por lo que se pensó incorporar al suelo arena de río para darle cuerpo y evitar los hundimientos.

Antes de su mezcla con el suelo la arena fue debidamente preparada. Para ello fue desecada en una estufa y cribada por diferentes tamices. Se seleccionó la fracción con partículas de tamaño inferior a 0,233 mm que podía ser dispersada fácilmente por el viento. Esta fracción fue lavada en el aparato de Kort (16), con una corriente ascendente de agua de 4 litros por minuto, y más tarde desnematizada y desecada en una estufa a 120 grados centígrados durante 24 horas.

Después de preparar una serie de mezclas en las que el suelo se iba enriqueciendo en arena en un diez por ciento cada vez, se estudió para los once componentes de la serie (el primero suelo sólo y el último arena sola) la aparición o no de hundimientos al regar, el aumento de volumen al pasar del estado seco al húmedo (grado de compacidad por la limitación de volumen impuesta por la maceta), el grado de soltura, la facilidad de drenaje y la limpieza del agua drenada, el grado de retención de agua, el predominio del color del suelo sobre la arena y el pH.

Se eligió como suelo más adecuado para su cultivo la mezcla a partes iguales en volumen seco de suelo pardo-calizo y arena.

Técnica de pulverización

Se eligió como pulverizador un extractor centrífugo CATA® MODELO E, con una boca de salida de 125 mm de diámetro interno y un caudal de aire de 620 metros cúbicos por hora.

Después de estudiar de forma estadística la admisión de aire por el pulverizador (distancia adecuada entre la plataforma que soporta el suelo seco y la base o boca de entrada del pulverizador), el comportamiento en la pulverización de las mezclas de suelo y arena, la conveniencia de un cabezal de salida para el pulverizador y la forma más adecuada del mismo, se comprobó que el suelo pardo calizo se dispersaba por el viento mejor que la arena y que para sus diferentes mezclas, entre ellas la elegida para cultivo, tenía lugar en la pulverización una sedimentación diferencial con mayor avance del suelo. Estos inconvenientes y el hecho de que el suelo mezcla elegido para cultivo pulverizara peor que el suelo solo y las mezclas menos ricas en arena recomendaron la construcción de una cámara de pulverización, cuyas dimensiones estuvieron determinadas por los datos conseguidos en los estudios anteriores. Estas dimensiones son 1,96 m de largo, 1,00 m de ancho y 1,69 m de alto.

En la parte proximal del techo (fig. 1) una ventana de 41 por 41 cm. cubierta por una malla de nylon de 0,2 mm de orificio de malla, permite la salida del aire introducido por el pulverizador en el interior de la cámara, reteniendo la mayor parte del polvo.

El pulverizador tiene acoplada en su boca de salida un cabezal cónico, de 12,5 cm de diámetro de base y 12 cm. de altura, constituido por un armazón de alambre grueso cubierto por una malla de nylon de 1,5 por 2,0 mm de orificio de malla. La base del pulverizador se haya situada a 32 cm. sobre la boca de un conjunto de macetas de 20 cm. de altura y 500 ml de capacidad, especialmente preparadas para la cámara y dispuestas en su interior en 17 filas y 10 columnas, con un total de 170 macetas (fig. 2).

Unas tiras metálicas en forma de tejado están colocadas longitudinal y tranversalmente sobre los espacios entre columnas y filas (fig. 3) para impedir que el polvo sedimente en ellos y lo haga en cambio en el interior de las macetas.

Una plataforma móvil sobre la que se coloca el suelo seco, desplazable verticalmente mediante un tornillo sin fín, permite durante la pulverización al interior de la cámara que la admisión de aire se mantenga en 10 mm de altura.

Agrupación en duplicados

Pruebas de pulverización en la cámara aconsejaron para obtener constancia de resultados en los pesos de polvo formar 10 grupos de 16 macetas cada uno (cuadro núm. 1), quedando un resto de 10 macetas no utilizables. El polvo de las 16 macetas de cada grupo debe ser reunido en una maceta compuesta o DUPLICADO (la fig. 4 ilustra como ejemplo la posición de las 16 macetas correspondientes al primer duplicado).

Pruebas de dispersión de nematodes resistentes a la desecación con el polvo en la cámara de pulverización.

Después de desecar a una temperatura ambiente de 18 grados centígrados y una humedad relativa del 70 por ciento * el

* La temperatura ambiente osciló en toda la parte experimental entre 18 y 23 grados y la humedad entre 62 y 77 por ciento.

