



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA**

**Estudio de la diversidad de nemátodos predadores en suelos tropicales y subtemplados asociados a cultivos de hortalizas y musáceas en Ecuador**

**Trabajo de titulación Previo a la obtención del Título de Magíster en  
Biociencias Aplicadas con mención en Biodescubrimiento**

**Presentado por:**

**William Efraín Rosas Carrera**

**Guayaquil – Ecuador**

**2021**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios todo poderoso por bendecirnos siempre, ser el apoyo y fortaleza a lo largo de la carrera, especialmente en estos momentos de crisis. Al VLIR NETWORK ECUADOR, a todos los docentes de Postgrado en Biociencias Aplicadas, a mi estimada Ph.D. María Isabel Jiménez Feijoo, directora del proyecto de tesis, al codirector Ph.D. Eduardo Chica, al Ph.D. Eduardo Álava Hidalgo, y en especial al Ph.D. Paolo M. Piedrahita, por brindar su fundamental asesoría. Al coordinador del programa Ph.D. Juan Manuel Cevallos por su destacada labor como coordinador de la maestría, y apoyo fundamental en el desarrollo de las actividades de investigación, así como también en las actividades para el proceso de graduación. A la Ph.D. Denisse F. Peña, coordinadora del Laboratorio de Biología Molecular, Universidad de Cuenca, Campus Yanuncay, por brindarme todas las facilidades en el uso de microscopios y cámara digital. A la analista responsable del laboratorio agrícola Agrolab, Ing. María Landre Jama Ochoa y a todos sus colaboradores por su asistencia en el laboratorio y trabajo de campo. Al Ph.D. Eduardo Francisco Chávez Navarrete, director del laboratorio de suelos ESPOL, así como a los analistas Ing. Eduardo Gutiérrez y Ing. Martha Hidalgo, por su asistencia técnica. Al Ing. Aquiles Javier Delgado Elias por su colaboración en el muestreo de suelos en cultivos de musáceas.

## **DEDICATORIA**

A mi hijo, Isaac E. Rosas Alvarado, a mi esposa Carolina Alvarado, así como también a mi madre Isidra Macias por haber confiado en mí. A todos los profesores de la Maestría por haber brindado parte de sus conocimientos a lo largo del programa en especial al Ph.D. Juan Manuel Cevallos por el apoyo desde el inicio. A la Facultad de Ciencias de la Vida de la distinguida Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL).

## **TRIBUNAL DE GRADUACIÓN**

María Isabel Jiménez Feijoo Ph.D.

DIRECTORA DEL PROYECTO DE  
TITULACIÓN

Eduardo J. Chica Ph.D.

CODIRECTOR DEL PROYECTO DE  
TITULACIÓN

Paolo M. Piedrahita Piedrahita Ph.D.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL 1



Eduardo Ignacio Álava Hidalgo Ph.D.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL 2

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

“La responsabilidad del contenido del presente trabajo de titulación, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral”.

William Efrain Rosas Carrera

## ÍNDICE GENERAL

Y	
<b>AGRADECIMIENTO.....</b>	<b>II</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>III</b>
<b>TRIBUNAL DE GRADUACIÓN.....</b>	<b>IV</b>
<b>DECLARACIÓN EXPRESA.....</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE GENERAL.....</b>	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>X</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>XI</b>
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>11</b>
<b>INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
1.1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	11
1.2 OBJETIVO GENERAL.....	13
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
1.4 MARCO TEÓRICO.....	13
1.4.1 <i>Nemátodos parásitos de plantas</i> .....	13

1.4.2 Nemátodos fitoparásitos asociados a cultivos de <i>Allium sativum</i> , <i>Brassica oleracea</i> grupo <i>Capitata e Italica</i> , <i>Lactuca sativa</i> , <i>Daucus carota</i> , <i>Cynara cardunculus</i> Grupo <i>Scolymus</i> .....	14
1.4.3 Nemátodos fitoparásitos asociados a cultivos de <i>Musáceas</i> .....	16
1.4.4 Características de los nemátodos predadores.....	17
1.4.5 Géneros y especies de nemátodos predadores.....	18
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>20</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>20</b>
2.1 MUESTREO DE ZONAS CULTIVADAS CON MUSÁCEAS Y HORTALIZAS, PARA EL AISLAMIENTO DE ESPECIES DE NEMÁTODOS.....	20
2.1.1 Tipos de cultivo.....	20
2.1.2 Zonas para la obtención de las muestras de suelo.....	20
2.1.3 Procedimiento para la recolección de muestras de suelo.....	21
2.1.4 Análisis de variables.....	22
2.1.5 Extracción de nemátodos.....	23
2.1.6 Aislamiento de nemátodos.....	24
2.2 IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR PARA LA CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS ESPECIES DE NEMÁTODOS AISLADAS.....	24
2.2.1 Identificación morfológica.....	24
2.2.2 Identificación molecular.....	24
2.3 ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD DE NEMÁTODOS E ÍNDICES DE REDES ALIMENTARIAS.....	27

2.3.1 <i>Diversidad de nemátodos</i> .....	27
2.3.2 <i>Índices de redes alimentarias de nemátodos</i> .....	27
2.3.3 <i>Análisis estadístico</i> .....	29
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>30</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>30</b>
3.1 COMPOSICIÓN TAXONÓMICA Y ABUNDANCIA.....	30
3.2 COLECCIÓN DE COMUNIDAD DE NEMÁTODOS POR AGROECOSISTEMAS.....	32
3.3 COMPOSICIÓN DE LA DIVERSIDAD FUNCIONAL.....	33
3.4 ÍNDICES DE REDES ALIMENTICIAS.....	35
3.5 PCR Y SECUENCIACIÓN.....	38
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>40</b>
3.6 COMPOSICIÓN TAXONÓMICA Y ABUNDANCIA.....	40
3.7 DIVERSIDAD DE NEMÁTODOS POR AGROECOSISTEMAS Y SU RELACIÓN CON VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS.....	41
3.8 PRESENCIA DE NEMÁTODOS PREDADORES EN LA DISTRIBUCIÓN DE NEMÁTODOS DE VIDA LIBRE.....	42
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	<b>43</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>44</b>
<b>ANEXO</b> .....	<b>67</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Primers utilizados para la amplificación de amplicones.....	<b>26</b>
Tabla 2.	Clasificación taxonómica de los nemátodos encontrados.....	<b>30</b>
Tabla 3.	Número de individuos obtenidos por muestra en suelos de cultivos de zona subtemplada.....	<b>31</b>
Tabla 4.	Número de individuos obtenidos por muestra en suelos de cultivo de zona tropical.....	<b>32</b>
Tabla 5.	Índices de redes alimenticias y variables físico – químicas. Se muestra la media y desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos (promedio±sd).....	<b>33</b>
Tabla 6.	Valores promedios de índices de madurez y porcentaje de géneros de nemátodos colonizador-persistente (c-p).....	<b>36</b>
Tabla 7.	Lista de especies obtenidas desde genbank.....	<b>39</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localización de los puntos de muestreo sobre el área de estudio.....	21
Figura 2. Distribución de nemátodos según el gremio trófico.....	34
Figura 3. Distribución de nemátodos de vida libre.....	35
Figura 4. Representación gráfica de la estructura c-p de los conjuntos de nemátodos.....	37
Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa al 1% con sybr safe de los productos de amplificación obtenidos a partir del adn correspondientes a 39 muestras cuyos carriles y concentración se describen en el anexo 6.....	38

## RESUMEN

Los cultivos hortícolas y de musáceas representan una gran importancia económica para el Ecuador. Aunque existen estudios sobre la asociación de nemátodos fitopatógenos y los perjuicios que causan, poco o nada se ha investigado sobre la diversidad y composición de nemátodos en dichos cultivos. El presente estudio evalúa la comunidad de nemátodos predadores y su relación con las características fisicoquímicas del suelo, reporta la diversidad funcional a partir de su abundancia y proporción, así como también la estructura de la comunidad de nemátodos, a partir de sus grupos tróficos y colonizadores – persistentes (c-p), índices de madurez (IM) y la composición de la fauna según la estructura c-p de los conjuntos de nemátodos. Este estudio fue realizado en 21 sitios de muestreo entre cultivos orgánicos y convencionales de plantaciones hortícolas en Azuay, y banano en Guayas y el Oro. Los resultados demostraron promedios del índice Shannon H' con diferencias significativas (ANOVA, n,  $p < 0.05$ ) entre las zonas de muestreo, Tropical Convencional (TC) ( $1.18 \pm 0.43$ ), Tropical Orgánico (TO) ( $1.78 \pm 0.42$ ), Subtemplado Convencional (SC) ( $1.27 \pm 0.29$ ) y Subtemplado Orgánico (SO) ( $1.03 \pm 0.22$ ). Así como rangos de significancia muy independientes entre las zonas subtempladas y tropical. No se encontraron organismos del grupo trófico micofago en todo el estudio. Así como tampoco existieron diferencias significativas (ANOVA, n,  $p < 0.05$ ) en los índices de madurez, dominancia D, pH, abundancia del grupo trófico herbívoros. Además, se encontró mayor estabilidad en los cultivos de la zona subtemplada, tanto en cultivos de manejo orgánico como convencionales la estructura c-p. Géneros como *Tylenchus*, *Helycotylenchus* y *Pratylenchus*, representaron más del 50% de todas las colectas entre las 2 zonas de muestreo. Para suelos de plantaciones con musáceas se encontró una diversidad de especies de nemátodos en los que el grupo depredador tuvo una representación muy considerable; TC ( $53.52 \pm 11.26$ ), TO ( $72.20 \pm 15.92$ ), siendo el cultivo con manejo orgánico en el que este grupo se registró en mayor proporción, superando a los grupos omnívoros y bacterívoros. En general, no se encontraron diferencias entre los sistemas de cultivo orgánico y convencional, ya que no tuvieron un impacto considerable en la abundancia y diversidad de nemátodos. Sin embargo, el piso climático presentó un efecto importante en la distribución y diversidad de nemátodos, entre ellos los del grupo trófico predador.

## CAPÍTULO 1

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

#### 1.1 Antecedentes y Justificación

La diversidad de nemátodos tiene muchos beneficios ecológicos en los sistemas agrícolas. Por ejemplo, en el reino animal se encuentran entre los grupos más abundantes que intervienen en procesos tróficos como descomposición y liberación de nutrientes en el suelo (Desgarenes *et al.*, 2009). Hasta la actualidad han sido reportadas más de 25043 especies de nemátodos, por lo que se considera un grupo importante y diverso que tiene relación con el sistema agrícola; no obstante se estima que aún faltan muchas especies que no han sido identificadas (Elling, 2013; Zhang, 2013). Todas estas especies, se encuentran organizadas según su taxonomía y grupo trófico en agroecosistemas específicos (Bernard, 1992). Esta diversidad de nematofauna permite encontrar sistemas de conservación de microorganismo para el desarrollo sostenible de la agricultura en todos los ecosistemas (Shen *et al.*, 2020).

Uno de los componentes más importantes a la hora de estudiar a la comunidad de especies de nemátodos y su ecología, son las especies predatoras. Esta importancia radica, ya sea por su variedad de presas, o por sus notables cambios en sus estructuras anatómicas lo que le permite alimentarse de diferentes formas según las posibilidades de presa (Sidhu & Kanwar, 2020). Además, que su depredación se ve incrementada dependiendo de la abundancia de sus presas en suelos no perturbados ( Bilgrami *et al.*, 2005) y las condiciones físico químicas del suelo (Z. Khan & Kim, 2005; Steel & Ferris, 2016). Se conoce que la efectividad de las poblaciones de predadores en cultivos agrícolas puede depender de las condiciones del suelo antes y después de la siembra ( Khan & Kim, 2005).

Bajo esta perspectiva, los nemátodos predatoras han demostrado ser un potencial biocontrolador de otros nemátodos, incluso una gran alternativa para evaluar el ecosistema del suelo (Bongiorno *et al.*, 2019; Grewal *et al.*, 2005; Hu *et al.*, 2016). En suelos no perturbados éstos sirven como control de otros grupos tróficos (Sánchez-Moreno & Ferris, 2007), y dependiendo de la afectación del suelo, los nemátodos predatoras y omnívoros pueden demostrar una resistencia natural a la muerte ya sea por ser presa de otros organismos, contaminación química o por la falta de alimentación, según cultivo agrícola (Niu *et al.*, 2019). Esta resistencia se da gracias al comportamiento alimenticio depredador que poseen algunas especies de

nemátodos como parte de su biología evolutiva, por lo que puede ser utilizado como un buen biocontrolador (Bento *et al.*, 2010). Entre estas especies se encuentra *Pristionchus pacificus*, considerado organismo satélite, ya que presenta cambios en su constitución morfológica y diferentes dimorfismos en la región del estoma (Fürst Von Lieven & Sudhaus, 2000; Sommer *et al.*, 2015).

No obstante, para ser un buen biocontrolador, dependerá de las características físico-químicas del suelo, principalmente si estos suelos están perturbados por agroquímicos sintéticos que son utilizados para el control de organismos fitopatógenos (Li *et al.*, 2018). Es por esto que la relación materia orgánica con las presas de nemátodos son directamente proporcional a la abundancia de especies predatoras (Ferris *et al.*, 2012). Incluso mejorando los recursos físicos y químicos del suelo, puede mejorar la carga poblacional de nemátodos como las especies predatoras, convirtiéndolos en un controlador biológico de plagas (Steel & Ferris, 2016); Ya que influye directamente en la agrupación de las diferentes comunidades de especies de nemátodos en el suelo y a su vez, en la alimentación y reproducción, lo que determinará la estructura de las especies de nemátodos de suelo (du Preez *et al.*, 2018).

En Ecuador estudios sobre la estructura de las comunidades de nematodos del suelo realizados en el bosque montañoso tropical, mostraron una correlación entre la abundancia y diversidad de especies predatoras y omnívoras con otros grupos de nemátodos, así como con las características físico químicas del suelo (Traunspurger *et al.*, 2017). En efecto, esta población de nemátodos, forman parte del grupo de organismos predadores que participan en la función de un ecosistema (Stirling, 2014). Pueden ser hasta predadores específicos de nemátodos fitopatógenos ( Bilgrami & Gaugler, 2005). Bajo esta perspectiva, cabe resaltar, la importancia de evaluar la diversidad de poblaciones de nemátodos predadores en cultivos agrícolas, como hortalizas y musáceas. Esto permitirá prevenir o solucionar problemas causados por factores bióticos como la infestación de nemátodos fitopatógenos de una manera ecológica y sustentable. Esto sería una alternativa biológica de control, en lugar de nematicidas sintéticos, que causan el deterioro de la ecología del suelo. Los nemátodos predadores son una excelente alternativa de control biológico para el manejo de cultivos orgánicos, ya que de esta manera también se puede obtener productos de alta calidad y manejo generoso con el medio ambiente. Muy poco se ha estudiado al grupo trófico predador, generalmente la mayor cantidad de estudios se enfocan a nemátodos fitófagos o entomoparásitos (Armendáriz *et al.*, 2015; Traunspurger *et al.*, 2017).

El presente estudio investiga la población de nemátodos predadores de vida libre presentes en cultivos considerados de importancia económica en el Ecuador,

utilizando la taxonomía morfológica principalmente y como método confirmativo la taxonomía molecular como herramienta biotecnológica (Fosu-Nyarko & Jones, 2015). La herramienta morfológica ha permitido evaluar la eficacia y eficiencia así como detectar patrones espaciales que permitan conocer mejor el desarrollo de los nemátodos según su grupo trófico (Sroczyńska *et al.*, 2021) para de este modo manejar de manera sostenible los nemátodos plagas (Sivasubramaniam *et al.*, 2020). Pero, aun así, falta mucho por conocer en la aplicación de estos enfoques biotecnológicos para el diagnóstico y manejo de enfermedades producidas por nemátodos. Se pretende conocer el comportamiento de las poblaciones de nemátodos predadores a diferentes zonas y cultivos, lo que generará información que facilite el uso de estos organismos como control biológico en cultivos agrícolas.

## **1.2 Objetivo General**

Identificar especies de nemátodos predadores, aisladas de suelos con prácticas agrícolas no convencionales de cultivos de musáceas y hortalizas, utilizando técnicas de diagnóstico tradicional y molecular.

## **1.3 Objetivos Específicos**

Desarrollar un muestreo georreferenciado de zonas cultivadas con musáceas y hortalizas, para el aislamiento de especies de nemátodos predadores.

Implementar y combinar técnicas de identificación morfológica y molecular para la clasificación taxonómica de las especies de nemátodos aisladas.

Analizar la relación de las zonas de muestreo, sus hospederos y las especies de nemátodos aisladas.

## **1.4 Marco Teórico**

### **1.4.1 Nemátodos parásitos de plantas**

Los nemátodos parásitos son considerados como organismos plaga de mayor problema en la economía hortícola a nivel mundial (Parvatha, 2013). Se los ha encontrado en todos los ecosistemas a nivel global, dependiendo de su especificidad de huésped, distribución geográfica, tipos de ecosistemas, entre otros (Mitiku, 2018). Por tener una distribución muy extensa y variada, se hace difícil su control y estudio. De aquí que los géneros y especies que mayor problemas ocasionan en cultivos

agrícolas encontramos: *Meloidogyne spp.*, *Heterodera* y *Globodera spp.*, *Pratylenchus spp.*, *Radopholus similis*, *Ditylenchus dipsaci*; *Bursaphelenchus xylophilus*; *Rotylenchulus reniformis*; *Xiphinema*; *Nacobbus aberrans*; y *Aphelenchoides besseyi*, según encuestas realizadas en el 2012 (Jones *et al.*, 2013).

Entre las características anatómicas y fisiológicas de los nemátodos en general se los considera triploblásticos, bilateralmente simétricos, no segmentados, pseudocelomados y vermiformes, con una longitud promedio de 1 mm, no poseen sistemas circulatorio ni respiratorio, su ciclo de vida es simple y depende de la temperatura. En regiones tropicales o templadas en verano, su ciclo de vida puede durar 3 semanas (Escobar & Fenoll, 2015). El número de generaciones al año esta mediado por la temperatura. En altas temperaturas se pueden encontrar mayor generaciones al año (Parvatha, 2008). El número de huevos (entre 600 unidades) eclosionan a larvas con apariencia de adultas tanto en morfología como alimentación, posee 4 estadios larvales (mudas), después de la 4ta muda es un adulto (Escobar & Fenoll, 2015; Parvatha, 2008). La alimentación de los nemátodos fitopatógenos está caracterizada por su estilete, con el cual succionan los nutrientes desde las raíces. Además, su evolución alimenticia por necesidades adaptativas ha llegado a configurar la morfología y fisiología tanto del estilete como de su esófago (Anwar L. Bilgrami & Gaugler, 2004).

#### **1.4.2 Nemátodos fitoparásitos asociados a cultivos de *Allium sativum*, *Brassica oleracea* grupo *Capitata* e *Italica*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota*, *Cynara cardunculus* Grupo *Scolymus***

Entre las preocupaciones del sector agrícola, está el incremento del 35% de la población mundial de nemátodos fitopatógenos para el 2050. Debido a esto cada día existe mayor interés de estudiar el comportamiento de estos organismos en cultivos como ajo, col y brócoli (Hallmann & Meressa, 2018; Mitiku, 2018). Según la FAO (Food and Agriculture Organization, por sus siglas en inglés) estos cultivos, reportan grandes cantidades de producción al año, principalmente en regiones tropicales de América del Sur (FAOSTAT, 2020)

En este contexto, una de las especies que causa mayor problema en cultivos de ajo, es *Meloidogyne incognita*. Mientras que especies como *Meloidogyne arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla* y *M. mayaguensis*, causan perjuicios en cultivos de coliflor y brócoli. Las temperaturas óptimas para su ciclo de vida varían entre los 18 °C y 25 °C. En el caso de *M. hapla*, puede resistir periodos de heladas en el suelo, manteniendo

su ciclo de vida entre 4°C y 6°C, según el cambio de temperaturas. El género *Meloidogyne* tiene altas capacidades de adaptación al ambiente, razón por la cual tiene una amplia distribución (Hallmann & Meressa, 2018). El pH en el cual pueden sobrevivir e incluso reproducirse varía entre 4.0 y 8.0 (Ferris & Van Gundy, 1979). Todas estas características permiten a las especies de este género replicarse fácilmente entre los cultivos.

Las especies del género *Nacobbus*, han sido reportadas como problema en cultivos por todo el continente americano presentes en cultivos de col (Luc *et al.*, 2005). Incluso puede confundirse con nemátodos del género *Meloidogyne*, ya que produce agallas en las raíces de las plantas. Las especies del género *Nacobbus* cumplen su ciclo de vida en 43 días, con temperaturas entre los 20°C y 30°C (Prasad & Webster, 1967).

Otro grupo de especies del género *Heterodera spp.* causan problemas principalmente en cultivos de col, coliflor, específicamente la especie *H. cruciferae*. Junto a este género también encontramos a *Ditylenchus* donde la mayor parte de problemas se presentan en invierno y en altas temperaturas (Pedroche *et al.*, 2013). La rotación de cultivos es recomendada para el control de estos nemátodos ya que la mayor infestación se la puede observar en la raíces de las plantas (Pedroche *et al.*, 2013; Pethybridge *et al.*, 2016). Su importancia económica es muy alta, ya que puede terminar hasta con el 50% del cultivo (Luc *et al.*, 2005). En cuanto al ciclo de vida, los juveniles que se encuentran en la cuarta etapa del desarrollo penetran el tejido del tallo, ponen sus huevos a una temperatura entre 1°C–5°C, con un óptimo entre 13°C–18°C. Este género *Ditylenchus* completa una generación en 19–23 días a 15°C. La actividad reproductiva de estos nemátodos se detiene a 36°C. Tiene una preferencia de condiciones climáticas templadas y húmedas que existen en los trópicos, presentan una mayor incidencia en suelos pesados, aunque en el estadio 4 puede sobrevivir en suelos sin huésped hasta un año en anhidrobiosis. Poblaciones de *Ditylenchus* pueden encontrarse en pocas cantidades, incluso 10 individuos cada 400 mg de suelo seco (Luc *et al.*, 2005).

Los géneros *Pratylenchus* y *Radopholus*, están entre los nemátodos de mayor daño a cultivos con vegetales causando necrosis en las raíces (Crop *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2016). De la misma manera los nemátodos de los géneros *Belonolaimus*, *Trichodorus*, *Xiphinema*, también causan estos problemas en los cultivos de brócoli, col y ajo. Aunque estos nemátodos no aparecen en gran número, pueden causar daños muy grandes en los cultivos, según reportes en América del Sur (Crop *et al.*, 2007; Pedroche *et al.*, 2013; Srivastava *et al.*, 2012). Por otro parte, nemátodos como



*Helicotylenchus*, *Scutellonema*, pueden encontrarse en estos cultivos pero debido a su baja población, no causan mayor daño en las plantaciones (Luc *et al.*, 2005).

En cultivos de lechuga como de zanahoria, las nemátodos limitantes para el desarrollo de estas plantas son los nemátodos agalladores, particularmente *Meloidogyne javanica* y *M. incógnita*. Pueden afectar tanto la calidad como el rendimiento de estas hortalizas, especialmente cuando hay plantaciones sucesivas en el caso de cultivos de lechuga, incluso la reducción del valor comercial por la infección en niveles bajos de estos nemátodos, en el caso de las zanahorias (Gugino *et al.*, 2006; Hernandez *et al.*, 2017). Mientras que, para el caso de cultivos de alcachofa, no hay estudios que justifiquen algún perjuicio en las plantaciones por nemátodos.

### **1.4.3 Nemátodos fitoparásitos asociados a cultivos de Musáceas**

Entre los nemátodos patógenos más comunes que representan problemas en cultivos de musáceas se encuentran los géneros *Radopholus*, *Pratylenchus* y *Helicotylenchus*; además también algunos nemátodos sedentarios como *Meloidogyne* y *Rotylenchus*, y otras especies que no perjudican los cultivos, por este motivo no son nombradas en esta investigación (Sikora *et al.*, 2018).

Para el caso del género *Radopholus*, la especie *R. similis* es la que se presenta en mayor abundancia y se lo conoce como el nemátodo barrenador del banano (Fallas & Sarah, 1995). Esta especie se la encuentra en la mayor parte de cultivos de banano del trópico y subtropical (Loos, 1962). Con respecto a su ciclo de vida por ser un endoparásito migratorio, lo cumple dentro de la raíz. Las hembras ponen de 4 a 5 huevos diarios durante 2 semanas en tejido sano dentro de la raíz. El ciclo de vida completo dura entre 20 a 25 días a una temperatura entre 24°C y 32°C. Los huevos eclosionan después de 8 a 10 días, llegando al estadio J4 hasta los 13 días, se reproduce en temperaturas entre los 18°C y 32°C (Luc *et al.*, 2005; Pinochet *et al.*, 1995). Si bien se diseminan fácilmente con el agua de riego, son muy susceptibles a sobrevivir en agua que en suelo natural, llegando incluso a tener solo el 8% de sobrevivencia después de 35 días (Chabrier *et al.*, 2010).

El género *Pratylenchus* es otro grupo de nemátodos que causan problemas en cultivos de musáceas. Según CAB International (Centro de Biociencias Agrícola, por sus siglas en inglés), se encuentra ampliamente extendido en el territorio ecuatoriano. Por tener especies muy parecidas morfológicamente, se utiliza la biología molecular como herramienta para su identificación específica de género y especie (De Luca *et*

*al.*, 2012). Causa daños en las plantaciones al igual que *R. similis* (Brentu *et al.*, 2004; Danny L. Coyne *et al.*, 2013). Los nemátodos juveniles de este grupo son invasivos, todo su ciclo de vida lo completan dentro de la raíz, en promedio su ciclo de vida lo cumplen a los 27 días a temperaturas de 25 °C a 30 °C (Luc *et al.*, 2005).

El género *Helicotylenchus* está considerado el nemátodo espiral más extendido y abundante en el banano, así como el más problemático en cultivo donde las condiciones de temperatura y lluvia no son óptimas para el banano (McSorley & Parrado, 1986). En cuanto a las lesiones, es menos agresivo que el *R. similis* aunque en grandes infestaciones puede causar graves lesiones en la planta incluso el derribado (Danny L. Coyne *et al.*, 2013). Al igual que otros nemátodos descritos, completan su ciclo de vida completo dentro de la raíz, y se disemina por el traspaso de material contaminado (Luc *et al.*, 2005).

El grupo de nemátodos del género *Meloidogyne* se los considera en muchos lugares poco agresivo, considerando el hecho que se le atribuye mayor preocupación a otros grupos de nemátodos, aunque ya se ha reportado pérdida en plantaciones de banano a causa de este género (Van Den Bergh *et al.*, 2006). Con respecto a los daños que causa a las plantaciones, está la irritación de las raíces primarias y secundarias, muchas veces crecimiento atrofiado. Su ciclo de vida es similar a otros grupo de nemátodos de nudo de raíz, y su diseminación también se atribuye al traspaso de material infectado (Luc *et al.*, 2005).

Por último, el nemátodo *Rotylenchulus* posee un ciclo de vida que no causa grandes problemas en las raíces de las musáceas. Se lo puede encontrar libre en el suelo, y perjudica a las plantaciones, solo cuando se encuentra asociado a otros géneros como *Helicotylenchus* y *Meloidogyne* (Luc *et al.*, 2005; Sivakumar & Seshadri, 1972).

En lo que se refiere a factores endógenos y exógenos que favorezcan la propagación de nemátodos, se ha demostrado en los principales nemátodos fitoparásitos, que todo aquello que favorezca las condiciones de la raíz, contribuirá también a la propagación de nemátodos (Quénéhervé, 1993). Para el control existe muchas formas de manejo, pero ninguna es totalmente efectiva. La naturaleza perenne del cultivo y el mal uso de nematicidas podrían afectar tanto al cultivo como al suelo. Pudiendo propagar más los Fito organismo o degradar la comunidad microbiana, de ahí la importancia de generar opciones efectivas y sin daño ecológico.