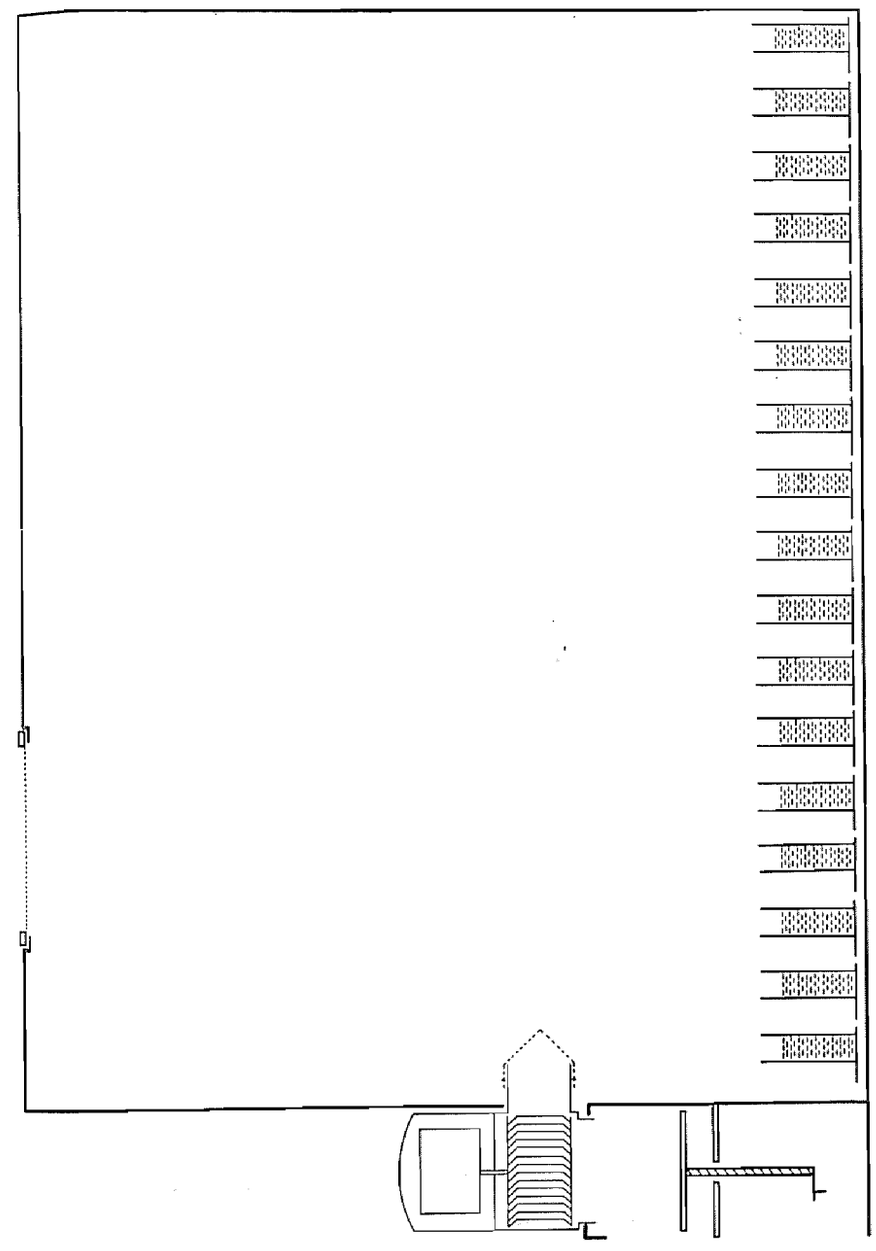

Fig. núm. 1

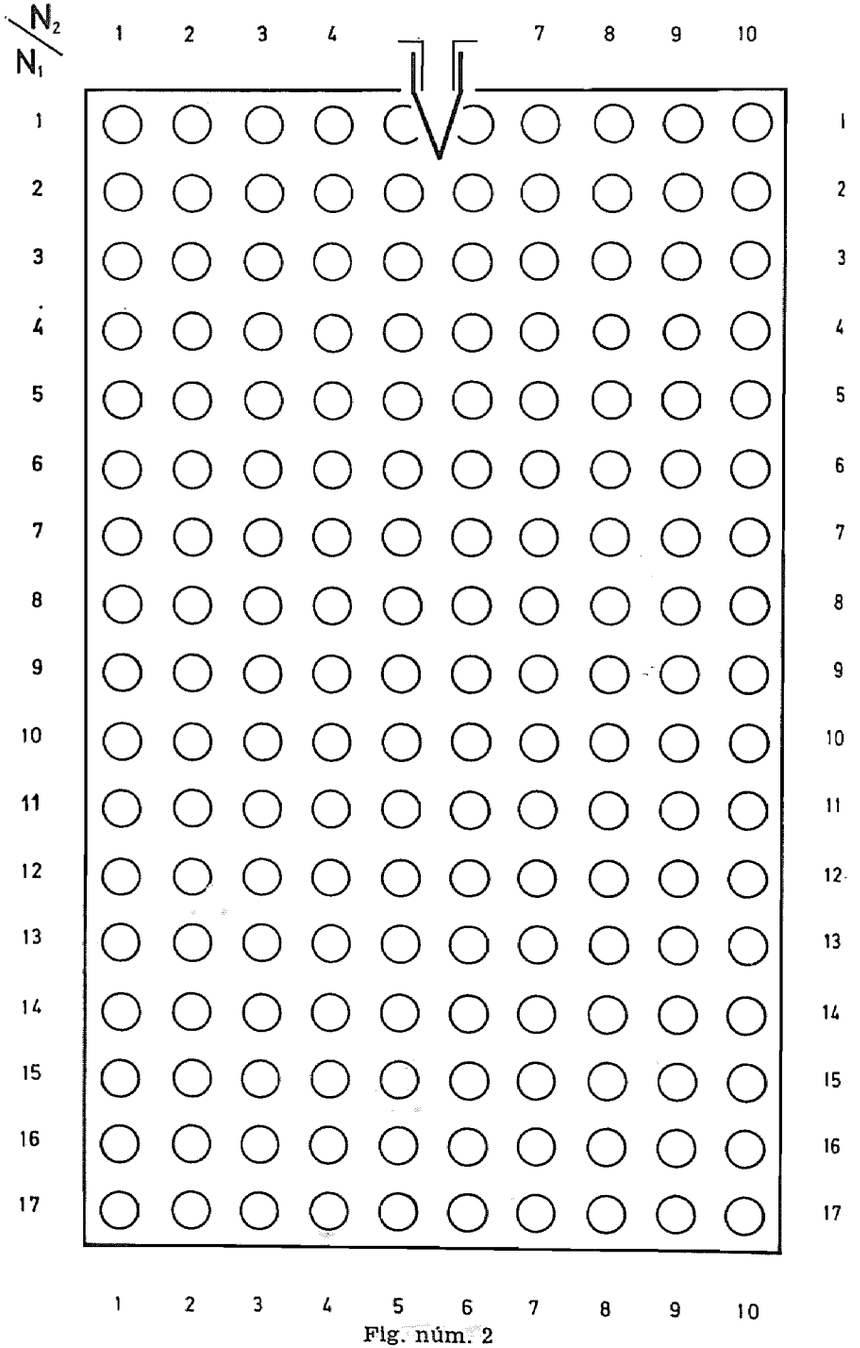

Fig. núm. 2

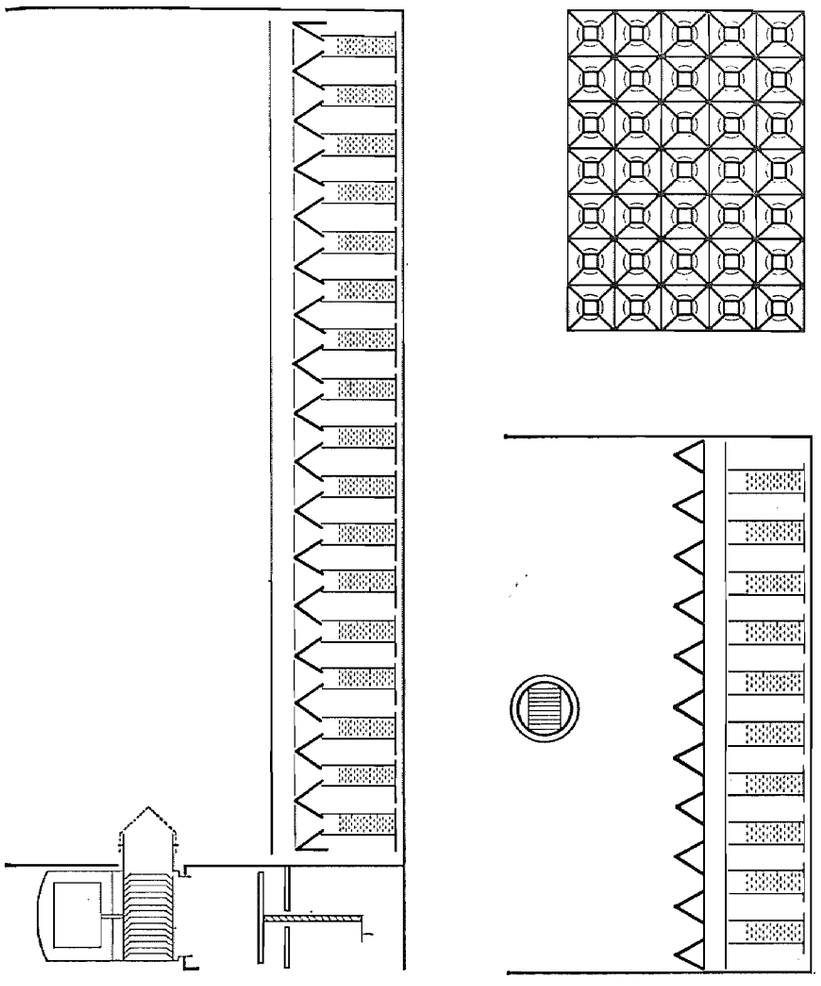

Fig. núm. 3

Arriba, vista lateral; abajo izquierda, vista frontal; abajo derecha, vista panorámica parcial

CUADRO NUM. 1: Constitución de los DUPLICADOS de la cámara de pulverización

DUPLICADOS	COMPOSICION (Posiciones de cada maceta)							
D_1	12- 7,	10- 2,	10- 4,	13- 9,	11- 8,	9- 9,	8-4,	13- 1,
	5- 8,	2- 2,	7- 7,	16- 2,	7- 2,	14- 3,	4-3,	3-10
D_2	7- 8,	7-10,	7- 3,	8- 1,	15- 6,	17- 4,	8-5,	11- 1,
	9- 3,	15- 8,	4- 7,	17- 8,	14- 7,	17- 6,	3-5,	12- 1
D_3	1- 5,	2- 8,	10- 6,	3- 1,	14- 4,	8- 2,	6-3,	10- 1,
	6- 8,	1- 7,	11- 5,	17- 1,	12- 3,	8- 9,	7-5,	13-10
D_4	2- 6,	11- 9,	3- 3,	14- 9,	15- 5,	13- 8,	5-6,	14- 1,
	13- 6,	7- 1,	8- 7,	10-10,	15- 4,	5- 9,	5-3,	1- 2
D_5	4- 2,	9- 2,	6- 7,	16- 1,	2- 3,	15- 3,	9-5,	12-10,
	6- 2,	12- 9,	11- 6,	15- 2,	16- 5,	17- 5,	7-4,	16-10
D_6	8- 8,	14- 8,	3- 6,	4-10,	11- 3,	10- 9,	6-6,	9- 1,
	13- 5,	4- 1,	9- 7,	16- 8,	1- 6,	15- 7,	3-4,	2- 1
D_7	14- 5,	17- 7,	9- 6,	2- 9,	13- 7,	16- 7,	4-6,	17-10,
	3- 7,	5-10,	2- 4,	14- 2,	2- 7,	16- 4,	6-5,	15-10
D_8	13- 4,	6-10,	5- 7,	11-10,	4- 8,	6- 1,	7-6,	16- 9,
	12- 4,	8-10,	12- 5,	12- 2,	6- 9,	1- 4,	4-5,	14-10
D_9	14- 6,	4- 9,	2- 5,	17- 9,	10- 8,	5- 1,	9-4,	15- 1,
	11- 7,	11- 2,	10- 7,	3- 9,	16- 6,	13- 3,	5-5,	2-10
D_{10}	9- 8,	17- 3,	10- 5,	15- 9,	10- 3,	16- 3,	8-6,	1- 8,
	8- 3,	1- 3,	12- 6,	9-10,	12- 8,	3- 8,	6-4,	1- 9