#### **1.4.4 Características de los nemátodos predadores**

Entre las características más importantes de los nemátodos depredadores está su aparato de alimentación, tipo de alimento y hábitos alimenticios. Así, nemátodos del orden Mononchida se caracterizan por poseer un aparato de alimentación muy fuerte, con un diente dorsal grande y puntiagudo, dentículos con característica esclerótica y con una estrategia de alimentación tipo corte y envoltura, donde engullen la presa entera e intacta (Anwar L. Bilgrami *et al.*, 1986). Existen los nemátodos predadores con estilete, como los órdenes Dorylaimida y Aphelenchida, debido a su aparato de alimentación perforan y succionan el contenido del cuerpo de la presa (Jairajpuri & Bilgrami, 1990). Otro tipo de alimentación es de corte y succión característico de nemátodos del orden Diplogasterida y Enoplida. En este caso su aparato de alimentación con forma de cavidad bucal, es pequeño y con la presencia de un fuerte diente dorsal móvil y en forma de garra, el cual puede presentar dentículos para ayudar en el corte y molienda de la comida (Jairajpuri & Bilgrami, 1990). La cavidad bucal, los músculos y la succión esofágica tienen una acción en conjunto para garantizar la alimentación de este grupo de nemátodos (Grewal *et al.*, 2005). Para esto el mecanismo de captura y posterior alimentación, se debe a 5 fases continuas; encuentro con la presa, respuesta de ataque, ataque, digestión extracorpórea e ingestión (A. L. Bilgrami & Jairajpuri, 1989). Para que el mecanismo se lleve a cabo, existe un primer encuentro con la presa, la cual, de manera casual, encuentra a su nemátodo predador o lo atrae por comunicación semioquímica (Cairomonas) (Anwar L. Bilgrami & Gaugler, 2005). Dependiendo del aparato de alimentación, habrá un tipo de contacto, para lograr el máximo empuje del estilete o la sujeción con la cavidad bucal, manteniendo espacios sellados entre nemátodos para la succión esofágica (Anwar L. Bilgrami & Gaugler, 2005).

#### **1.4.5 Géneros y especies de nemátodos predadores**

Los nemátodos predadores se encuentran distribuidos en los órdenes Mononchida, Dorylaimida, Diplogasterida, Enoplida, Aphelenchida y Rhabditida (Anwar L. Bilgrami, 1997).

En el caso de los nemátodos del orden Mononchida, todos los géneros de este orden son predadores (Cobb, 1917). Son considerados organismos de importancia agrícola en el control de microorganismos incluidos en el control de nemátodos fitopatógenos (Keshari *et al.*, 2018; Zakaullah Khan & Kim, 2007a). Pueden consumir hasta un 75% de los nemátodos de vida libre presentes (Anwar L. Bilgrami *et al.*, 1986). Le da el primer lugar en el grupo de consumidores predadores posiblemente por ser polífago (Anwar L. Bilgrami, 1997). Sin embargo, presenta ciertas características que

le imposibilitan ser el nemátodo ideal como agente de biocontrol, ya que su cultivo *in vitro* es muy complicado, a causa de poseer ciclo de vida largo, gran tamaño, baja tasa de fecundidad, alto canibalismo y falta de resistencia, así como también es complicado encontrarlos en el campo (A. L. Bilgrami & Brey, 2005; Thorne, 1927).

Para el orden Dorylaimida (Familia Dorylaimidae y Nygolaimidae), presentan un gran interés e importancia como biocontrol. Debido a que se encontrara una afinidad alimenticia en condiciones naturales por *Eudorylaimus obtusicaudatus* (orden Dorylaimida) en huevos de *Heterodera schachtii*, perforando y succionando gracias a su estilete (Boosalis & Mankau, 1965). Así mismo, los géneros de este orden están presentes en todos los tipos de suelos, son fáciles de cultivarlos y tienen afinidad alimenticia por nemátodos de diferentes grupos tróficos en especial fitopatógenos, por lo cual se los considera como un excelente agente de biocontrol (Bilgrami, 1995; Bilgrami *et al.*, 2001, 2002). Por otro lado, su supervivencia se basa en alimentarse de hongos y bacterias cuando los nemátodos presa son escasos, este comportamiento incluso puede influenciar en la abundancia de estos nemátodos aunque no hay estudios concretos (Bilgrami, 2008). Gracias a la secreción de sustancias de las nemátodos presas, estas podrían servir como atrayentes químicos de los nemátodos predadores. Incluso su tasa de depredación puede estar medida por factores como: temperatura, densidad de nemátodos, pH, aireación y materia orgánica del suelo, ya que por ejemplo, a temperaturas extremas, los nemátodos predadores, puede condicionar su depredación (Bilgrami, 2008). La necesidad por alimento, al igual que la temperatura y la densidad, incrementan positivamente la depredación. Inclusive se ha evaluado un aumento en la habilidad para detectar a sus presas por causa de sus necesidades de alimentación (Bilgrami, 2008). Todos estos estudios se han podido lograr gracias a su fácil manejo en el laboratorio. Del mismo modo, estudios recientes han demostrado que la fertilización mineral afecta negativamente el microbioma de *Dorylaimus stagnalis* así como en la diversidad de otras especies de nemátodos (Zheng *et al.*, 2019).

Los nemátodos de la familia Diplogasterida (NCBI:txid50861), pueden ser parásitos y predadores. Tienen excelentes características como biocontrolador, facilidad de cultivo, alta tasa de depredación, ciclo de vida corto (6-8 días), etc. (A. L. Bilgrami & Jairajpuri, 1989; Jairajpuri & Bilgrami, 1990; Qudsia Tahseen *et al.*, 1990). Antagónicamente a estas buenas características, su uso es casi nulo debido a pocos estudios (Grewal *et al.*, 2005), ya que la mayoría de especies predadoras son difíciles de encontrar y su persistencia no es tan alta como en el caso de *Mononchoides gaugleri* (Bilgrami *et al.*, 2007). En la actualidad otras especies tienen mayor interés de estudio como son los mononchus (Anwar L. Bilgrami, 2008).

Para el caso de los órdenes Enoplida y Aphelenchida tienen pocos estudios como especie predatora hoy en día. Sin embargo las especies del orden Rhabditida, tiene mayor estudio como nemátodo entomopatógeno, no obstante el género *Pristionchus pacificus* es uno de los más estudiados como especie predatora (Moreno *et al.*, 2019).

## CAPÍTULO 2

### METODOLOGÍA

#### **2.1 Muestreo de zonas cultivadas con musáceas y hortalizas, para el aislamiento de especies de nemátodos.**

##### **2.1.1 Tipos de cultivo**

Los cultivos fueron seleccionados según el interés comercial debido a su amplia diversidad de nemátodos que utilizan a estas plantas como hospedero y al nivel de daño que pueden causar por la infección en los cultivos (Sivasubramaniam *et al.*, 2020). Por motivos de variabilidad en las muestras, se clasificó los cultivos por el manejo agrícola y uso de fitosanitarios químicos. Agrupando los muestreos en cultivos de tipo convencional y orgánico según datos respaldados por entrevistas realizadas mediante cuestionario (Anexo 1). Se obtuvo información relacionada al manejo de la fertilidad del suelo, problemas de plagas y manejo fitosanitario. Los cultivos analizados fueron: ajo (*Allium sativum*), col (*Brassica oleracea* grupo Capitata), brócoli (*Brassica oleracea* grupo Italica), lechuga (*Lactuca sativa*), zanahoria (*Daucus carota*), alcachofa (*Cynara cardunculus* grupo Scolymus) y banano (*Musa* spp. clase AAA), considerando que en todos los casos se evaluó suelos con plantaciones en diferentes etapas de desarrollo (Anexo 2).

##### **2.1.2 Zonas para la obtención de las muestras de suelo**

Los nemátodos fueron extraídos a partir de muestras de suelo recolectadas en la región sierra (zona subtemplada) y costa (zona tropical). Para el caso de suelos cuyos cultivos fueron hortalizas, se eligió la región sierra; en la zona agrícola de San Joaquín - Cuenca provincia del Azuay. Para suelos con cultivos de musáceas, se eligió zonas agrícolas de la provincia del Guayas, Cañar y El Oro (Figura 1).

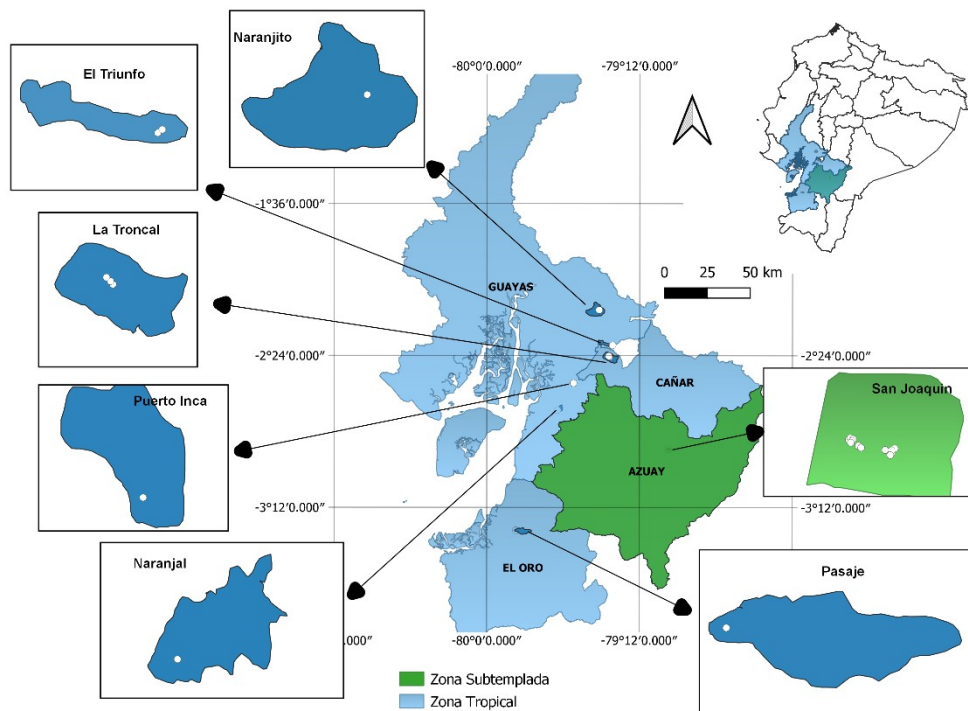


Figura 1. Mapa de localización de los puntos de muestreo sobre el área de estudio.

### 2.1.3 Procedimiento para la recolección de muestras de suelo

Ya que la distribución de los nemátodos es poco uniforme, se tomó muestras de suelos en varias partes de cada cultivo utilizando un muestreo sistemático (Coyne *et al.*, 2014). Se tomaron 12 submuestras de cada parcela de cultivo con la ayuda de un barreno cilíndrico (60 cm de profundidad y 20 mm de diámetro). Las submuestras de suelo fueron tomadas a una distancia entre 10 cm a 30 cm de la base del tallo. En suelos con cultivos de hortalizas, la profundidad fue entre 20 cm a 30 cm, mientras que en suelos con cultivos de musáceas se tomaron las muestras de suelo aproximadamente a 10 cm y 20 cm de profundidad, esto debido a la compactación del suelo. Posteriormente se combinó las submuestras, para obtener una muestra compuesta y homogénea de aproximadamente 600 g. Esta cantidad fue recolectada tanto en hortalizas como en musáceas. Luego, las muestras se colocaron en una funda etiquetada tipo ziploc. Se almacenó cada funda en una hielera para evitar cambios bruscos de temperatura, considerando que, en ambientes con temperaturas superiores a los 25 °C, puede afectar la vida de los nemátodos. Se recolectaron un total de 21 muestras de suelo que representan cada uno de los cultivos muestreados.

#### 2.1.4 Análisis de variables

Junto con el muestreo se tomó los valores de: humedad, temperatura y pH, así como también materia orgánica por cada muestra.

- **Humedad y temperatura**

Para medir la humedad y temperatura en las muestras de suelo con cultivos de hortalizas, se utilizó un receptor y lector portátil de datos ProCheck y un sensor GS3. Se introduce una sonda directamente sobre el suelo, antes de recolectar la muestra, para luego por medio del lector portátil, medir humedad y temperatura *in situ*. Los datos fueron anotados en la hoja de cuestionario para entrevistas. Para el caso de las muestras de suelo en musáceas, la temperatura se la realizó con un termómetro de mercurio en vidrio, con fondo amarillo esmaltado con una longitud de 305 mm, cuyo rango es de -10 a 110 °C. La humedad se determinó mediante las diferencias de peso entre la muestra húmeda y la muestra seca, previo al método de calcinación.

- **pH**

Para medir el pH del suelo se utilizó un Luster Leaf 1847 Rapitest Digital Plus Soil pH Meter, el cual mide instantáneamente el pH. El análisis lo realiza por contacto directo con el suelo introduciendo una sonda de metal, los valores se reflejan automáticamente en un lector portátil.

- **Materia orgánica**

Para determinar la materia orgánica de las muestras de suelo, se realizó el método de calcinación (Jaramillo, 2014). Este proceso se llevó a cabo con una parte de las muestras de suelo recolectadas después de separar muestras de suelo para la extracción de nemátodos. El proceso de calcinación consiste en dejar secar las muestras de suelo por dos días en un invernadero. Pasado los dos días se pesa 5 g de estas muestras secas al aire. Luego se tritura la muestra seca de suelo con un mortero de porcelana y se la pasa por un tamiz de 2 mm. Se pesan 15 g del producto de este proceso en una balanza de precisión PCE-BS 300, utilizando crisoles de porcelana como contenedor, posteriormente se seca el conjunto en horno a 105 °C (24 horas) hasta llegar a peso constante. Se retira del horno y se deja enfriar en desecador. Luego se pesa y se registra el valor del peso. Se calcina la muestra en una mufla a 400 °C, durante 8 horas, se retira de la mufla el conjunto, se deja enfriar en desecador y luego se registra el peso nuevamente. Se calcula la diferencia de peso entre las medidas antes y después de calcinar. La diferencia de pesos equivale a la cantidad de materia orgánica que se perdió de la muestra por efecto de la calcinación. Se expresa la diferencia de peso en porcentaje con respecto al peso inicial de la muestra seca a 105

°C. Todo el proceso de extracción se llevó a cabo en el invernadero y laboratorio de suelos de la Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, de la Escuela Superior Politécnica del Litoral, campus Gustavo Galindo Velasco.

### **2.1.5 Extracción de nemátodos**

De los 600 g aproximados de muestra homogénea tomadas en el campo, 200 g de submuestra de suelo fueron utilizadas para la extracción de nemátodos en el laboratorio. (los 400 g sobrantes fueron utilizados para el análisis de la materia orgánica y posibles repeticiones). Estos 200 g de submuestra de suelo fueron transportadas a los laboratorios, donde se procedió a homogeneizar nuevamente cada una antes de la extracción. Una vez homogeneizado, se colocaron 100 g en dos bandejas de extracción independientes. Esta subdivisión de las submuestras de suelo en dos partes permite que se pueda extraer la mayor cantidad de nemátodos. La extracción de los nemátodos se realizó en un tiempo máximo de 10 horas a partir de la recolección en el campo. La supervivencia de los nemátodos decrece con el tiempo por la reducción de humedad, exceso de luz y temperatura, por este motivo la extracción debe realizarse en las siguientes horas de recolección de las muestras de suelo (D L Coyne *et al.*, 2014). Las muestras de suelos provenientes de cultivos de hortalizas se procesaron en el laboratorio VLIR NETWORK sede ESPOL Guayaquil, Ecuador; mientras que las muestras de suelos de cultivos de musáceas en el laboratorio Agrolab Ecuador, con sede en Durán, Ecuador.

El método utilizado para la extracción fueron las bandejas de Whitehead modificado (Whitehead & Hemming, 1965) (Anexo 3: a.). Este método fue elegido por su capacidad para la migración de los nemátodos del suelo al agua a través de un filtro. En este método se pueden utilizar grandes cantidades de muestra de suelo, lo que permite la migración de nemátodos móviles. El método consiste en un tamiz hecho con tubería PVC y malla plástica adherida a un alambre de aluminio, que a su vez sirve como suspensión del tamiz sobre la bandeja. Una vez que se armó las bandejas, se colocó un papel filtro sobre la malla, para luego colocar los 100 g de muestra de suelo. Posteriormente se agregó agua destilada a la bandeja teniendo cuidado de que no remueva los componentes de extracción. Se dejó reposar durante 48 horas, cuidando que el nivel de agua sea constante y por lo tanto no se seque por evaporación. Una vez que transcurrieron las 48 horas, se procedió a verter el agua de cada bandeja y su réplica a través de un tamiz malla 230 (63  $\mu\text{m}$ ). Con la ayuda de una piseta se limpia y recoge el contenido de la malla para luego recolectarlo en tubos de polipropileno cónicos para centrifuga de 50 ml. Por último, se deja que sedimenten



los nemátodos contenidos en los tubos de polipropileno durante 2 – 3 horas o toda la noche (Anexo 3: b., c., d.).

#### **2.1.6 Aislamiento de nemátodos**

Para el aislamiento se desecha el sobre nadante de cada tubo con los nemátodos sedimentados. Se debe tener mucha precaución de no extraer el sedimento. Luego se aplica 200 µl de formalina glicerina (40% formaldehído 10ml – Glicerina 1 ml – Agua destilada 89 ml) por cada 1 ml de sedimento. Una vez realizada las aplicaciones, se coloca las muestras de nemátodos con formalina glicerina en cajas Petri para que con la ayuda de un estéreo zoom microscopio marca BOECO modelo BST-606 atraparlos. Para la fijación, se coloca cada nemátodo atrapado en placas porta objeto, cubriéndolos cuidadosamente con la lámina cubre objeto para luego sellarla por sus bordes con barniz de uña natural. De este modo se evita la evaporación de la formalina glicerina en las placas porta objeto y posterior desecación de los nemátodos. Una vez hecha la identificación se preservaron especímenes con formalina glicerina en tubos de microcentrífuga. Se procede almacenarlos en refrigeración, para su posterior identificación molecular (Anexo 4).

### **2.2 Identificación morfológica y molecular para la clasificación taxonómica de las especies de nemátodos aisladas.**

#### **2.2.1 Identificación morfológica**

Una vez fijados los nemátodos en las placas, se realizó la identificación morfológica en microscopio de investigación motorizado marca OLYMPUS modelo BX63. La identificación se basó principalmente en la examinación, en cada organismo, de las extremidades caudal ‘cola’ y craneal ‘cabeza’, principalmente los puntos retractiles craneales ‘boca; dentículos; estilete; estoma; dientes internos, dorsales y ventrales’, longitud y forma del esófago, partes características de algunos géneros (van Wyk & Mayhew, 2013). Además, se utilizaron claves taxonómicas específicas de géneros, basados en artículos científicos de identificación de nemátodos (Ahmad & Shaheen, 2004; Alvarez-Ortega *et al.*, 2016; Andrásy, 2010; Bostroêm, 1991; Carta & Skantar, 2014; Inserra *et al.*, 2014; Jana *et al.*, 2008; Kanzaki *et al.*, 2019; Kolombia *et al.*, 2017; Leduc & Zhao, 2017; Mahato, 1997; Nusrat *et al.*, 2013; Odontopharynx & Man, 1989; Phani *et al.*, 2018; Shokoohi *et al.*, 2013; Sikora *et al.*, 2018; Q. Tahseen & Rajan, 2009; Qudisia Tahseen *et al.*, 2013, 2016; Vovlas, 1992), además de la enciclopedia virtual de nemátodos de suelos y plantas (Nemaplex, n.d.-a) (Anexo 5).

### 2.2.2 Identificación molecular

Como método suplementario se realizó la identificación molecular ya que permite confirmar los resultados que se obtiene con los métodos morfométricos clásicos. Además, este método ayuda en descartar o confirmar la identificación de algún género con estructuras especializadas. Sin embargo, la exactitud de la identificación dependerá de la calidad de las secuencias que se encuentren en la base de datos y de la autenticidad de los taxones de los que proceden las secuencias, lo que puede afectar la identificación de los nemátodos (Bogale *et al.*, 2020). Todo el proceso molecular se lo realizó en el laboratorio de maestrías VLIR NETWORK ECUADOR (Anexo 6: a.).

- **Protocolo de extracción de ADN**

Los procedimientos de extracción se iniciaron centrifugando los tubos de microcentrífuga con las muestras de nemátodos almacenadas con formalina glicerina, eliminando todo el sobrenadante. Como parte de este proceso se obtuvo un pellet el cual serviría para la extracción de ADN. Con el uso del kit de purificación PureLink® Genomic DNA Kits – FFPE (formalin-fixed, paraffin-embedded) Tissue Lysate, se procedió a hacer la extracción de ADN. Se aplicó las instrucciones del fabricante, excepto la de agregar 1 ml de agente de limpieza CitriSolv™ ya que es una alternativa biodegradable al xileno para extracción de parafina, y las muestras no contenían este componente. Posterior a esto, se utilizó los componentes del kit en la suspensión del sedimento con etanol y centrifugado. Debido a que los nemátodos estuvieron sumergidos en formalina entre dos y tres días, se repitió el procedimiento de extracción con etanol tres veces, esto ayudaría a la purificación del ADN (Anexo 6: b., d.).

- **Amplificación de ADN por PCR**

Para obtener una especificidad alta, se utilizaron 3 primers (Tabla 1) en un PCR anidado. En la primera reacción se utilizaron los primers NemF y 18Sr2b, los cuales amplificarían solo el ADN de nemátodos y otros metazoos, excluyendo hongos y plantas. Luego, una segunda amplificación usando los primers NF1 y 18Sr2b para obtener amplicones con un tamaño adecuado para la secuenciación (Porazinska *et al.*, 2009; Sapkota & Nicolaisen, 2015).

Los primers fueron sintetizados por OLIGO DEPARTMENT MACROGEN INC OLIGO (Anexo 6: c.). Las reacciones estaban formadas de una plantilla de 3 µl de ADN en 25 µl de reacción. Estas contenían 12.5ul de GoTaq® Green MAster Mix (Promega, Madison, WI), 8ul de agua estéril, 0.75ul de cada uno de los primers

NemF (GGGGAAGTATGGTTGCAA) (Sapkota & Nicolaisen, 2015) y 18Sr2b (TACAAAGGGCAGGGACGTAAT) (Porazinska *et al.*, 2009).

Tabla 1. Primers utilizados para la amplificación de amplicones.

Primers	Secuencias 5' - 3'	Referencias
NemF	GGGGAAGTATGGTTGCAA	(Sapkota & Nicolaisen, 2015)
NF1	GGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTT	(Porazinska <i>et al.</i> , 2009)
18Sr2b	TACAAAGGGCAGGGACGTAAT	(Porazinska <i>et al.</i> , 2009)

Las amplificaciones se realizaron en un GeneAmp termociclador PCR System 9700 (Applied Biosystems). Para amplificar la región de ADN más extensa se utilizaron los primers NemF y 18Sr2b con un paso inicial de desnaturalización de ADN de 94 °C durante 5 minutos, seguido de 20 ciclos a 94 °C durante 30 segundos, 53 °C durante 30 segundos, 72 °C durante 1 minuto y una elongación final a 72 °C durante 10 min.

El producto del primer PCR generado se diluyó 1:10. Se usó como plantilla en una segunda amplificación con los primers etiquetados NF1 y 18Sr2b usando las mismas condiciones que en la primera amplificación, excepto que el acoplamiento fue a 58°C. Se estimó la concentración de amplicones mediante análisis en un espectrofotómetro Nanodrop ND 1000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE, EE. UU.) según las instrucciones del fabricante. El ADN obtenido de las muestras se re-disolvió y se sometió a electroforesis en geles de agarosa al 1,5%. El grupo de muestras resultado de la PCR fue secuenciado por un proveedor de servicios externo tanto para obtener la secuencia sentido y antisentido (Anexo 6: e.) (Anexo 8).

- **Análisis de secuencias**

Tanto el alineamiento como la clasificación de las mejores secuencias se la realizó con Clustal (implementado en MEGA). Luego utilizando la base de datos del NCBI

(Centro Nacional de Información Biotecnológica, por sus siglas en inglés), se realizaron las respectivas búsquedas en Blast. Se utilizaron diferentes métodos para inferir la similitud, con diferentes especies de nemátodos. Al final se procedió hacer los análisis moleculares para la identificación de especies utilizando las múltiples secuencias alineadas.

### 2.3 Análisis de la diversidad de nemátodos e índices de redes alimentarias

Para realizar los respectivos análisis, se clasifico los datos en 4 grupos: tropical convencional TC, tropical orgánico TO, subtemplado convencional SC y subtemplado orgánico SO. Esto ayudaría a entender el comportamiento de los datos según la zona, manejo agrícola y tipo de cultivo.

#### 2.3.1 Diversidad de nemátodos

Se describió la comunidad de nemátodos utilizando los siguientes parámetros ecológicos que fueron calculados utilizando MS Excel. Además, se utilizó índices específicos para cada sitio de muestreo. En el caso de cultivos con hortalizas se utilizó el índice de Shannon-Wiener, mientras que para los cultivos de musáceas el índice de Simpson

- Shannon-Wiener ( $H'$ ) que confiere mayor peso a las especies no comunes. Permite que la comunidad de nemátodos tenga una distribución de abundancia muy equitativa. Además, minimiza la diversidad específica de nemátodos en muestras pequeñas como son los cultivos de hortalizas muestreados (Krebs, 1999).

$$H' = \sum_{i=1}^S p_i \log p_i$$

Donde el factor  $S$  corresponde a el número de especies (la riqueza de especies),  $p_i$  la proporción de individuos de la especie  $i$  respecto al total de individuos,  $n_i$  número de individuos de la especie  $i$ , y  $N$  el número de todos los individuos de todas las especies.

- Índice de Simpson (Dominancia y Diversidad), da mayor peso a las especies comunes, los índices mayores significan dominancia de pocas especies o géneros. Indica la probabilidad de encontrar dos individuos de especies diferentes en dos 'extracciones' sucesivas al azar sin 'reposición' (Krebs, 1999).

$$\lambda = \sum p_i^2$$

Donde el factor  $p_i$  corresponde a la abundancia proporcional de la especie  $i$ , en otras palabras, el número de individuos de la especie  $i$  dividido entre el número

total de individuos de la muestra. Como su valor es inverso a la equidad, la diversidad puede calcularse como  $1 - \lambda$  (Lande, 1996).

### 2.3.2 Índices de redes alimentarias de nemátodos

La estructura de la comunidad de nemátodos fue analizada usando NINJA (Nematode INDicator Joint Analysis por sus siglas en inglés). Se trata de un código R de libre acceso para realizar cálculos a partir de la base de datos de Nemaplex (Nemaplex, n.d.-a).

- **Grupos tróficos y c-p/p-p**

Representa extremos de una escala *c-p*, colonizadores ‘c’ y persistentes ‘p’, que va de 1 a 5 respectivamente. La clasificación de colonizador-persistente (c-p) se basa en las propiedades del ciclo de vida. Los nemátodos de c-p-1 se consideran oportunistas del enriquecimiento, tienen ciclos de vida cortos y a menudo se encuentran en entornos perturbados. Por el contrario, los nemátodos de c-p-5 tienen ciclos de vida largos y tienden a habitar ecosistemas maduros y estables (ver anexo 7). C-p de herbívoros se llaman p-p. (Bongers, 1990).