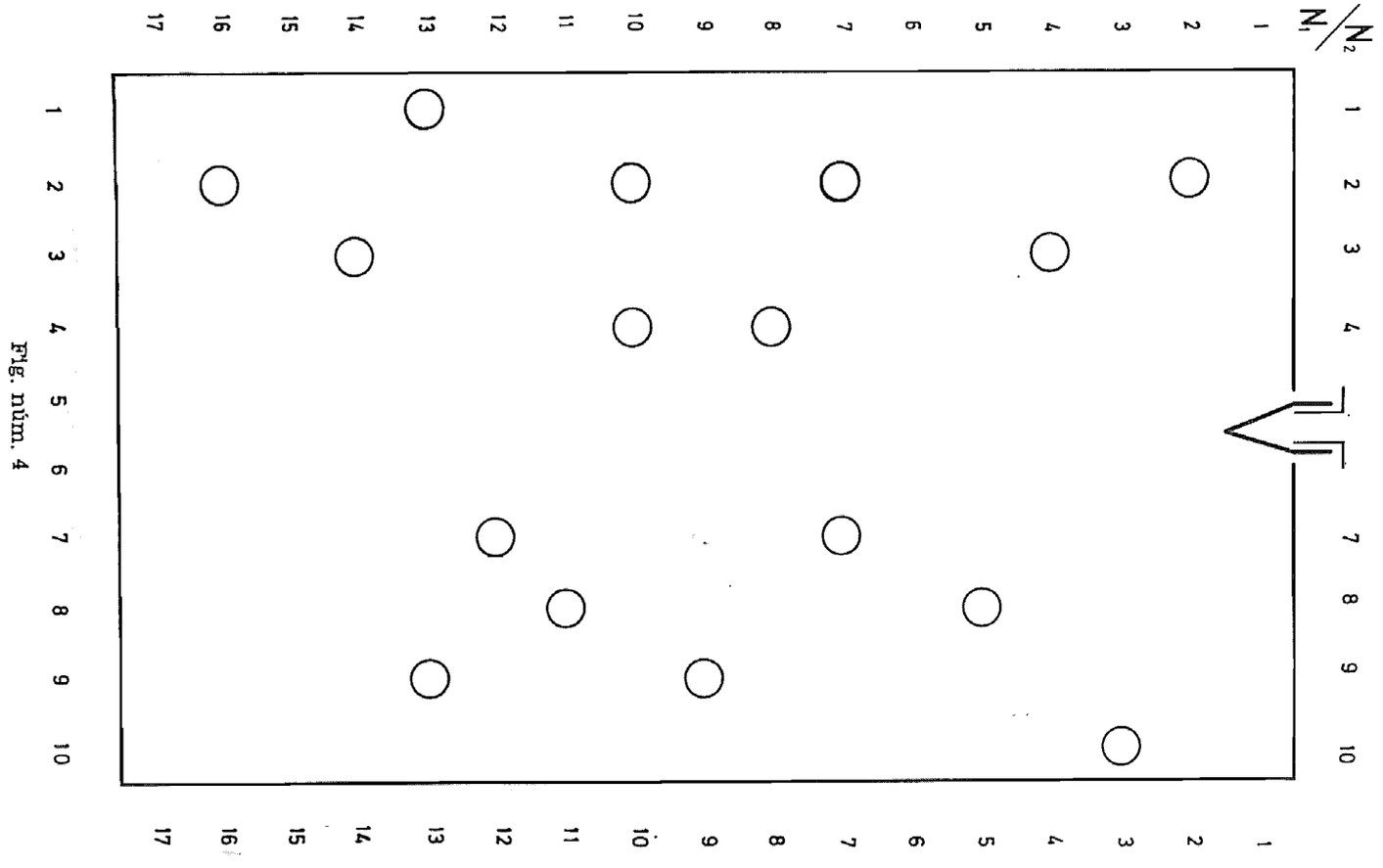

Fig. núm. 4

suelo elegido para cultivo infectado por unos 40 *Tylenchorhynchus sulcatus* ** De Guiran, 1967 por peso de 100 g se pulverizaron en la cámara cuatro veces 2 Kg de suelo y, después de cinco minutos de sedimentación, el polvo de las 16 macetas de cada agrupación fue primero acumulado en su correspondiente DUPLICADO y más tarde procesado mediante la técnica modificada de Oostenbrink (32, 30 y 31) para recuperar de él los nematodes, los cuales fueron luego contados en sedimento y sus niveles, transformados en logaritmos, analizados estadísticamente mediante análisis de variancias. La falta de significación en el nivel de probabilidad del cinco por ciento para réplicas y duplicados demostró la constancia de resultados en la dispersión con el polvo de los nematodes filiformes, así como su distribución homogénea por los diferentes duplicados.

Técnica de desecación del suelo

Se construyó un aparato de desecación constituido por un armazón metálico de 1,03 metros de altura, 1,81 metros de ancho y 32 centímetros de fondo, en el que van colocados 60 soportes de cristal de 34,8 por 34,8 cm de superficie y 4 mm de espesor, dispuestos en 12 filas superpuestas de cinco soportes cada una, distanciadas entre sí 9,1 cm (fig. 5). El aparato dispone de 55 soportes útiles para colocar suelo sobre ellos por considerarse que cada fila actúa como techo de la situada inmediatamente debajo y que la doceava o más alta es el techo no utilizable del aparato. Una funda externa de lona tiene por objeto retardar en lo posible la desecación del suelo colocado en su interior y favorecer así la desecación lenta de los nematodes existentes en el suelo.

Después de un minucioso estudio sobre el volumen real y tiempo de desecación de diferentes discos de suelo se seleccionaron para desecar en el aparato discos de suelo de cultivo de 4 mm de espesor y 100 ml de volumen, preparados con un molde metálico parafinado.

** nematode ectoparásito filiforme resistente a la desecación (33 y apartado siguiente).

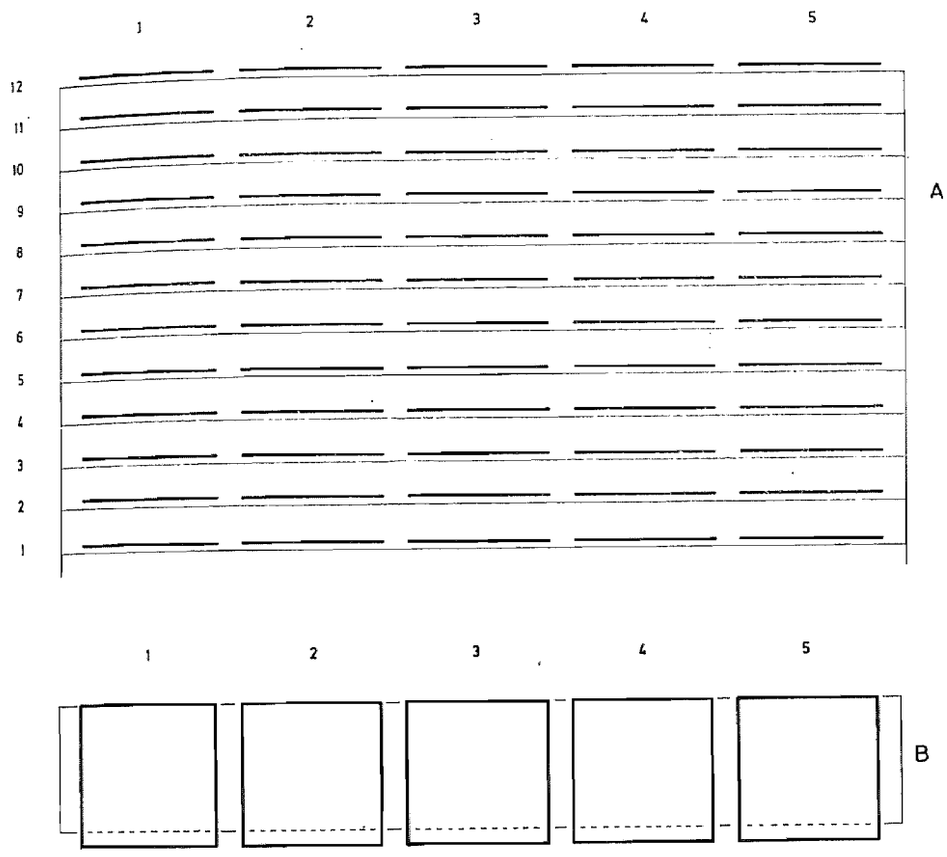

Fig. núm. 5: Aparato de desecación
A, vista frontal; B, panorámica

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE RESISTENCIA A LA DESECACION DEL NEMATODE TYLENCHORHYNCHUS SULCATUS

Tiempo de desecación normal

Utilizando un suelo "Rendsina de mull" * infectado por 234 *Tylenchorhynchus sulcatus* De Guiran, 1967 por 100 ml se pre-

* única ocasión en la que por exigencias experimentales se utilizó un suelo diferente al seleccionado para cultivo.

pararon ocho discos de espesor 4 mm que fueron colocados distribuidos por todo el aparato de desecación. Después de 15 horas se levantaron los discos y se recuperaron los nematodes mediante la técnica modificada de Oostenbrink. Los nematodes fueron contados en los sedimentos de sus suspensiones finales en agua y agrupados en dos bloques denominados BAJO, correspondiente a las filas 1, 2, 4 y 5 del aparato de desecación, y ALTO, correspondiente a las filas 7, 8, 10 y 11, lo que tenía por objeto comprobar si la posición de los discos en una u otra parte del aparato de desecación influía o nó en los niveles finales de nematodes.

Como testigos (denominados bloque TESTIGO) se prepararon con el suelo sin desecar cuatro discos de los que se recuperaron directamente los nematodes mediante la técnica modificada de Oostenbrink, contándolos luego en el sedimento de su suspensión final en agua.

Todos los niveles de nematodes determinados fueron transformados en logaritmos y estudiados estadísticamente mediante análisis de variancias.

La humedad del suelo antes y después de la desecación fue de 1'62 y 1'45 por ciento, respectivamente.

Largo tiempo de desecación

Utilizando el mismo suelo infectado del apartado anterior se prepararon ocho discos de espesor 4 mm que fueron colocados en el aparato de desecación. Después de dos meses y medio los nematodes fueron recuperados, contados y agrupados (bloques BAJO y ALTO).

Como testigos (bloque TESTIGO) se utilizaron los mismos del apartado anterior.

Todos los niveles de nematodes, transformados en logaritmos, fueron estudiados estadísticamente mediante análisis de variancias y determinación de la diferencia crítica.

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE RESISTENCIA A LA DESECACION DEL NEMATODE TYLENCHORHYNCHUS DUBIUS

Utilizando el suelo de cultivo infectado por unos 600 *Tylenchorhynchus dubius* (Bütschli, 1873) Filipjev, 1936 por 100 ml

se prepararon ocho discos de espesor 4 mm que fueron colocados como en los dos apartados anteriores en el aparato de desecación. Después de 14 horas los nematodes fueron recuperados, contados y agrupados (bloques BAJO y ALTO).

Como testigos (bloque TESTIGO) se recuperaron los nematodes, mediante la técnica modificada de Oostenbrink, de cuatro discos de suelo húmedo de espesor 4 mm. Los nematodes recuperados fueron contados en tres volúmenes de 1ml de la suspensión final de nematodes en 100 ml de agua, previamente homogeneizada. Una vez comprobado que los nematodes estaban repartidos en la suspensión final de acuerdo con la Distribución de Poisson. los valores de nematodes fueron expresados por 100 ml o, lo que es lo mismo, por disco.

NIVELES DE MACROPOSTHONIA CURVATA DURANTE LA DESECACION GRADUAL DEL SUELO. ELECCION DEL GRADO DE DESECACION DEL SUELO.

Utilizando el suelo de cultivo infectado por 300 *Macroposthonia curvata* (Raski, 1952) De Grisse y Loof, 1965 por 100 ml se preparó un total de 96 discos de 4 mm de espesor distribuidos en 12 grupos de ocho discos cada uno. La preparación de los discos se hizo en varias etapas.

Los ocho discos del primer grupo fueron levantados tan pronto se terminó su preparación, destinando cuatro de ellos por sorteo a la determinación de su humedad y los otros cuatro a la recuperación de sus nematodes mediante la técnica modificada de Oostenbrink.

Los ocho discos de cada uno de los 11 grupos restantes fueron colocados, por sorteo diferente para cada grupo, distribuídos sobre los soportes del aparato de desecación. Los grupos de discos permanecieron en desecación de una a 11 horas y una vez cumplido su período de desecación, cuatro fueron destinados, también por sorteo diferente cada vez, a la determinación de la humedad y los otros cuatro a la recuperación de sus nematodes mediante la técnica modificada de Oostenbrink.

Los 48 niveles de nematodes por disco (12 grupos y cuatro réplicas) fueron valorados bien en tres alícuotas de la suspensión final de nematodes en 100 ml de agua, o bien, cuando los

nematodes eran poco numerosos, en el sedimento de la suspensión.

PRUEBA DE DISPERSION CON EL POLVO EN LA CAMARA DE PULVERIZACION DE NEMATODES SENSIBLES A LA DESECACION. ELECCION DE ESPECIE DE NEMATODE

Utilizando cuatro suelos de cultivo infectados cada uno por uno de los nematodes *Macroposthonia curvata* (Raski, 1952) De Grisse y Loof, 1965, *Tylenchorhynchus dubius* (Bütschli, 1873) Filipjev, 1936, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913 y *Pratylenchus* CAZ-1,* se preparó para cada suelo un total de 55 discos de 4 mm de espesor que fueron colocados sobre los soportes del aparato de desecación.

Se eligieron al azar cuatro discos para determinar el nivel inicial de nematodes bien en tres alícuotas de 1 ml de su suspensión final en 100 ml de agua ó, cuando eran poco numerosos, en el sedimento de la suspensión.

Los 51 discos restantes permanecieron en el aparato de desecación hasta que su humedad se redujo aproximadamente al 3 por ciento, momento en el que se mezcló por el procedimiento del cuarteo y montón el suelo de todos ellos, previo cribado del mismo por un cedazo de 1'5 mm de orificio de malla para deshacer grumos, y se dispersó con el viento en la cámara de pulverización.

Después de cinco minutos de sedimentación, el polvo de las 16 macetas de cada agrupación fue acumulado en su correspondiente maceta compuesta o DUPLICADO. De los 10 duplicados de cada suelo se eligieron al azar cuatro y el polvo acumulado en ellos fue primero medido y más tarde procesado mediante la técnica modificada de Oostenbrink para recuperar de él los nematodes, los cuales fueron contados en el sedimento de su suspensión final en agua y expresados primero por volumen de polvo en 100 ml y más tarde por 100 ml de suelo de cultivo húmedo.

* en estudio.

DETERMINACION DE LA CAPACIDAD INFECTIVA DEL MACROPOSTHONIA CURVATA DESPUES DE SU DISPERSION CON EL POLVO EN LA CAMARA DE PULVERIZACION

Niveles iniciales de nematodes para el cultivo hospedador después de la pulverización

Utilizando el suelo de cultivo infectado por 208 *Macroposthonia curvata* (*Raski*, 1952) De Grisse y Loof, 1965 por 100 ml y perfectamente homogeneizado se prepararon seis veces (REPLICAS) 55 discos de 4 mm de espesor que fueron colocados sobre los soportes del aparato de desecación donde permanecieron hasta que su humedad se redujo a un 3 por ciento aproximadamente.

Cuando se consideró que la humedad de los discos era aproximadamente del 3 por ciento, se eligieron por sorteo, diferente cada vez (REPLICA), cinco discos para determinar en ellos la humedad real y el suelo de los 50 discos restantes fue cribado por un cedazo de 1'5 mm de orificio de malla para deshacer grumos y mezclado homogéneamente por el procedimiento del cuarteo y montón.

Una vez mezclado y homogeneizado el suelo de los 50 discos, fue dispersado en la cámara de pulverización y, después de cinco minutos de sedimentación, se reunió el polvo de cada grupo de 16 macetas en un vaso de precipitados.

Una vez reunido en el vaso de precipitados, el polvo fue pesado y más tarde llevado a una maceta (DUPLICADO) y regado. La maceta tenía en el fondo 50 ml de arena gruesa, de un tamaño de partícula tal que era totalmente retenida por un cedazo de 1'5 mm de orificio de malla y que tenía por función el futuro buen drenaje de la maceta, y sobre la arena había una capa de 100 ml de suelo de cultivo desnematizado. Sobre esta última capa se colocó el acúmulo de polvo infectado antes de regar la maceta.

Se midió el tiempo transcurrido desde que se empezó a reunir el polvo * de cada grupo de 16 macetas sencillas hasta que se regó su correspondiente maceta compuesta o DUPLICADO.

* el tiempo desde que terminó la desecación hasta que se empezó a reunir el polvo, también determinado, fue descontado por ser común.

Se consiguieron, por tanto, seis REPLICAS de 10 DUPLICADOS cada una, con un total de 60 macetas compuestas.

Por sorteo, diferente para cada réplica, se eligieron de entre sus 10 duplicados aquellos cinco destinados al cultivo de su hospedador y de los cinco restantes se recuperaron los nematodes mediante la técnica modificada de Oostenbrink. Los nematodes fueron contados en el sedimento de la suspensión final en agua.

Para realizar en cada réplica la selección por sorteo de los duplicados destinados al cultivo de su hospedador se situaron en fila los 10 duplicados por orden de menor a mayor tiempo empleado en el acúmulo del polvo de las 16 macetas de cada grupo. Los cinco duplicados para cultivo se volvieron a numerar del D1 al D5 de acuerdo con su tiempo de acúmulo ascendente, y lo mismo se hizo con los cinco duplicados que quedaron para determinación de los niveles de nematodes.

Los 30 valores (6 réplicas y 5 duplicados) para el concepto de humedad de los discos al finalizar la desecación y para los correspondientes a la determinación de los niveles de nematodes después de la pulverización (iniciales para el cultivo), que son niveles de nematodes propiamente dichos, tiempo empleado fundamentalmente en reunir los acúmulos de polvo (el tiempo de pesada, también incluido, fue común) y el peso de los acúmulos de polvo infectado, fueron todos transformados en logaritmos y analizados estadisticamente mediante análisis de variancias y determinación en los casos necesarios de la diferencia crítica.

Se estudió también la existencia o no de correlación (coeficiente de correlación) entre los tiempos empleados en acumular el polvo de los duplicados y los correspondientes niveles de nematodes (después de la pulverización o iniciales para el cultivo).

Niveles finales de nematodes después del cultivo hospedador.

En las 30 macetas (6 réplicas y 5 duplicados) destinadas en el apartado anterior al cultivo de un hospedador del *M. curvata* se sembró una pequeña planta de CLAVEL (*Dianthus caryophyllus* L. var. *gigante rojo*), cultivada previamente a partir de tallo

sin raíces en arena lavada de rio desnematizada. Las raíces de cada planta fueron colocadas directamente sobre el suelo infectado por nematodes (acúmulo de polvo ya regado) y cubiertas por 75 ml de suelo de cultivo desnematizado, regándose de nuevo.

Las 30 macetas, ya sembradas, fueron llevadas a un bloque del invernadero y colocadas al azar dentro de él para evitar el llamado "efecto de borde". Se abonó el suelo con cantidades de superfosfato del 16 por ciento, cloruro potásico del 50 por ciento y sulfato amónico del 21 por ciento equivalentes a 500, 250 y 125 kg. por hectárea, respectivamente.

Transcurridos nueve meses y diez dias de cultivo del clavel, las macetas fueron levantadas y las raíces de cada maceta, una vez lavadas, troceadas y pesadas, fueron llevadas a un "aparato de lluvia" (21) para extraer de ellas los nematodes endoparásitos procedentes de posibles contaminaciones accidentales.

Después de quitarle los 50 ml de arena gruesa mediante cribado por un cedazo de 1'5 mm de orificio de malla el suelo de cada maceta fue homogeneizado, recuperándose los nematodes (*Macroposthonia*) a partir de 100 ml del mismo mediante la técnica modificada de Oestenbrink. Se hicieron dos extracciones o TRIPLICADOS del suelo de cada maceta o DUPLICADO.

Los nematodes de los triplicados fueron contados bien en tres alícuotas de 1 ml de la suspensión final de nematodes en 100 ml de agua o bien en el sedimento de la suspensión cuando los nematodes eran poco numerosos.

Los valores correspondientes a los pesos de raíces y los niveles de nematodes expresados por 1 ml fueron transformados en logaritmos y analizados estadisticamente mediante análisis de variancias y determinación, en los casos necesarios, de la diferencia crítica.