Los grupos de gremios alimenticios se clasificaron de acuerdo con Yeates *et al.* (1993) en base a la población encontrada en este estudio. Estos son: herbívoros, omnívoros, predadores, y bacterívoros. Estos parámetros medidos según el tipo de alimentación caracterizados por la cavidad oral de cada organismo y una estimación de la morfología de los nemátodos (Nemaplex, n.d.). Los datos se representaron en gráficos de barra mostrando la composición de taxones según el tipo de alimentación de todo el conjunto de nemátodos, y el conjunto de nemátodos de vida libre.

- **Índice de madurez**

Una medida ecológica de la perturbación ambiental basada en la composición de las especies de nemátodos (Bongers, 1990).

$$I = \sum_{i=1}^S v(i) \cdot f(i)$$

El índice de madurez (IM) se calcula como la media ponderada de los valores c-p individuales: donde  $v(i)$  es el valor c - p del taxón  $i$ .

- **Índice de madurez 2-5**

Elimina todos los valores dentro de la columna para nemátodos parásitos de plantas y nemátodos de vida libre que tienen el c-p1. Calcula una suma de las proporciones ponderadas para todas las filas que contienen nemátodos de vida libre (c-p 2 a c-p 5).

Se utiliza para diferenciar la disminución de IM causada por el enriquecimiento y la contaminación.

- **Triángulo equilátero c-p**

Representación gráfica de la composición de la fauna en la estructura c-p de los conjuntos de nemátodos. En el gráfico la composición se representa en coordenadas triangulares con las tres esquinas que representan la prevalencia absoluta de c-p1, c-p2 y el número combinado de nemátodos en los grupos c-p3, 4 y 5 (De Goede *et al.*, 1993).

Las clases c-p son indicadores de la estructura y función del ecosistema. Cada eje de los triángulos indica una proporción de toda la fauna de nemátodos, un aumento a lo largo de un eje va acompañado de la disminución a lo largo del otro. Proporciona mayor información del enriquecimiento por medio de la evaluación del flujo relativo de recursos en la red alimentaria por los canales de descomposición que producen hongos y bacterias (Ferris *et al.*, 2004).

### **2.3.3 Análisis estadístico**

Los resultados se mostrarán como la media  $\pm$  SD tanto en el caso de los índices y valores CP como el porcentaje de grupos tróficos. Se realizó el análisis de varianza ANOVA para comparar la diferencia ( $p < 0.05$ ) de los resultados de manera independiente tanto para los índices de diversidad, la abundancia de nemátodos y los índices de madurez, para luego analizar efectos con las variables físico-químicas. Las diferencias significativas en los efectos principales se analizaron mediante una comparación pareada con la prueba de Tukey. Todas las pruebas estadísticas se realizaron utilizando el software estadístico InfoStat versión 2020I ([www.infostat.com.ar](http://www.infostat.com.ar)).

Para el análisis estadístico de correlación entre los índices de diversidad – dominancia y variables físico – químicas, se aplicó la prueba de análisis de varianza no paramétrica de Kruskal Wallis.

## **CAPÍTULO 3**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1 Composición taxonómica y abundancia**

Se identificaron un total de 776 individuos en suelos tropicales y 1182 individuos en suelos subtemplados obteniendo un total de 1958 individuos en todas las muestras, que pertenecen a 29 géneros, 25 familias, 13 superfamilias, 7 subórdenes y 5 órdenes (Tabla 2). Estos, además se agruparon en 4 gremios tróficos: herbívoros, omnívoros, predadores, y bacterívoros.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de los nemátodos encontrados.

Ordenes	Subordenes	Superfamilias	Familias	Géneros		
Dorylaimida	Dorylaimina	Dorylaimoidea	Actinolaimidae	Brittonema <sup>O</sup>		
			Qudsianematidae	Discolaimium <sup>P</sup>		
		Dorylaimidae	Dorylaimus <sup>O</sup>			
		Aporcelaimidae	Sectionema <sup>O</sup>			
		Belondiroidea	Axonchium <sup>H</sup>			
	Nygolaimina	Nygolaimoidea	Nygolaimidae	Nygolaimium <sup>P</sup>		
			Hoplolaimidae	Scutellonema <sup>H</sup>		
		Tylenchoidea	Pratylenchidae	Pratylenchus <sup>H</sup>		
				Radopholus <sup>H</sup>		
			Tylenchidae	Tylenchus <sup>H</sup>		
Rhabditida	Tylenchina	Heteroderidae		Heterodera <sup>H</sup>		
			Meloidogynidae	Meloidogyne <sup>H</sup>		
		Hoplolaimidae	Helicotylenchus <sup>H</sup>			
		Criconematoidea	Criconematidae	Hemicriconemoides <sup>H</sup>		
				Discocriconemella <sup>H</sup>		
	Hemicycliophoridae		Hemicycliophora <sup>H</sup>			
	Rhabditina	Aphelenchoidea	Aphelenchidae	Seinura <sup>P</sup>		
		Diplogasteroidea	Diplogasteridae	Neodiplogaster <sup>B</sup>		
				Diplogaster <sup>B</sup>		
		Rhabditoidea	Rhabditidae	Rhabditis <sup>B</sup>		
		Mesorhabditis <sup>B</sup>				
Mononchida	Mononchina	Odontopharyngoidea	Odontopharyngidae	Odontopharynx <sup>P</sup>		
		Anatonchoidea	Anatonchidae	Miconchus <sup>P</sup>		
		Mononchoidea	Mononchidae	Mononchus <sup>P</sup>		
			Iotonchidae	Iotonchus <sup>P</sup>		
			Mylonchulidae	Mylonchulus <sup>P</sup>		
		Monhysterida	Monhysterina	<i>sin datos</i>	Monhysteridae	Monhyster <sup>B</sup>
					Sphaerolaimidae	Sphaerolaimus <sup>P</sup>
Triplonchida	Diphtherophorina	Trichodoroidea	Trichodoridae	Trichodorus <sup>H</sup>		

Gremios tróficos: <sup>H</sup> herbívoros, <sup>O</sup> omnívoros; <sup>P</sup> predadores y <sup>B</sup> bacterívoros.

Los géneros que presentaron mayor cantidad de individuos correspondieron a los géneros *Tylenchus*, *Helycotylenchus* y *Pratylenchus*, tanto en muestras de suelo de zona subtemplada como en la zona tropical. En muestras de suelo subtemplados los géneros *Helycotylenchus*, *Tylenchus* y *Pratylenchus* fueron los que más cantidad de individuos presentaron respectivamente. (Tabla 3). Mientras que en muestras de suelo tropical también el mayor número de individuos lo presentó el género *Helycotylenchus* al igual que el género *Radopholus* seguido del género *Tylenchus* (Tabla 4).



Tabla 3. Número de individuos obtenidos por muestra en suelos de cultivos de zona subtemplada.

Géneros\Muestras	Zona Subtemplada												Subtotal
	AC1	AC2	AC3	CC1	CC2	CO1	CO2	LO1	AO1	BO1	ZO1	ALO1	
<i>Dorylaimus</i>	41	0	1	0	5	1	2	9	13	5	4	1	82
<i>Helycotylenchus</i>	0	8	7	23	10	75	45	17	69	33	138	63	<b>488</b>
<i>Hemicriconemoides</i>	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	5
<i>Hemicycliophora</i>	0	0	2	10	0	2	1	0	0	3	0	0	18
<i>Meloidogyne</i>	0	0	1	3	0	4	2	0	1	0	0	0	11
<i>Monhystera</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
<i>Mononchus</i>	2	0	0	0	0	3	0	2	11	2	0	0	20
<i>Pratylenchus</i>	36	5	13	10	8	22	2	4	2	1	6	2	<b>111</b>
<i>Rhabditis</i>	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
<i>Scutellonema</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Tylenchus</i>	20	7	15	26	60	29	51	19	10	86	85	28	<b>436</b>

AC es el cultivo de ajo con manejo convencional; CC es el cultivo de col con manejo convencional; CO es el cultivo de col con manejo orgánico; LO es el cultivo de lechuga con manejo orgánico; AO es el cultivo de ajo manejo orgánico; BO es el cultivo de brócoli con manejo orgánico; ZO es el cultivo de zanahoria con manejo orgánico; AL es el cultivo de alcachofa con manejo orgánico; (el número representa la muestra).

Tabla 4. Número de individuos obtenidos por muestra en suelos de cultivo de zona tropical.

Géneros\Muestras	Zona Tropical									Subtotal
	BC1	BC2	BC3	BC4	BC5	BC6	BO1	BO2	BO3	
<i>Axonchium</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	5	7
<i>Brittonema</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Cobbonchus</i>	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4
<i>Diplogaster</i>	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
<i>Discocriconemella</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Discolaimium</i>	0	0	0	0	0	0	0	33	0	33
<i>Dorylaimus</i>	0	6	0	0	0	0	0	13	0	19
<i>Helycotylenchus</i>	0	22	40	22	34	3	21	8	13	163
<i>Heterodera</i>	0	0	0	0	0	0	9	0	0	9
<i>Iotonchus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Meloidogyne</i>	0	9	9	0	0	2	0	0	0	20
<i>Mesorhabditis</i>	0	5	0	0	3	0	0	8	0	16
<i>Miconchus</i>	0	0	0	0	0	0	0	9	0	9
<i>Monhystera</i>	0	0	0	0	1	2	0	0	0	3
<i>Mononchus</i>	0	4	0	2	1	3	1	4	14	29
<i>Mylonchulus</i>	0	3	13	0	0	0	0	0	0	16
<i>Neodiplogaster</i>	6	0	0	0	0	0	0	0	0	6
<i>Nygolaimium</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Odontopharynx</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
<i>Pratylenchus</i>	4	11	0	5	0	4	45	0	3	72
<i>Radopholus</i>	13	0	2	0	3	44	21	27	53	163
<i>Rhabditis</i>	0	4	0	0	3	2	0	11	13	33
<i>Sectonema</i>	0	0	0	0	0	0	0	12	0	12
<i>Seinura</i>	0	0	1	0	0	0	4	24	0	29
<i>Sphaerolaimus</i>	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10
<i>Trichodorus</i>	0	0	10	0	0	0	0	2	0	12
<i>Tylenchus</i>	96	0	0	0	0	0	0	7	0	103

BC es el cultivo de banano con manejo convencional; BO es el cultivo de banano con manejo orgánico; (el número representa la muestra).

### 3.2 Colección de comunidad de nemátodos por agroecosistemas

Los promedios del índice Shannon H', mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las zonas de muestreo TC ( $1.18 \pm 0.43$ ), TO ( $1.78 \pm 0.42$ ), SC ( $1.27 \pm 0.29$ ) y SO ( $1.03 \pm 0.22$ ). Se detectaron dos rangos de significancia, el primero entre las zonas de muestreo SC, TC y SO. Y el segundo entre las zonas de muestreo TC, SC y TO. Los índices H' de las zonas de muestreo SO y TO son diferentes ya que no concuerdan el rango de significancia. En el caso del promedio de los porcentajes de

humedad, también mostraron diferencias en todas las zonas de muestreo; TC (5.35% ± 3.40), TO (2.63% ± 1.48), SC (21% ± 3.46) y SO (21.71% ± 2.14). De la misma forma, el promedio de los porcentajes de MO presentó diferencias en las zonas de muestreo; TC (3.82% ± 0.55), TO (3.46% ± 0.84), SC (7.79% ± 1.06) y SO (9.13% ± 1.23), al igual que para el caso de la T (°C), las diferencias fueron; TC (30.5°C ± 1.05), TO (30°C ± 0.58), SC (21°C ± 0.00) y SO (20.62°C ± 0.48). En estas tres variables físico-químicas [Humedad (%), T (°C) y MO (%)] se detectaron dos rangos de significancia muy independientes; por un lado, entre las zonas de muestreo TC - TO y por otro lado las zonas de muestreo SC-SO. El índice de Dominancia D y la variable físico-química pH no presentaron diferencias significativas (P<0.05) en las zonas de muestreo (Tabla 5). La humedad se ve reflejada en la diversidad, tal es el caso que tiene relación con las zonas muestreadas, ya que las diferencias significativas de los promedios tanto de la humedad TC-TO coinciden en el mismo grupo con los promedios del índice H' TC-TO, de igual manera con las zonas de muestreo SC-SO, que se agrupan con la variable humedad e índice H'.

Tabla 5. Índices de redes alimenticias y variables físico – químicas. Se muestra la media y desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos (promedio±SD).

Zona de muestreo	Índices		Variables físico-químicas			
	Dominancia D	Shannon H <sup>1</sup>	Humedad (%) <sup>1</sup>	T (°C) <sup>1</sup>	pH	MO (%) <sup>1</sup>
Tropical Convencional	0.46 ± 0.17	1.18 ± 0.43 <sup>AB</sup>	5.35 ± 3.40 <sup>A</sup>	30.5 ± 1.05 <sup>B</sup>	6.25 ± 0.44	3.82 ± 0.55 <sup>A</sup>
Tropical Orgánica	0.23 ± 0.10	1.78 ± 0.42 <sup>B</sup>	2.63 ± 1.48 <sup>A</sup>	30 ± 0.58 <sup>B</sup>	7 ± 0.50	3.46 ± 0.84 <sup>A</sup>
Subtemplada Convencional	0.34 ± 0.12	1.27 ± 0.29 <sup>AB</sup>	21 ± 3.46 <sup>B</sup>	21 ± 0.00 <sup>A</sup>	6.74 ± 0.36	7.79 ± 1.06 <sup>B</sup>
Subtemplada Orgánica	0.44 ± 0.08	1.03 ± 0.22 <sup>A</sup>	21.71 ± 2.14 <sup>B</sup>	20.62 ± 0.48 <sup>A</sup>	6.41 ± 0.33	9.13 ± 1.23 <sup>B</sup>

<sup>1</sup>Los valores seguidos de letras distintas en la misma columna representan una diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

### 3.3 Composición de la diversidad funcional

De los cinco gremios tróficos, solo cuatro determinaron su presencia, tanto en suelos de zona subtemplada como en zona tropical. Estos gremios fueron: Omnívoro, Predador, Herbívoro y Bacterívoros (Figura 2). En las cuatro zonas de muestreo, solo los promedios de los gremios bacterívoros TC (7.08% ± 1.88), TO (8.20% ± 2.66), SC (1.66% ± 2.06) y SO (0.00% ± 1.74) y predador TC (8.82% ± 2.96), TO (24.40% ± 4.18), SC (0.38% ± 3.24) y SO (2.57% ± 2.74), mostraron diferencias significativas (P<0.05). Para el caso del grupo trófico bacterívoros se detectó solo un rango de significancia para tres zonas de muestreo TC, TO y SC. Mientras que para el grupo trófico predador se detectó dos rangos de significancia, el primero con las zonas de muestreo SC, SO y TC, y el segundo solo con la zona de muestreo TO (Figura 2). El

gremio trófico de herbívoros y omnívoros no presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en las zonas de muestreo.