Los nematodes adheridos a las raíces de los diferentes duplicados y recuperados en el "aparato de lluvia" fueron contados en los sedimentos de sus respectivas suspensiones en agua, calculándose en cada caso el tanto por ciento del nivel total por maceta a que correspondían.

Se calculó la razón de multiplicación de los nematodes de las seis réplicas de cada duplicado.

RESULTADOS

CUADRO NUM. 2: Estudio de la capacidad de resistencia a la desecación de los nematodes *Tylenchorhynchus sulcatus* y *T. dubius*. Niveles de nematodes por disco, antes y después de la desecación en discos de 4 mm de espesor, y grado de supervivencia. Los niveles iniciales son la media de cuatro réplicas y los finales de ocho.

NEMATODE	TIEMPO DE DESECACION	NIVELES DE NEMATODES INICIAL	NIVELES DE NEMATODES FINAL	GRADO DE SUPERVIVENCIA (%)
T. sulcatus	15 horas	230	209	91
"	Dos meses y medio	230	95	41
T. dubius	14 horas	692	1	0'1

CUADRO NUM. 3: NIVELES DE *MACROPOSTHONIA CURVATA* DURANTE LA DESECACION GRADUAL DEL SUELO. ELECCION DEL GRADO DE DESECACION DEL SUELO. Niveles de nematodes (aproximados a la unidad) por disco de 4 mm de espesor (100 ml) y tantos por cientos de humedad que les corresponden. Cada valor es la media de cuatro réplicas.

TIEMPOS DE DESECACION (Horas)	NIVELES DE NEMATODES POR DISCO	TANTO POR CIENTO DE HUMEDAD
Testigo (0 horas)	300	5'52
1	258	4'79
2*	116	3'55
3	102	3'26
4	84	2'69
5	65	2'24
6	53	1'59
7	15	1'41
8	1	0'56
9	—	0'50
10	—	0'53
11	—	0'47

* a partir de las dos horas (3'55 por ciento de humedad) el suelo formó polvo fácilmente dispersible por el aire.

CUADRO NUM. 4: PRUEBA DE DISPERSION CON EL POLVO EN LA CAMARA DE PULVERIZACION DE NEMATODES SENSIBLES A LA DESECACION. ELECCION DE ESPECIE DE NEMATODE. Niveles testigo (antes de la desecación del suelo) y después de la pulverización* por 100 ml de suelo. Supervivencia determinada por su capacidad de desplazamiento.

MACROPOSTHONIA			TYLENCHORHYNCHUS		
TESTIGO	DESPUES DE LA PULVERIZACION	SUPERVIVENCIA MEDIA (%)	TESTIGO	DESPUES DE LA PULVERIZACION	SUPERVIVENCIA MEDIA (%)
367	11		733	57	
433	9		800	51	
500	4	1'9	1.233	50	6'1
200	5		767	56	
1.500	29		3.533	214	

TYLENCHULUS			PRATYLENCHUS		
TESTIGO	DESPUES DE LA PULVERIZACION	SUPERVIVENCIA MEDIA (%)	TESTIGO	DESPUES DE LA PULVERIZACION	SUPERVIVENCIA MEDIA (%)
1.267	76		41	5	
1.100	55		23	4	
1.167	55	5'2	39	4	13'1
1.133	55		27	4	
4.667	241		130	17	

*, reajustados al volumen de 100 ml de suelo húmedo.

CUADRO NUM. 5: COMPROBACION DE LA CORRECTA DISTRIBUCION DEL POLVO EN LOS DUPLICADOS DE LA CAMARA DE PULVERIZACION. Pesos de polvo en gramos para las réplicas y duplicados (nueva numeración de estos últimos) correspondientes a los duplicados destinados a la determinación de los niveles de nematodes después de la pulverización (iniciales para el cultivo)

DUPLICADOS	REPLICAS						SUMA
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	
D_1	345'50	358'00	337'50	342'50	347'00	331'00	2.061'50
D_2	338'50	330'00	333'00	358'00	304'00	350'50	2.014'00
D_3	336'00	302'00	310'00	321'00	324'50	353'50	1.947'00
D_4	314'50	310'50	313'50	335'50	326'50	366'50	1.967'00
D_5	318'50	357'00	361'00	359'00	342'50	369'00	2.107'00
SUMA	1.653'00	1.657'00	1.655'00	1.716'00	1.644'50	1.770'50	

CUADRO NUM. 6: NIVELES INICIALES DE NEMATODES PARA EL CULTIVO DESPUES DE LA PULVERIZACION. Niveles de nematodes por duplicado y réplica después de la pulverización considerados como iniciales para el cultivo hospedador.

DUPLICADOS	REPLICAS						MEDIA
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	
D_1	51	23	28	24	77	78	46'8
D_2	30	27	13	17	52	72	35'2
D_3	39	21	11	8	63	61	33'8
D_4	24	17	5	9	60	79	32'3
D_5	6	22	4	10	65	63	28'3
MEDIA	30'0	22'0	12'2	13'6	63'4	70'6	35'3

CUADRO NUM. 7: HUMEDAD DE LOS DISCOS AL TERMINAR LA DESECACION. Humedades de los discos en tantos por ciento para las réplicas y duplicados (nueva numeración) al terminar la desecación.

DUPLICADOS	REPLICAS						MEDIA
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	
D_1	2'36	2'62	1'96	2'06	3'00	2'92	2'49
D_2	2'24	2'45	2'92	1'71	3'44	2'97	2'62
D_3	2'91	3'57	2'96	2'29	4'05	3'04	3'14
D_4	3'33	3'66	3'05	3'32	3'53	4'08	3'50
D_5	2'71	3'15	3'21	3'70	3'80	3'93	3'42
MEDIA	2'71	3'09	2'82	2'62	3'56	3'39	3'03

CUADRO NUM. 8: TIEMPOS DE RECOGIDA DE LOS ACUMULOS DE POLVO DE LOS DUPLICADOS. Tiempos en minutos de recogida de los acúmulos de polvo en los duplicados de la cámara de pulverización.

DUPLICADOS	REPLICAS						
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	SUMA
D_1	14	23	11	13	14	18	93
D_2	32	34	28	19	28	28	169
D_3	40	41	34	33	32	33	213
D_4	53	59	52	39	42	39	284
D_5	68	69	62	56	46	47	348
SUMA	207	226	187	160	162	165	

CUADRO NUM. 9: ESTUDIO DE LA CORRELACION ENTRE LOS TIEMPOS DE RECOGIDA DE LOS ACUMULOS DE POLVO DE LOS DUPLICADOS Y LOS NIVELES DE NEMATODES RECUPERADOS DE ELLOS. Correlación entre tiempos (tiempo que duró la recogida de duplicados del APARATO DE POLVO) y número de nematodes (*Macroposthonia*) de las pulverizaciones.

DUPLICADOS O MACETAS

NUMERACION GLOBAL	NUEVA NUMERACION	TIEMPOS DE REOOGIDA DE LOS ACUMULOS DE POLVO	NEMATODES POR MACETA
R_3D_1	R_3D_1	11	28
R_1D_1	R_1D_1	13	24
R_5D_2	R_5D_1	14	77
R_1D_1	R_1D_1	14	51
R_6D_4	R_6D_1	18	78
R_1D_2	R_1D_2	19	17
R_2D_2	R_2D_1	23	23
R_6D_6	R_6D_2	28	72
R_3D_4	R_3D_2	28	13
R_5D_5	R_5D_2	28	52
R_5D_6	R_5D_3	32	63
R_1D_3	R_1D_2	32	30

CUADRO NUM. 9 (*Continuación*)

NUMERACION GLOBAL	NUEVA NUMERACION	TIEMPOS DE RECOGIDA DE LOS ACUMULOS DE POLVO	NEMATODES POR MACETA
R_6D_7	R_6D_3	33	61
R_1D_5	R_1D_3	33	8
R_2D_4	R_2D_2	34	27
R_3D_5	R_3D_3	34	11
R_6D_9	R_6D_4	39	79
R_4D_6	R_4D_4	39	9
R_1D_4	R_1D_3	40	39
R_2D_5	R_2D_3	41	21
R_5D_8	R_5D_4	42	60
R_5D_9	R_5D_5	46	65
R_6D_{10}	R_6D_5	47	63
R_3D_8	R_3D_4	52	5
R_1D_6	R_1D_4	53	24
R_4D_5	R_4D_5	56	10
R_2D_8	R_2D_4	59	17
R_3D_{10}	R_3D_5	62	4
R_1D_5	R_1D_5	68	6
R_2D_{10}	R_2D_5	69	22

Valor de "r" calculado ... ... — 0'3755
Valor de "r" tabulado * ... ... 0'3494

*, para 28 grados de libertad y el 5 por ciento de probabilidad.

CUADRO NUM. 10: PESOS FINALES DE LAS RAICES DEL HOSPEDADOR. Pesos finales en gramos de las raíces del clavel después de la multiplicación sobre ellas de los nematodes.

DUPLICADOS	REPLICAS						
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	SUMA
D_1	0'2	0'1	3'5	2'3	0'5	0'2	6'8
D_2	2'5	0'5	0'1	0'5	2'5	1'0	7'1
D_3	1'7	1'0	0'1	1'0	3'0	0'2	7'0
D_4	0'5	2'0	0'2	1'0	2'0	0'5	6'2
D_5	0'5	1'5	0'3	0'5	1'0	1'0	4'8
SUMA	5'4	5'1	4'2	5'3	9'0	2'9	

CUADRO NUM. 11: NEMATODES ADHERIDOS A LAS RAICES. Niveles absolutos de nematodes (*Macroposthonia*) por maceta o duplicado recuperados en el aparato de lluvia por estar clavados en las raíces y tantos por ciento de los niveles totales de nematodes por maceta a que corresponden.

	REPLICAS						
DUPLICADOS	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	SUMA
D_1	62 (1'38)	22 (0'41)	0 (0'00)	23 (0'68)	76 (1'60)	20 (0'15)	203 (0'56)
D_2	6 (0'18)	6 (0'10)	19 (0'34)	33 (1'04)	107 (3'42)	37 (0'19)	208 (0'51)
D_3	290 (10'72)	0 (0'00)	0 (0'00)	3 (0'26)	36 (0'41)	0 (0'00)	329 (2'35)
D_4	0 (0'00)	4 (0'08)	0 (0'00)	4 (2'16)	13 (1'39)	112 (0'55)	133 (0'50)
D_5	0 (0'00)	4 (0'68)	0 (0'00)	0 (0'00)	8 (1'68)	13 (0'33)	25 (0'29)
SUMA	358 (2'93)	36 (0'21)	19 (0'18)	63 (0'64)	240 (1'33)	182 (0'31)	898 (0'71)

CUADRO NUM. 12: NIVELES FINALES DE NEMATODES DESPUES DE SU MULTIPLICACION SOBRE LAS RAICES DEL HOSPEDADOR. Niveles de nematodes por maceta (media de dos triplicados) al finalizar el cultivo del clavel.

	REPLICAS					
DUPLICADOS	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	SUMA
D_1	4.440	5.400	4.988	3.364	4.669	13.380	36.241
D_2	3.303	6.000	5.525	3.147	3.025	19.950	40.950
D_3	2.704	216	3	1.169	8.707	1.150	13.949
D_4	111	4.802	252	181	938	20.213	26.497
D_5	1.602	585	0	1.875	469	3.969	8.500
SUMA	12.160	17.003	10.768	9.736	17.808	58.662	

CUADRO NUM. 13: MULTIPLICACION DE LOS NEMATODES SOBRE LAS RAICES DEL CLAVEL. Todos los valores del cuadro son el cociente de dividir los niveles finales de nematodes (después del cultivo hospedador) por los niveles iniciales (después de la desecación y pulverización).

	REPLICAS						
DUPLICADOS	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	MEDIA
D_1	87	235	178	140	61	172	146
D_2	110	222	425	185	58	277	213
D_3	69	10	*	146	138	19	64
D_4	5	282	50	20	16	256	105
D_5	267	27	0	188	7	63	92
MEDIA	108	155	131	136	56	157	123

*, inferior a 0'5.

DISCUSION

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE RESISTENCIA A LA DESECACION DE LOS NEMATODES TYLENCHORHYNCHUS SULCATUS Y T. DUBIUS

El análisis estadístico de los logaritmos de los niveles de *T. sulcatus* por disco demuestra para los tiempos de desecación normal y largo que no existen diferencias estadísticamente apreciables entre las réplicas, ni entre las posiciones en el aparato de desecación.

Los niveles iniciales y finales después de 15 horas de desecación (cuadro núm. 2) son estadísticamente iguales entre sí. *T. sulcatus* era, pues, apto para ser transferido al suelo de cultivo y realizar con él la prueba de dispersión de nematodes filiformes con el polvo en la cámara de pulverización (material y métodos, técnica de pulverización).

El hecho de que por desecación se le pudiera quitar al suelo original sólo un 0'17 por ciento de humedad y que la humedad original fuera del 1'62 por ciento, sumado a que el 95'7 por ciento de los nematodes estuviera formado por larvas y sólo el 4'3 por adultos macho y hembra hace suponer que la población de *T. sulcatus* se encontraba en fase de resistencia en su medio ambiente natural cuando el suelo fue tomado.

Los niveles de *T. sulcatus* después de dos meses y medio de desecación difieren estadísticamente de los iniciales, con un 41 por ciento de supervivencia calculado. No obstante, no se sabe si el 59 por ciento restante murió como consecuencia de la desecación o, lo que es más probable, por agotamiento de sus reservas nutritivas ante una prolongada falta de alimento procedente de su hospedador *Frankenia corymbosa* Desf.

Los niveles de *T. dubius* por disco después de 14 horas de desecación (cuadro núm. 2) demuestra que no resiste la desecación total del suelo, ya que prácticamente todos los nematodes murieron (0'1 por ciento de supervivencia calculado). Hubo que pensar, por tanto, en una desecación parcial del suelo hasta que formara polvo e intentar entonces la dispersión de éste u otro nematode no resistente a la desecación en la cámara de pulverización.

NIVELES DE MACROSPOSTHONIA CURVATA DURANTE LA DESECACION GRADUAL DEL SUELO. ELECCION DEL GRADO DE DESECACION DEL SUELO.

El nivel de nematodes baja (cuadro núm. 3) a medida que disminuye con el tiempo la humedad del suelo de los discos de 4 mm de espesor. A partir de ocho horas hubo una disminución brusca de la humedad paralela a la muerte masiva de los nematodes.

A partir de 3'55 por ciento de humedad de los discos (dos horas de desecación en este caso) el suelo formó polvo fácilmente dispersible por el viento.

Por tener el suelo un nivel de nematodes aceptable y formar polvo con facilidad, se eligió una humedad final de aproximadamente un tres por ciento, correspondiente en este caso a un tiempo de desecación de entre tres y cuatro horas, para dar por terminada la desecación y comenzar la dispersión del polvo con nematodes en la cámara de pulverización.

PRUEBA DE DISPERSION CON EL POLVO EN LA CAMARA DE PULVERIZACION DE NEMATODES SENSIBLES A LA DESECACION. ELECCION DE ESPECIE DE NEMATODE.

De los cuatro nematodes dispersados con el polvo de un tres por ciento de humedad en la cámara de pulverización (cuadro núm. 4) el *Macroposthonia curvata* es de supervivencia* media más baja, un 1'9 por ciento. Le superan el *Tylenchulus semipenetrans* y *Tylenchorhynchus* dubius, con un 5'2 y 6'1 por ciento, respectivamente, y el *Pratylenchus* CAZ-1, con un 13'1.

El *M. curvata* por su menor capacidad de resistencia a la desecación fue elegido para determinar en la prueba definitiva si conservaba su capacidad infectiva después de ser dispersado con el polvo en la cámara de pulverización, ya que, si la conservaba, los demás, al parecer más resistentes, también deberían ser infectivos al ser dispersados con el polvo bajo las mismas condiciones experimentales.

Es lógico que el *Pratylenchus* CAZ-1 fuera el más resistente a la desecación por provenir de un medio ambiente donde sus

*, utilizando como criterio de viabilidad la capacidad de desplazamiento.

poblaciones llegan a sufrir temperaturas de 45 grados centigrados con sólo un dos por ciento de humedad sin desaparecer por completo (36).

DETERMINACION DE LA CAPACIDAD INFECTIVA DEL MACROPOSTHONIA CURVATA DESPUES DE SU DISPERSION CON EL POLVO EN LA CAMARA DE PULVERIZACION

NIVELES INICIALES PARA EL CULTIVO DESPUES DE LA PULVERIZACION

Comprobación de la correcta distribución del polvo en los duplicados de la cámara de pulverización.

Los pesos de polvo correspondientes a los duplicados destinados a la determinación de los niveles de nematodes después de la pulverización o iniciales para el cultivo hospedador están expuestos en el cuadro núm. 5. El análisis de variancias de los logaritmos de dichos pesos no da significación para las REPLICAS ni para los DUPLICADOS. La pulverización es de resultados constantes y el polvo se reparte de forma estadísticamente homogénea por los duplicados.

Niveles iniciales de nematodes para el cultivo después de la pulverización.

Los niveles de nematodes por maceta compuesta (duplicado) después de la pulverización están expuestos en el cuadro núm. 6.

El análisis de variancias de los logaritmos de estos niveles da significación para las REPLICAS y los DUPLICADOS. Los niveles de nematodes que han resistido la pulverización difieren estadísticamente en general entre sí.

La diferencia crítica para los DUPLICADOS demuestra que el nivel D_1 es estadísticamente mas elevado que los de D_1 D_5 y los de D_1 D_2 estadísticamente mas elevados que el D_5. Hay una disminución del nivel de nematodes a medida que aumenta el tiempo empleado en la acumulación del polvo en los duplicados.

La diferencia crítica para las REPLICAS demuestra que existen tres grupos de niveles de nematodes estadísticamente diferentes entre sí, que de mayor a menor, corresponden a R_6 R_5. R_1 R_2 y R_4 R_3.

Humedad de los discos al terminar la desecación.

La humedad de los discos al terminar la desecación está expuesta en el cuadro núm. 7.

El análisis de variancias de los logaritmos de los tantos por ciento de humedad de los discos de suelo al terminar la desecación dá significación para las REPLICAS y DUPLICADOS.

La diferencia crítica para los DUPLICADOS demuestra que existen dos grupos de humedades de los discos, el D_1 D_2, y el D_3 D_5 D_4, el primero significativamente menor que el segundo. Las humedades dentro de cada grupo no difieren estadísticamente entre ellas. La diferencia entre grupos parece deberse a que el aparato de desecación se llenó de discos de arriba abajo y en ese mismo orden se levantaron los duplicados. Los primeros tuvieron por tanto mayor tiempo de desecación que los últimos.