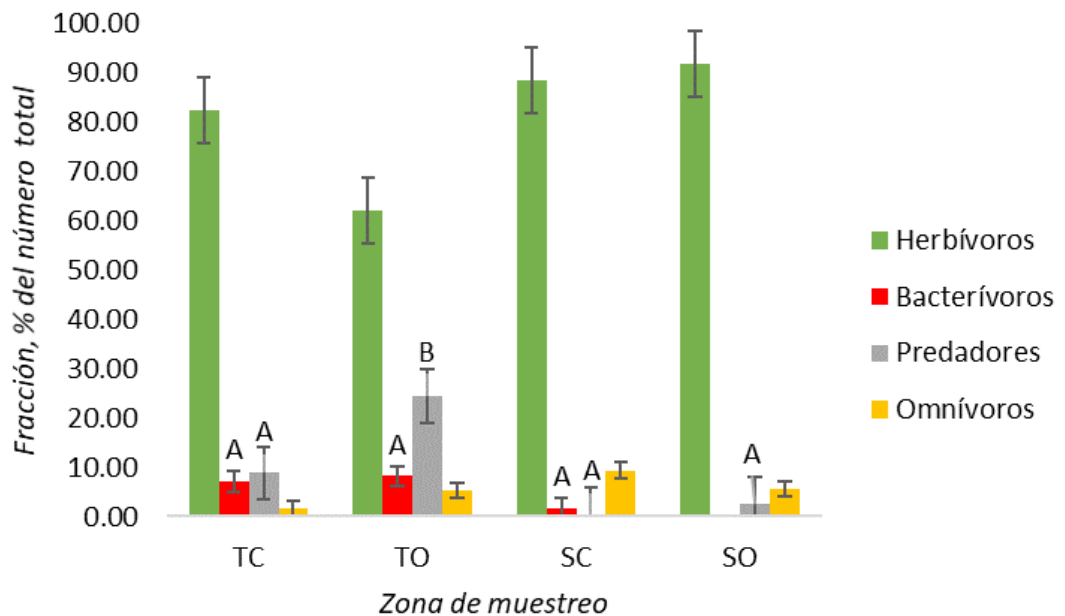


Figura 2. Distribución de nemátodos según el gremio trófico. Los valores seguidos de letras distintas en el mismo gremio representan una diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

Tanto el gremio de nemátodos predadores como omnívoros demuestra una destacada presencia al analizar la composición de nemátodos de vida libre (Figura 3). En este caso los tres gremios tróficos encontrados demostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en las cuatro zonas de muestreo con los siguientes promedios: Bacterívoros TC ( $41.93\% \pm 8.62$ ), TO ( $20.50\% \pm 12.19$ ), SC ( $3.46\% \pm 9.44$ ) y SO ( $0.00\% \pm 7.98$ ), predador TC ( $53.52\% \pm 11.26$ ), TO ( $72.20\% \pm 15.92$ ), SC ( $0.76\% \pm 12.33$ ) y SO ( $23.94\% \pm 10.42$ ) y omnívoro TC ( $4.55\% \pm 12.70$ ), TO ( $7.30\% \pm 17.97$ ), SC ( $55.76\% \pm 13.92$ ) y SO ( $76.06\% \pm 11.76$ ). En el grupo trófico bacterívoro se detectaron dos rangos de significancia, el primero con las zonas SC y TO; el segundo con las zonas SC, TO y TC, para este grupo trófico las zonas de muestreo SO no presenta el rango de significancia. Para el caso del grupo trófico predador también se detectaron 2 rangos de significancia, esta vez el primero con las zonas SO-SC y el segundo con las zonas SO, TC y TO, para este grupo trófico las zonas de muestreo SC no concuerda el rango de significancia con las zonas TC y TO. Por último, el grupo trófico omnívoro con 2 rangos de significancia, el primero con las zonas TC, TO y SC y el

segundo con las zonas SC y SO. Las zonas de muestreo TC-TO, no concuerdan el rango de significancia con la zona SO.

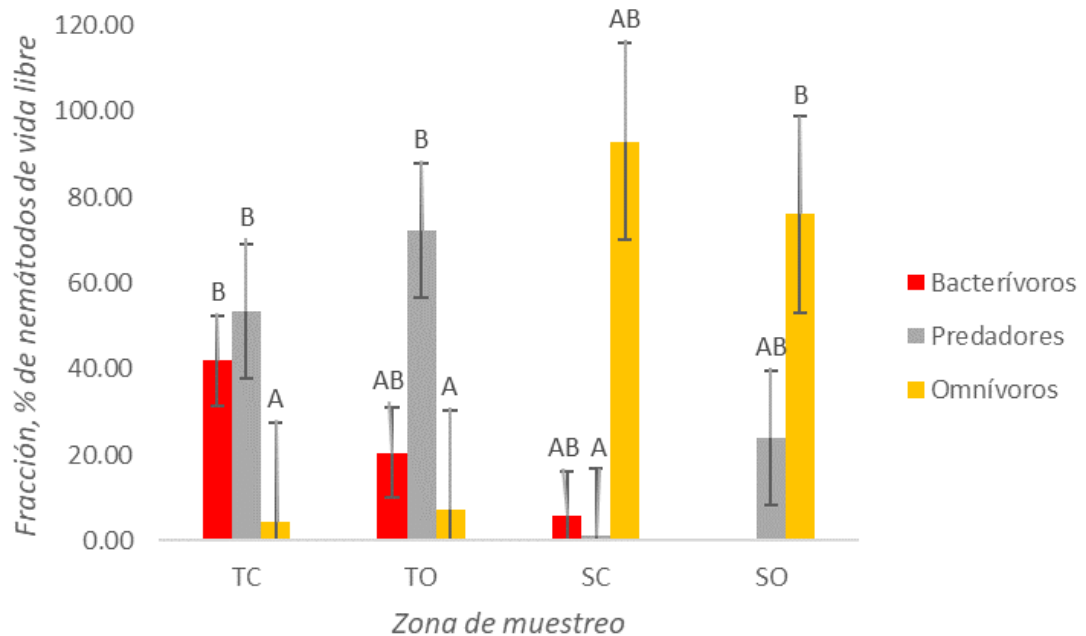


Figura 3. Distribución de abundancia de nemátodos de vida libre. Los valores seguidos de letras distintas en el mismo gremio representan una diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

### 3.4 Índices de redes alimenticias

Los indicadores IM, IM 2-5 no presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en este estudio. Mientras que en los porcentajes c-p de nemátodos de vida libre, solo c-p1, c-p2 y c-p4 presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) con los siguientes promedios según la zona de muestreo: C-p1 TC ( $36.83 \pm 8.16$ ), TO ( $22.80 \pm 11.54$ ), SC ( $1.54 \pm 8.94$ ), SO ( $0.00 \pm 7.55$ ); c-p2 TC ( $6.20 \pm 2.88$ ), TO ( $15.93 \pm 4.07$ ), SC ( $1.92 \pm 3.16$ ), SO ( $0.00 \pm 2.67$ ) y c-p4 TC ( $55.85 \pm 12.94$ ), TO ( $25.93 \pm 18.30$ ), SC ( $56.54 \pm 14.18$ ) SO ( $100.00 \pm 11.98$ ). En cuanto al rango de significancia para el porcentaje c-p1 todas las zonas de muestreo se agruparon en un solo rango. En el porcentaje c-p2 se detectaron dos rangos de significancia, el primero con las zonas SO, SC y TC, mientras que el segundo solo con las zonas de muestreo TC y TO, en este caso las zonas de muestreo SO-SC no concuerdan con la zona TO. Por último, para el porcentaje c-p4, también se detectaron 2 rangos de significancia, el primero

con las zonas TO, TC y SC, mientras que el segundo con las zonas TC, SC y SO, no hay concordancia entre las zonas de muestreo TO y SO.

Tabla 6. Valores promedios de índices de madurez y porcentaje de géneros de nemátodos colonizador-persistente (c-p).

Zona de muestreo	Índice de madurez	Índice de madurez 2-5	Porcentaje c-p de nemátodos de vida libre				
			c-p1 <sup>1</sup>	c-p2 <sup>1</sup>	c-p3	c-p4 <sup>1</sup>	c-p5
Tropical Convencional	2.78 ± 1.02	3.8 ± 0.32	36.83 ± 32.71 <sup>A</sup>	6.20 ± 8.67 <sup>AB</sup>	0	55.85 ± 32.70 <sup>AB</sup>	1.12 ± 2.74
Tropical Orgánica	2.91 ± 0.52	3.59 ± 0.68	22.80 ± 26.38 <sup>A</sup>	15.93 ± 14.08 <sup>B</sup>	22.23 ± 38.51	25.93 ± 20.98 <sup>A</sup>	13.17 ± 22.81
Subtemplada Convencional	3.32 ± 2.12	2.36 ± 2.15	1.54 ± 3.44 <sup>A</sup>	1.92 ± 4.29 <sup>A</sup>	0	56.54 ± 52.09 <sup>AB</sup>	0
Subtemplada Orgánica	4 ± 0	4 ± 0	0	0	0	100 ± 0 <sup>B</sup>	0

<sup>1</sup>Los valores seguidos de letras distintas en la misma columna representan una diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

La ilustración gráfica de la estructura c-p (figura 4), demostraron mayor estabilidad en los cultivos de la zona subtemplada, tanto en cultivos de manejo orgánico como convencional. Por lo contrario, los cultivos de musáceas se inclinan a una estructura de enriquecimiento principalmente en cultivos de manejo convencional. Ninguna zona de muestro presenta cultivos que se inclinen hacia el estrés en el triángulo de estructura c-p. En la correlación entre los índices de diversidad – dominancia y variables físico – químicas, la varianza no paramétrica de Kruskal Wallis, presento resultados que no fueron estadísticamente significativos.

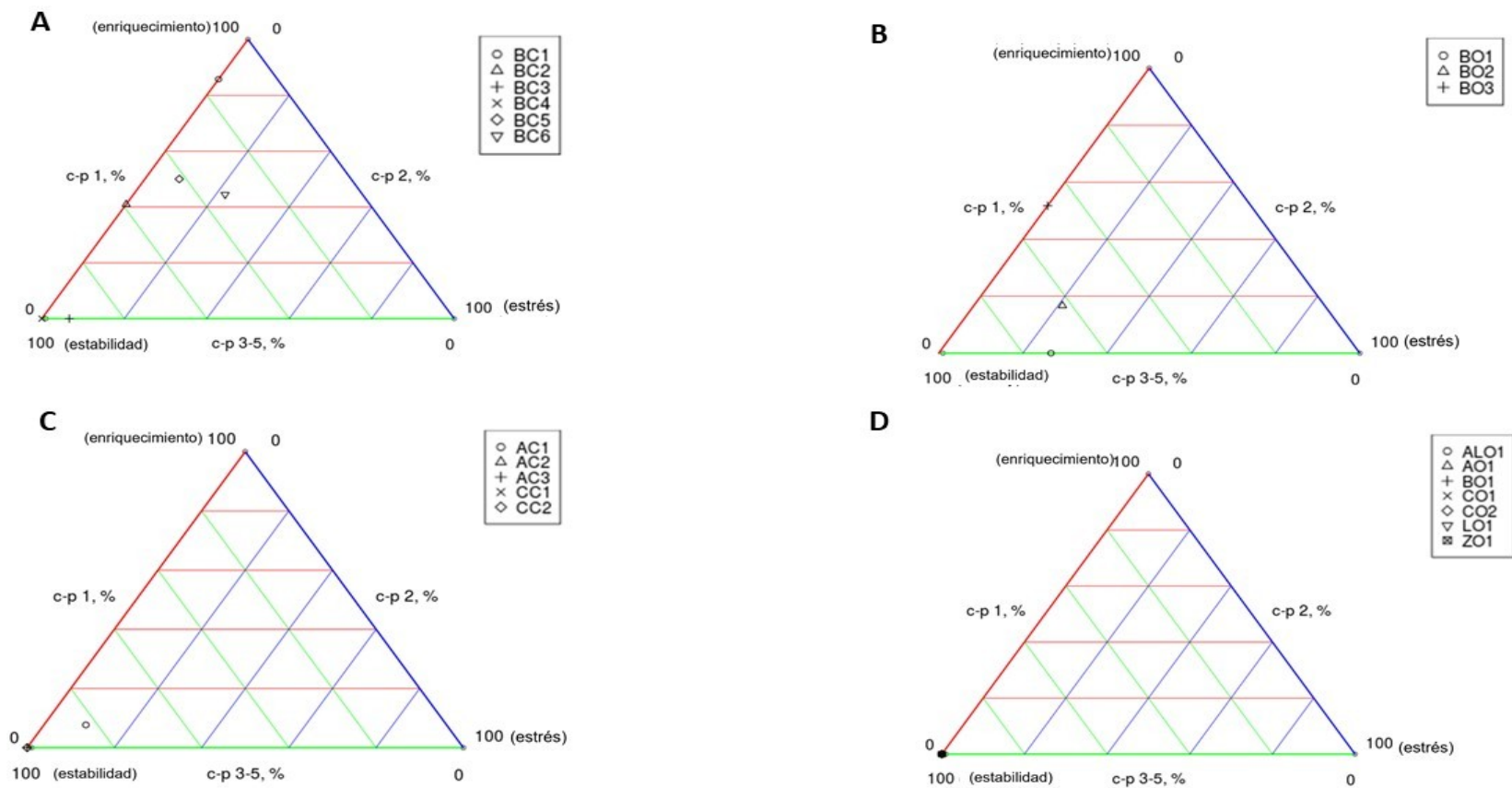


Figura 4. Representación gráfica de la estructura c-p de los conjuntos de nemátodos; **A.** muestras de la zona de muestreo TC; **B.** muestras de la zona de muestreo TO; **C.** muestras de la zona de muestreo SC; **D.** muestras de la zona de muestreo SO.