La diferencia crítica para las REPLICAS demuestra que la humedad del grupo R_5 R_6 R_2 es estadísticamente mayor que la de R_4, pero sobretodo que la humedad del grupo R_5 R_6 es estadísticamente mayor que la del R_3 R_1 R_1. Al observar durante las pulverizaciones (REPLICAS)) que los niveles de nematodes disminuían sensiblemente en el grupo R_1 R_3 en relación a los del R_1 R_2, se permitió una menor desecación media de los discos en el aparato de desecación antes de la pulverización en la cámara, lo que viene reflejado en una humedad del grupo R_5 R_6 estadísticamente mayor que la mayor parte de las demás réplicas.

Tiempos de recogida de los acúmulos de polvo de los duplicados.

Los tiempos de recogida de los acúmulos de polvo de los duplicados de la cámara de pulverización están expuestos en el cuadro núm. 8.

El análisis de variancias de los logaritmos de los tiempos empleados en acumular el polvo de los duplicados da significación para las REPLICAS y los DUPLICADOS.

La diferencia crítica para las REPLICAS demuestra que el tiempo R_2 estadísticamente mayor que el grupo R_3 R_6 R_5 R_1 y que el grupo R_2 R_1 es estadísticamente mayor que el R_1. Los tiempos componentes del grupo R_3 R_6 R_5 R_4 no difieren estadísticamente entre ellos. Los tiempos de recogida de los acúmulos de

polvo disminuyen significativamente a medida que se adquiere práctica en la operación.

La diferencia crítica para los DUPLICADOS demuestra que los tiempos de recogida de los acúmulos de polvo van aumentando del D_1 al D_5, siendo todos ellos estadísticamente diferentes entre sí.

Estudio de la correlación entre los tiempos de recogida de los acúmulos de polvo de los duplicados y los niveles de nematodes recuperados de ellos.

Una vez ordenados los tiempos de recogida de menor a mayor y los niveles de nematodes que les correspondían (cuadro número 9), la determinación del coeficiente de correlación ó "r", negativo, demostró, al ser mayor que el valor tabulado, que la probabilidad de obtener los mismos resultados experimentales en ausencia de toda correlación entre las dos series de valores era menor del cinco por ciento. Al aumentar los tiempos disminuyen los niveles de nematodes.

Influencia de la humedad del suelo después de la desecación y de la pulverización en los niveles de nematodes.

Al aumentar de forma significativa el tiempo de recogida de los acúmulos de polvo de los duplicados (tiempo de exposición a una humedad del polvo dispersado por la cámara de pulverización tan baja como 0'69* por ciento), el nivel de nematodes disminuye de forma gradual pero estadísticamente significativa.

Al ser estadísticamente mayor la humedad de los discos sobre todo de las últimas réplicas al término de la desecación (posiblemente paralela a una mayor humedad de los acúmulos de polvo), los niveles de nematodes recuperados de ellos después de la pulverización son estadísticamente mas elevados.

*. la media de las determinaciones de la humedad del polvo de 10 duplicados fué 0'69 (0'59-0'88) por ciento. Valor de S (errorestandar) de ± 0'12.

Algunos *Macroposthonia curvata* conservan su movilidad después de la desecación y pulverización del suelo cuando su exposición a un grado de humedad muy bajo (suelo prácticamente seco) no es demasiado prolongada. Este tiempo de exposición tolerable tiene, no obstante, límites controlables bajo condiciones experimentales.

NIVELES FINALES DE NEMATODES DESPUES DEL CULTIVO HOSPEDADOR

Pesos finales de las raíces del hospedador

Los pesos finales de las raíces del hospedador están expuestos en el cuadro núm. 10.

El análisis de variancias de los logaritmos de los pesos finales de raíces no da significación para las REPLICAS ni para los DUPLICADOS. Las diferencias en el desarrollo radicular del hospedador no han influido en los niveles finales de nematodes de réplicas y duplicados. No obstante, el pobre desarrollo general de las raíces no ha permitido una intensa multiplicación de los nematodes.

Nematodes adheridos a las raíces.

No fueron detectados nematodes procedentes de infecciones accidentales que pudieran interferir con la reproducción del *Macroposthonia*. Algunos nematodes (*Macroposthonia*) al levantar la experiencia quedaron adheridos a las raíces, posiblemente por tener clavados en ellas no sólo el estilete sino también la cabeza, pero como en general sus porcentajes de los niveles totales por maceta son inferiores al cinco por ciento (cuadro núm. 11) no han sido incluídos, con la excepción del R_1 D_3, en los cálculos de los niveles finales.

Niveles finales de nematodes después de su multiplicación sobre las raíces del hospedador.

Los nematodes (*Macroposthonia*) se reprodujeron sobre las raíces del clavel después de haber sido desecados con el suelo y dispersados con el polvo en la cámara de pulverización (cua-

dro núm. 12). Salvo en las macetas R_3 D_3 y R_3 D_5, la reproducción fue mas o menos activa, aunque no muy intensa en conjunto debido al pobre desarrollo general del sistema radicular de las plantas de clavel utilizadas en la experiencia final (cuadro núm. 10). La razón de multiplicación fue de 1:123 (cuadro núm. 13), habiéndose alcanzado en otra experiencia similar 1: 420 (comunicación personal).

El análisis de variancias de los logaritmos de los niveles finales de nematodes da significación para las REPLICAS, DUPLICADOS y su interacción. No la da para los TRIPLICADOS. Hay constancia de resultados en la recuperación y recuento de los nematodes del suelo.

La diferencia crítica para los DUPLICADOS demuestra que existen dos grupos de niveles de nematodes, D_2 D_1 y D_4 D_3, y un nivel, D_5, diferentes entre sí. El primero es estadísticamente más elevado que el segundo y el segundo estadísticamente mas elevado que el tercero. Dentro de los dos grupos no hay diferencias significativas.

Aunque de forma un poco desordenada, consecuencia natural de la variabilidad en los factores que influyen en la intensidad de reproducción de los nematodes de cada maceta y su valoración, se observan unas poblaciones finales de nematodes mas elevadas en los duplicados para los que se empleó un menor tiempo en la acumulación del polvo en la cámara de pulverización (menor tiempo de exposición a un grado de humedad del polvo muy bajo) y que iniciaron, como consecuencia, el cultivo del hospedador con niveles iniciales de infección mas elevados.

La diferencia crítica para las REPLICAS demuestra la existencia de niveles de nematodes estadísticamente diferentes entre sí que de mayor a menor corresponden a R_6, R_2 R_5 R_1 (R_2 es estadísticamente más elevado que R_1), R_4, R_3. Aunque de forma algo desordenada de nuevo, se observan niveles finales de nematodes mas elevados en las réplicas de nivel inicial de infección mas alto por haber dispuesto de un mayor grado de humedad de los discos al terminar la desecación (posiblemente paralela a una exposición a un grado de humedad menos bajo durante la acumulación del polvo en los duplicados de la cámara de pulverización).

Los ejemplares de *Macroposthonia curvata* que sobreviven a la desecación parcial del suelo que los alberga y a su dispersión con el polvo en la cámara de pulverización conservan su capacidad infectiva o de reproducción en un hospedador.

Su nivel inicial de infección para el cultivo hospedador, paralelo en términos generales al nivel final después del cultivo, se ve afectado por el tiempo de exposición a un grado de humedad del polvo muy bajo. Los limites del tiempo de exposición tolerables son estrechos pero perfectamente controlables bajo condiciones experimentales, posiblemente reproducibles por la naturaleza.

RESUMEN

Para estudiar la posibilidad de dispersar con el polvo por el aire nematodes filiformes sensibles a la desecación y comprobar si conservaban después su capacidad infectiva, se seleccionó primero un suelo compuesto adecuado para ser cultivado y susceptible de ser dispersado en estado seco por el viento y se desarrolló mas tarde una técnica de pulverización en la que el suelo seco es dispersado en el interior de una cámara. El polvo sedimenta en el interior de una serie de pequeñas macetas ordenadas en filas y columnas. Una determinada agrupación del polvo de las pequeñas macetas en duplicados proporciona constancia de resultados en los pesos de polvo y en los niveles de un nematode filiforme resistente a la desecación (*Tylenchorhynchus sulcatus* De Guiran, 1967), igualmente dispersado con el polvo y recuperado de los duplicados.

Se estudió y desarrolló una técnica para desecar el suelo seleccionado en discos de 4 mm de espesor y 100 ml de volumen colocados en un aparato construído para este fin.

Se comprobó que, mientras *Tylenchorhynchus dubius* (Butschli, 1873) Filipjev, 1936 no resiste la desecación del suelo, *T. sulcatus* si la resistió. Incluso después de dos meses y medio en suelo seco el 39 por ciento de la la población de *T. sulcatus* estaba viva y no se conoce si el 61 por ciento restante murió por falta de agua o por agotamiento de sus reservas nutritivas en ausencia de raíces hospedadoras.

Para nematodes sensibles a la desecación (*Macroposthonia curvata* (Raski, 1952) De Grisse y Loof, 1965) se vió que secándolo hasta un 3 por ciento de humedad el suelo podia ser dispersado por el viento y conservaba niveles aceptables de nematodes.

Utilizando la capacidad de desplazamiento como criterio de viabilidad, se realizó un estudio comparativo sobre la capacidad de resistencia a la desecación de los nematodes *M. curvata*, *T. dubius*, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913 y *Pratylenchus* CAZ-1. Después de la desecación parcial del suelo, este fue pulverizado por el viento dentro de la cámara de pul-

verización, recuperándose de los duplicados los nematodes que conservaban su movilidad. *M. curvata* fue seleccionado para la etapa experimental definitiva por ser el de grado de supervivencia más bajo.

Después de desecar el suelo infectado por *M. curvata* hasta un tres por ciento de humedad y de dispersarlo por el viento dentro de la cámara de pulverización, donde los nematodes están expuestos en el polvo a una humedad de sólo un 0'69 por ciento, el cultivo de un hospedador demostró que algunos *M. curvata* eran infectivos después de su dispersión con el polvo por el viento.

Análisis estadísticos básicamente de la humedad final de los discos de suelo, de los niveles de nematodes móviles recuperados del polvo, del tiempo empleado en reunir el polvo en duplicados y de la correlación entre las dos últimas series de valores, asi como de los niveles finales de nematodes recuperados del suelo después del cultivo de las plantas hospedadoras, demostraron que para nematodes filiformes no resistentes a la desecación el tiempo soportable de exposición aun nivel de humedad extremadamente bajo es corto aunque controlable bajo condiciones experimentales, las cuales, no cabe duda,, pueden ser reproducibles por la naturaleza.

Los remolinos y tormentas de viento pueden, por lo tanto, dispersar con el polvo cantidades importantes de nematodes filiformes parásitos de plantas considerados no resistentes a la desecación. Si su permanencia en el aire es corta y caen sobre un suelo húmedo, el posterior laboreo del suelo y el cultivo de una planta hospedadora permitirán el establecimiento y elevación de nivel de sus poblaciones.

REFERENCIAS

1.—Anonimo. (1959). Potato root eelworm. Her Majesty's Sta. Office, Ministry of Agric. Advisory. *Leaflet 284*, 8 pgs.

2.—Anonimo. (1961). Beet eelworm. Her. Majesty's Sta. Office, Ministry of Agric. Advisory. *Leaflet 233*, 6 pgs.

3.—Cayrol, J. C. (1969). Influence de la température au cours de l'embryogenèse sur l'éclosion des oeufs de *Ditylenchus myceliophagus* J. B. Goodey, 1958. *Ann. Zool. Ecol. Anim., 1*: 7-15.

4.—Chitwood, B. G. (1951). The golden nematode of potatoes. U. S. Dept. Agric. Circular núm. *875*: 48 pgs.

5.—Cohn, E. (1966) Observations on the survival of free - living stages of the citrus nematode. *Nematológica 12*: 321-327.

6.—Dalmasso, A. (1965). Importance du mode de distribution des populations de *Xiphinema* et *Longidorus*. C. R. 8.° Symposium Nematol. Antibes.

7.—Dalmasso, A. (1969). Méthodes de lutte contre un nematode vecteur du court - noué de la vigne. *Phytoma 204*: 20-23.

8.—Davide, R. G.; Triantaphyllou, A. C. (1967). Influence of the environment and sex differentiation of root - knot nematodes. I. Effect of infection density, age of the host plant and soil temperature. *Nematológica 13*: 102-110.

9.—Dropkin, V. H. (1966). Physiology of nematodes of the soil. *Ann. New York Acad. Sci. 139*: 39-52.

10.—Duggan, J. J. (1960). Effect of soil dryng on the viability of *Heterodera major* cysts. *Nature 185*: 554-555.

11.—Ellenby, C. (1968). The survival of desiccated larvae of *Heterodera rostochiensis* and *H. schachtii*. *Nematológica 14*: 544-548.

12.—Epps, J. M. (1968). Survival of soybean cyst nematodes in seed bags. *Plant Disease Report. 52*: 45.

13.—Griffin, G. D. (1969). Effects of temperature on *Meloidogyne hapla* in alfalfa. *Phytopathology 59*: 599-602.

14.—Guevara Pozo, D.; Tobar Jimenez, A. (1964). Los viveros de plantones probables focos de infección de nematodes de gran patogeneidad parásitos de vegetales.*Rev. Iber. Parasitol. 24*: 67-74.

15.—Kleijburt, P. (1960). Soil sample examination as a basis for advisory work against stem eelworms, *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) *Nematológica* (suppl. II) *5*: 22-27.

16.—Kort, J. (1960). A technique for the extraction of *Heterodera* cysts from wet soil and for the estimation of their egg and larval content. *Overd. Plziekt. Dienst. Wageningen, 233*, 7 pgs.

17.—Kuiper, K. (1961). Dissemination of plant parasitic nematodes into new poldersoil. VIth International Nematology Symposium Gent, Belgium.

18.—Maggenti, A. R. (1962).. The production of the gelatinous matrix and its taxonomic significance in *Tylenchulus* (Nematoda: Tylenchulinae). *Proc. helminth. Soc. Wash., 29*: 139-144.

19.—O'Bannon, J. H.; Reynolds, H. W.; Leathers, C. R. (1966). Effects of temperature on penetration, development, and reproducction if *Tylenchulus semipenetrans*. *Nematológica 12*: 483-487.

20.—Oostenbrink, M. (1950). Het aardappelaaltje (*Heterodera rostochiensis* Wollenweber), een gevaarlijke parasiet voor de eenziijdge aardappelcultuur. *Versl. Plantenziekt. Dienst Wageningen, 115*, 230 pgs.

21.—Oostenbrink, M. (1960). Estimating nematodes populations by some selected methods. (En *Nematology*: Sasser & Jenkins). *Univ. North. Carol. Press. Chapel Hill*, 85-102.

22.—Orr, C. C.; Newton, O. H. (1971). Distribution of nematodes by wind. *Plan Diseasse Reptr. 55*: 61-63.

23.—Palm, Ch. E.; col. (1968). Control of plant - parasitic nematodes. *National Acad. Sci. Principles of Plant and Animal Pest Control 4*: 172 pgs.

24.—Peacock, F. C. (1957). Studies on root - knot nematodes if the genus *Meloidogyne* in the Gold Coast. II.—The effect of soil moisture content on survival of the organism. *Nematológica 2*: 114-122.

25.—Rhoades, H. L.; Linford, M. B. (1961). Biological studies on some members of the genus *Pratylenchus*. *Proc. helminth. Soc. Wash. 28*: 51-59.

26.—Sharma, R. D. (1971). Studies on plant parasitic nematode *Tylenchorhynchus dubius*. *Meded. Landbouwhogeschool Wageningen*, 71 - 1: 154 pgs.

27.—SHEPHERD, A. M. (1962). The emergence of larvae from cysts in the genus *Heterodera*. *Tech. Comm. Bureau Helminth., St. Albans, Herts*, Inglaterra núm *32*, 90 pgs.

28.—THOMASON, I. J. (1962). Reaction of cereals and sudan grass to *Meloidogyne* spp. and the relation of soil temperature to *M. javanica* populations. *Phytopathology 52*: 787-791.

29.—THOMASON, I. J.; FIFE, D. (1962). The effect of temperature on development and survival of *Heterodera schachtii* Schm. *Nematológica 7*: 139-145.

30.—TOBAR JIMENEZ, A. (1962). Modificación al método del "Cottonwool filte" de Oostenbrink. *Rev. Iber. Parasitol. 22*: 329-334

31.—TOBAR JIMENEZ, A. (1962). Notas sobre el modo de seleccionar el material de uso en Nematología del suelo. *Rev. Iber. Parasitol. 22*: 335-341.

32.—TOBAR JIMENEZ, A. (1963). The behaviour of a soil population and some plant parasitic nematodes in the processes of extraction of five different methods. *Rev. Iber. Parasitol. 23*: 285-314.

33.—TOBAR JIMENEZ, A. (1970). Descripción de dos nuevas especies del género *Tylenchorhynchus* Cobb, 1913 (Nematoda: Tylenchidae), con algunos datos adicionales sobre *T. sulcatus* De Guiran, 1967. *Rev. Iber. Parasitol. 30*: 215-228.

34.—TOBAR JIMENEZ, A. (1973). Nematodes de los "secanos" de la Comarca de Alhama. I Niveles de población y cultivos hospedadores. *Rev. Iber. Parasitol. 33*: 525-556.

35.—TOBAR JIMENEZ, A.; GUEVARA POZO, D. (1967). Estudio parasitológico de la provincia de Granada. Nematodes del suelo parásitos de vegetales. 1. Poblaciones parásitas granadinas, su distribución geográfica cuantitativa y posible o conocida importancia económica. *Rev. Iber. Parasitol. 27*: 135-172.

36.—TOBAR JIMENEZ, A.; PALACIOS MEJIA, F.; GALLARDO BERNAL, M. (1974). Distribución vertical de los nematodes de un prado natural. *Rev. Iber. Parasitol. 34*: 177-184.

37.—TOBAR JIMENEZ, A.; PEMAN MEDINA, C. (1970). Especies de *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Dorylaimida) y la "degeneración infecciosa" de los viñedos de Jerez. I. Valoración de los niveles de población de nematodes. *Rev. Iber. Parasitol. 30*: 25-56.

38.—TRUDGILL, L. D. (1970). Survival of different stages *Heterodera rostochiensis* in higt temperature. *Nematológica 16*: 94-98.

39.—WATSON, T. R.; LOWNSBERY, B. F. (1970). Factors influencing the hatching of *Meloidogyne naasi* and comparison with *M. hapla*. *Phytopathology 60*: 457-460.

40.—WYSS, U. (1970). Zur toleranz wandernder wurzelnematoden gegenüber zunehmender austrocknung des bodens und hohen osmotischen drücken. *Nematológica 16*: 63-73.