### 3.5 PCR y Secuenciación

Se analizaron un total de 38 muestras de larvas de los diferentes géneros de nemátodos encontrados (Anexo 8), en algunos casos repetidos, con diferentes números de ejemplares, según las cantidades encontradas y 4 muestras por identificar. Se extrajo ADN de cada una de las muestras para posteriormente ser secuenciadas. Las amplificaciones se llevaron a cabo a partir de 4  $\mu\text{l}$  de cada muestra, respectivamente, mas 1  $\mu\text{l}$  para cuantificar, de las cuales 4 muestras mostraron dos productos de amplificación (12, 15, 16 y 31), mientras que otras 4 no mostraron amplificación (17, 42, 43 y 44) (Figura 5). Se realizó repetición en la amplificación tanto en las muestras de dos productos de amplificación y de las que no mostraron ningún producto de amplificación. Se obtuvieron productos de amplificación independientemente del tamaño de las larvas y de la cantidad de ejemplares (Figura 5, carriles 5-46).

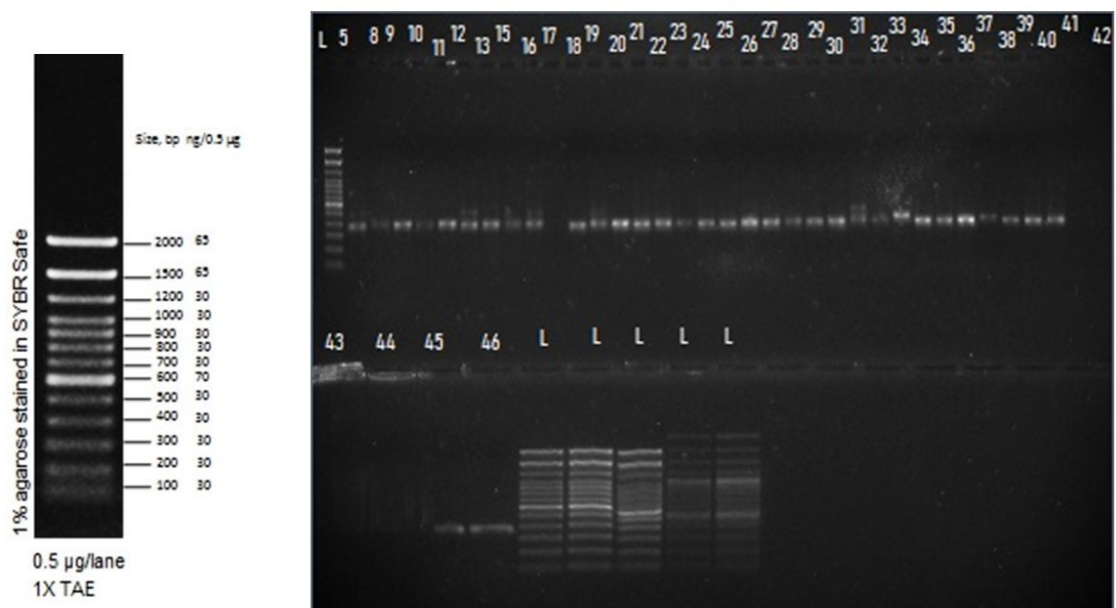


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa al 1% con SYBR Safe de los productos de amplificación obtenidos a partir del ADN correspondientes a 39 muestras cuyos carriles y concentración se describen en el anexo 8.

Del total de nemátodos clasificados inicialmente, se obtuvieron un total de 30 secuencias para Reverse (18Sr2b) y 36 secuencias para Forward (NF1), de las cuales se obtuvieron 17 secuencias de buena calidad, las secuencias restantes no se las considero en la comparación con las bases de datos por limitaciones en la práctica.



Las 17 secuencias de buena calidad se las comparó con las secuencias disponibles en la base de datos del NCBI, utilizando el algoritmo de búsqueda BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). De esta manera se pudo encontrar similitudes en las bases de datos, lo cual dio como resultado 5 organismos diferenciados (Tabla 7) referentes a géneros de nemátodos. Las 12 secuencias restantes mostraron resultados de organismos que se alejan del phylum Nematoda.

Tabla 7. Lista de especies obtenidas desde Genbank.

<b>Primer</b>	<b>Descripción</b>	<b>Número de accesoión</b>
	<i>Hexameris albicans</i>	KF732650.2
	<i>Diphtherophora sp.</i>	KY115102.2
Forward NF1	<i>Panagrolaimus detritophagus</i>	MK966399.2
	<i>Trischistoma ripariana</i>	KU212900.2
	<i>Achromadora</i>	GQ483819.1

## DISCUSIÓN

### 3.6 Composición taxonómica y abundancia

De 29 géneros de nemátodos encontrados, se pudo observar una gran diferencia en la diversidad presente según la zona de cultivo. Existe una menor diversidad en la zona subtemplada, en comparación con la diversidad de la zona tropical. Como lo reportan estudios sobre riqueza de especies, a mayor altitud, la riqueza de especies por lo general disminuye, esto sucede con la mayor parte de la fauna del suelo (McCain & Grytnes, 2010; Mumladze *et al.*, 2015; Vittoz *et al.*, 2010). Al contrario de esta afirmación según Kergunteuil *et al.* (2016), tanto la diversidad como la abundancia de nemátodos aumentan con la altura. Como podemos observar en la tabla 3 y 5, la abundancia de nemátodos si es mayor en la zona subtemplada, en comparación con la zona tropical, mientras que la diversidad no. Esto podría ser a que el tipo de cultivo de ciclo corto como es el caso de las hortalizas no permite cumplir el ciclo de vida de las especies persistentes como los nemátodos predadores. Además, el aumento del porcentaje de humedad observado (21%) en zonas subtempladas, se relaciona con la abundancia de nemátodos, en especial la abundancia de especies herbívoras. Esto debido a que es una zona con mayor frecuencia y cantidad de lluvias (Landesman *et al.*, 2011; Todd *et al.*, 1999), principalmente por el flujo del agua en el sistema de riego de los cultivos, datos obtenidos por las entrevistas realizadas.

Según trabajos realizados por Wardle & Yeates, (1993) y Zhao & Neher, (2014) referente a la competencia en redes tróficas y vías de energía del suelo, en condiciones de altitud más elevadas, mejora el flujo de energía de hongos dentro de los ecosistemas. Esto justifica la presencia de géneros bacterívoros en zona tropical más que en zonas subtemplada reportados en el presente estudio. A pesar de no haber encontrado géneros fungívoros, se cree que podrían estar presentes, pero en una mínima cantidad, quizás por la falta de organismos fungívoros que han sido controlados por géneros como *Tylenchus* spp. e *Iotonchus* spp. Las especies de estos géneros también se alimentarían de hongos y no solo de plantas como lo reportan ciertos estudios (Okada *et al.*, 2002; Tsuda & Futai, 2000).

Si importar la zona, tipo de cultivo o tipo de manejo, los géneros de nemátodos herbívoros fueron más abundantes, demostrando de esta manera su potencial fitopatógeno como plaga. Incluso para el control de nemátodos fitófagos como los del género *Tylenchus*, *Helycotylenchus*, *Pratylenchus* y *Radopholus*, encontrados en mayor cantidad en este estudio, se podría justificar la presencia del uso de agroquímicos. Incluso este grupo trófico de nemátodos herbívoros podría desplazar a

otros grupos tróficos como es el caso de los nemátodos predadores que son importantes como control biológico (Chen *et al.*, 2013).

### **3.7 Diversidad de nemátodos por agroecosistemas y su relación con variables físico-químicas**

En el presente estudio se encontró que los cultivos orgánicos no demuestran una diferencia concreta en la diversidad de nemátodos en comparación a los cultivos convencionales, ya que por un lado la diversidad de nemátodos en las zonas de muestreo TO es mayor a TC y SC, mientras que por otro lado la diversidad de nemátodos SC es mayor que TC y SO según los promedios que presentaron diferencias significativas clasificados en los grupos dados por la prueba de Test de Tukey (Tabla 5). Sin embargo según reportes de Lupatini *et al.* (2017), el manejo de tipo orgánico debería de ser más amigable a la diversidad de nemátodos ya que tiene mayor composición de comunidades microbianas por el poco uso de tratamientos convencionales para el control de plagas. No obstante en el estudio actual, así como los hallazgos presentados por Jaffuel *et al.* (2016), las diferencias en el sistema de cultivo no afectaron la presencia o abundancia de ciertos géneros de nemátodos. Claro está que los valores reportados en la diversidad  $H'$ , no representa una diversidad óptima (Diversidad de Shannon  $H'$  mayor a 2), posiblemente debido al tipo de cultivo perenne como son las musáceas, ya que presentan aportes bajos de carbono orgánico de los residuos de las plantas, como lo afirma Bengtsson *et al.* (2005).

La relación diversidad  $H'$  con el porcentaje de humedad, así como T (°C) y MO puede deberse al factor clima de las zonas de muestreo, esto indicaría mayor diversidad en zonas tropicales en comparación a zonas subtempladas. Autores como Gillingham *et al.* (2012) y Suggitt *et al.* (2011) mencionan la influencia de la temperatura directamente con la distribución de especies, entre estas de nemátodos, según las características del hábitat, esto se ve reflejado la relación de la temperatura con las zonas de estudio. De igual manera los resultados obtenidos con relación a la temperatura y materia orgánica, se relacionan con los obtenidos por otros estudios (Bhusal *et al.*, 2015; Kergunteuil *et al.*, 2016; Traunspurger *et al.*, 2017; Varela Benavides, 2018), donde indican la importancia de los nemátodos en la descomposición de la materia orgánica que podría ser superior en zonas ubicadas a mayor altura, donde la temperatura es el factor clave para entender esta relación.

### **3.8 Presencia de nemátodos predadores en la distribución de nemátodos de vida libre**

La destacada presencia de nemátodos predadores principalmente en zona tropical con cultivos de musáceas demuestra que este tipo de cultivo no afecta directamente su abundancia. Esto es justificado en estudios relacionados a monocultivos, donde la abundancia de nemátodos predadores se debe al uso conservativo de los recursos con un incremento gradual en la productividad con el paso del tiempo (Dietrich *et al.*, 2020). Además, en esta misma zona con cultivo de musácea y manejo orgánico, la tendencia fue de menor abundancia de nemátodos herbívoros. Según Khan & Kim (2007b) los nemátodos predadores al alimentarse de presas liberan nutrientes para la planta, esto aumenta la resistencia contra los nemátodos herbívoros. Mientras que en cultivos de zonas subtempladas con cultivos hortícolas y 21% de humedad, la presencia de nemátodos predadores fue inferior, siendo su abundancia superada por el grupo de nemátodos omnívoros principalmente en cultivos de manejo convencional, donde la presencia de nemátodos predadores fue casi nula. Estos resultados concuerdan según Franco *et al.* (2019) quien reporta que en suelos áridos permiten un aumento en la abundancia de nemátodos predadores que consumen a otros grupos tróficos incluidos los herbívoros, limitando su abundancia. Una de las posibles causas debido a el tipo de cultivo con ciclo corto.

La mayor cantidad de nemátodos se concentró en la clase c-p4, clasificando a los géneros de nemátodos con ciclo de vida largo, más grandes y muy sensibles a perturbaciones, engloba generalmente a nemátodos predadores y omnívoros (Bongers, 1990). Estos resultados indican redes tróficas más complejas en las zonas subtempladas con cultivos de ciclo corto, que en la zona tropical con cultivos de musáceas, lo que determina una estabilidad en la comunidad de nemátodos por lo tanto conservación del suelo, dando resultados similares presentados en estudios de estructura comunitaria de nemátodos en agroecosistemas con cultivos agroecológicos (Salas & Achinelly, 2020).

Todos los productos resultantes de la amplificación del ADN mostraron un tamaño aproximado de 400 pb cuyo valor coincide a los datos reportados por Sapkota & Nicolaisen., (2015), quienes reportan un tamaño de amplificación con 420 pb como lo muestra la figura 5. *Hexameris albicans*, *Diphtherophora sp.*, *Panagrolaimus detritophagus*, *Trischistoma ripariana* y *Achromadora*, se presentaron como alineaciones significativas a partir de una búsqueda en BLAST, considerados como pseudogenes por su secuencia parcial, esto géneros encontrados, se ajustan a el orden Rhabditida y a las subclases dorylaimia y enoplia según la base de datos de taxonomía del NCBI (Schoch et al., 2020). Lo que demuestra una relación de

organismos con el phylum Nematoda. No obstante este análisis molecular no está ajustado a los resultados morfológicos, ya que mediante el análisis morfológico se obtuvieron más resultados quizás por una , por esta razón los resultados no fueron considerados para el resto del análisis.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

Las diferencias en los sistemas de cultivo orgánico y convencional, para las cuatro zonas de muestreo evaluados (TC-TO y SC-SO) en este estudio, no tuvieron impacto en la abundancia y diversidad de nemátodos. No obstante, el clima, por sus variables humedad y temperatura, junto con la materia orgánica puede tener un efecto importante en la distribución de nemátodos e incluso en la infestación de nemátodos herbívoros. La abundancia de nemátodos predadores puede estar controlada por el tipo de cultivo de ciclo corto y las condiciones climáticas de humedad. Pero sin embargo estas condiciones pueden ser beneficiosas para nemátodos del grupo trófico omnívoro. Por lo tanto, puede ser aconsejable realizar un inventario de nemátodos en los diferentes cultivos de diferentes regiones del Ecuador para confirmar el comportamiento de los nemátodos predadores con los otros grupos tróficos. También queda por determinar una guía metodológica específica para el tratamiento de los nemátodos para la identificación molecular. La utilización de nemátodos predadores como biocontrol parece ser más prometedor dependiendo las condiciones climáticas y el tipo de cultivo, pero también puede ser un gran potencial utilizarlo en cultivos de ciclo corto que sufren grandes infestaciones de nemátodos herbívoros.

## BIBLIOGRAFIA

- Ahmad, W., & Shaheen, A. (2004). A redescription of “*Nygolaimium menzeli*” (Micoletzky, 1925) Heyns, 1968 (Nematoda : Nygolaimina) with designation of its neotype from Costa Rica. *Journal of Nematode Morphology and Systematics*, 7(2), J. Nem. Morph. Syst., 7 (2): 153-157 (2004, publ.
- Alvarez-Ortega, S., Nguyen, T. A. D., Abolafia, J., Bonkowski, M., & Pena-Santiago, R. (2016). *Sectonema caobangense* sp. n. from Vietnam (Nematoda, Dorylaimida, Aporcelaimidae). *Journal of Nematology*, 48(2), 95–103. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-014>
- Andrássy, I. (2010). Two new nematode species of the subfamily Brittonematinae (Dorylaimida: Actinolaimidae). *Opuscula Zoologica Instituti Zoosystematici et Oecologici Universitatis Budapestinensis*, 41(2), 175–190.
- Armendáriz, I., Quiña, D., Rios, M., & Landázuri, P. (2015). *NEMATODOS FITOPATÓGENOS Y SUS ESTRATEGIAS DE CONTROL* (A. A. David (ed.)).
- Bengtsson, J., Ahnström, J., & Weibull, A. C. (2005). The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: A meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 42(2), 261–269. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x>
- Bento, G., Ogawa, A., & Sommer, R. J. (2010). Co-option of the hormone-signalling module dafachronic acid-DAF-12 in nematode evolution. *Nature*, 466(7305), 494–497. <https://doi.org/10.1038/nature09164>
- Bernard, E. C. (1992). Soil nematode biodiversity. *Biology and Fertility of Soils*, 14(2), 99–103. <https://doi.org/10.1007/BF00336257>
- Bhusal, D. R., Tsiafouli, M. A., & Sgardelis, S. P. (2015). Temperature-based bioclimatic parameters can predict nematode metabolic footprints. *Oecologia*, 179(1), 187–199. <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3316-4>
- Bilgrami, A. L. (1995). Numerical analysis of the relationship between the predation by *Mesodorylaimus bastiani* (Nematoda: Dorylaimida) and different prey trophic categories. *Nematologia Mediterranea*, 23, 81–88.
- Bilgrami, A. L., & Brey, C. (2005). Potential of Predatory Nematodes to Control Plant-parasitic Nematodes. In *Nematodes as Biocontrol Agent* (pp. 447–461).
- Bilgrami, A. L., Brey, C., & Gaugler, R. (2007). First field release of a predatory nematode *Monochoides gaugleri* (Nematoda: Diplogasterida) to control plant parasitic nematodes. *Nematology*, 9, in press.
- Bilgrami, A. L., & Jairajpuri, M. S. (1989). Predatory abilities of *monochoides longicaudatus* and *M. fortidens* (Nematoda: Diplogasterida) and factors influencing predation. *Nematologica*, 35(4), 475–488. <https://doi.org/10.1163/002825989X00223>

- Bilgrami, A. L., Khan, Z., Kondo, E., & Yoshiga, T. (2002). Generic diversity and community dynamics of nematodes with particular reference to predaceous nematodes at deciduous forest of Henukuma. *International Journal of Nematology*, 12, 46–54.
- Bilgrami, A. L., Pervez, R., Kondo, E., & Yoshiga, T. (2001). Attraction and aggregation behaviour of *Mesodorylaimus bastiani* and *Aquatides thornei* (Nematoda: Dorylaimida). *Applied Entomology and Zoology*, 36, 243–249.
- Bilgrami, Anwar L. (1997). Nematode Biopesticides. *Aligarh University Press*, 262.
- Bilgrami, Anwar L. (2008). Biological Control Potentials Of Predatory Nematodes. In *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes* (pp. 3–28). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6063-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6063-2_1)
- Bilgrami, Anwar L., Ahmad, I., & Jairajpuri, M. S. (1986). A study on the intestinal contents of some mononchs. *Revue de Nématologie*, 9, 191–194.
- Bilgrami, Anwar L., & Gaugler, R. (2004). Feeding Behaviour. In *Nematode Behaviour* (First, pp. 91–119). CABI Publishing.
- Bilgrami, Anwar L., & Gaugler, R. (2005). Feeding behaviour of the predatory nematodes *Laimydorus baldus* and *Discolaimus major* (Nematoda: Dorylaimida). *Nematology*, 7(1), 11–20. <https://doi.org/10.1163/1568541054192207>
- Bilgrami, Anwar L., Gaugler, R., & Brey, C. (2005). Prey preference and feeding behaviour of the diplogastrid predator *Mononchoides gaugleri* (Nematoda: Diplogastrida). *Nematology*, 7(3), 333–342. <https://doi.org/10.1163/156854105774355563>
- Bogale, M., Baniya, A., & Digennaro, P. (2020). Nematode identification techniques and recent advances. In *Plants* (Vol. 9, Issue 10, pp. 1–15). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants9101260>
- Bongers, T. (1990). The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, 83(1), 14–19. <https://doi.org/10.1007/BF00324627>
- Bongiorno, G., Bodenhausen, N., Bünemann, E. K., Brussaard, L., Geisen, S., Mäder, P., Quist, C. W., Walser, J. C., & de Goede, R. G. M. (2019). Reduced tillage, but not organic matter input, increased nematode diversity and food web stability in European long-term field experiments. *Molecular Ecology*, 28(22), 4987–5005. <https://doi.org/10.1111/mec.15270>
- Boosalis, M., & Mankau, R. (1965). Parasitism and predation of soil microorganisms. In *Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens* (pp. 374–391). University of California Press.

- Boström, S. (1991). *Mesorhabditis minuta* n. sp. from Greece (Nematoda : Rhabditidae). *Revue de Nématologie*, 14(1), 119–122.  
[http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/pleins\\_textes\\_5/pt5/nemato/31620.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_5/pt5/nemato/31620.pdf)
- Brentu, C. F., Speijer, P. R., Green, K. R., Hemeng, B. M. S., De Waele, D., & Coyne, D. L. (2004). Micro-plot evaluation of the yield reduction potential of *Pratylenchus coffeae*, *Helicotylenchus multicinctus* and *Meloidogyne javanica* on plantain cv. Apantu-pa (*Musa* spp., AAB-group) in Ghana. *Nematology*, 6(3), 455–462. <https://doi.org/10.1023/B:NEMT.0000046915.35372.0a>
- Carta, L. K., & Skantar, A. M. (2014). A *Trichodorus* (Triplonchida: Trichodoridae) nematode from thrips (Thysanoptera: Panchaetothripinae). *Journal of Nematology*, 46(3), 302–308.
- Chabrier, C., Tixier, P., Duyck, P. F., Cabidoche, Y. M., & Quénéhervé, P. (2010). Survival of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne without food: Why do males survive so long? *Applied Soil Ecology*, 45(2), 85–91.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.02.005>
- Chen, D., Zheng, S., Shan, Y., Taube, F., & Bai, Y. (2013). Vertebrate herbivore-induced changes in plants and soils: Linkages to ecosystem functioning in a semi-arid steppe. *Functional Ecology*, 27(1), 273–281.  
<https://doi.org/10.1111/1365-2435.12027>
- Cobb, N. A. (1917). The *Mononchus*: a genus of free living predatory nematodes. *Soil Science*, 3, 431–486.
- Coyne, D L, Nicol, J. M., & Claudius-Cole, B. (2014). *Practical plant nematology: A field and laboratory guide Integrated Pest Management* (2nd ed.).  
<http://biblio.iita.org/documents/U14BkCoynePracticalNothomDev.pdf-d663ec356760331c1acd9a16e3848f16.pdf>
- Coyne, Danny L., Omowumi, A., Rotifa, I., & Afolami, S. O. (2013). Pathogenicity and damage potential of five species of plant-parasitic nematodes on plantain (*Musa* spp., AAB genome) cv. Agbagba. *Nematology*, 15(5), 589–599.  
<https://doi.org/10.1163/15685411-00002704>
- Crop, A., Society, S., Waceke, J. W., & Sciences, M. (2007). Plant parasitic nematodes associated with cabbages in Kenya Results and Discussion. *8th African Crop Science Society Conference, El-Minia, Egypt, 27-31 October 2007*, 8, 1071–1074.
- De Goede, R. G. M., Bongers, T., & Ettema, C. H. (1993). Graphical presentation and interpretation of nematode community structure: c-p triangles. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 58(2b), 743–750.
- De Luca, F., Troccoli, A., Duncan, L. W., Subbotin, S. A., Waeyenberge, L., Coyne,



- D. L., Brentu, F. C., & Inserra, R. N. (2012). *Pratylenchus speijeri* n. sp. (Nematoda: Pratylenchidae), a new root-lesion nematode pest of plantain in West Africa. *Nematology*, *14*(8), 987–1004. <https://doi.org/10.1163/156854112X638424>
- Desgarenes, D., Sanchez-Nava, P., Pena-Santiago, R., & Carrion, G. (2009). *Nematode fauna associated with the rhizosphere of potato crop (Solanum tuberosum) grown in the region of Cofre de Perote, Veracruz, Mexico*. *Revista Mexicana De Biodiversidad*.
- Dietrich, P., Roeder, A., Cesarz, S., Eisenhauer, N., Ebeling, A., Schmid, B., Schulze, E., Wagg, C., Weigelt, A., & Roscher, C. (2020). Nematode communities, plant nutrient economy and life-cycle characteristics jointly determine plant monoculture performance over 12 years. *Oikos*, *129*(4), 466–479. <https://doi.org/10.1111/oik.06989>
- du Preez, G. C., Daneel, M. S., Wepener, V., & Fourie, H. (2018). Beneficial nematodes as bioindicators of ecosystem health in irrigated soils. *Applied Soil Ecology*, *132*, 155–168. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.08.008>
- Elling, A. A. (2013). Major emerging problems with minor Meloidogyne species. *Phytopathology*, *103*(11), 1092–1102. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0019-RVW>
- Escobar, C., & Fenoll, C. (2015). *Title Page* (Vol. 7, Issues 1–6). [https://doi.org/10.1016/s0065-2296\(15\)00020-8](https://doi.org/10.1016/s0065-2296(15)00020-8)
- Fallas, G., & Sarah, J. L. (1995). Effect of temperature on the in vitro multiplication of seven Radopholus similis isolates from different banana producing zones of the world. *Fundamental and Applied Nematology*, *18*, 445.451.
- FAOSTAT. (2020). <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Ferris, H., Bongers, T., & de Goede, R. G. M. (2004). Nematode faunal analyses to assess food web enrichment and connectance. *Nematology Monographs and Perspectives*, *2*(January), 503–510.
- Ferris, H., Sánchez-Moreno, S., & Brennan, E. B. (2012). Structure, functions and interguild relationships of the soil nematode assemblage in organic vegetable production. *Applied Soil Ecology*, *61*, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.04.006>
- Ferris, H., & Van Gundy, S. D. (1979). Meloidogyne ecology and host interrelationships. In F. Lamberli & C. E. Taylor (Eds.), *Root-knot Nematodes (Meloidogyne species). Systematics, Biology and Control*. (pp. 205–230). Academic Press.
- Fosu-Nyarko, J., & Jones, M. G. K. (2015). Application of biotechnology for nematode control in crop plants. In *Advances in Botanical Research* (Vol. 73).

Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2014.12.012>

- Franco, A. L. C., Gherardi, L. A., de Tomasel, C. M., Andriuzzi, W. S., Ankrom, K. E., Ashley Shaw, E., Bach, E. M., Sala, O. E., & Wall, D. H. (2019). Drought suppresses soil predators and promotes root herbivores in mesic, but not in xeric grasslands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(26), 12883–12888. <https://doi.org/10.1073/pnas.1900572116>
- Fürst Von Lieven, A., & Sudhaus, W. (2000). Comparative and functional morphology of the buccal cavity of Diplogastrina (Nematoda) and a first outline of the phylogeny of this taxon. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, *38*(1), 37–63. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0469.2000.381125.x>
- Grewal, P. S., Ehlers, R. U., & Shapiro-Ilan, D. I. (2005). Nematodes as biocontrol agent. In *Nematodes as Biocontrol Agent*. <https://doi.org/10.21273/hortsci.46.2.333a>
- Gugino, B. K., Abawi, G. S., & Ludwig, J. W. (2006). Damage and management of *Meloidogyne hapla* using oxamyl on carrot in New York. *Journal of Nematology*, *38*(4), 483–490. [/pmc/articles/PMC2586463/?report=abstract](https://doi.org/10.21273/hortsci.46.2.333a)
- Hallmann, J., & Meressa, H. B. (2018). Nematode Parasites of Vegetables. In *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* (pp. 346–410).
- Hernandes, I., Brito, O. D. C., Cardoso, M. R., Ferreira, J. C. A., Puerari, H. H., & Dias-Arieira, C. R. (2017). Acibenzolar-S-methyl on *Meloidogyne javanica* control in lettuce. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, *67*(7), 660–664. <https://doi.org/10.1080/09064710.2017.1329453>
- Hu, N., Li, H., Tang, Z., Li, Z., Tian, J., Lou, Y., Li, J., Li, G., & Hu, X. (2016). Community diversity, structure and carbon footprint of nematode food web following reforestation on degraded Karst soil. *Scientific Reports*, *6*. <https://doi.org/10.1038/srep28138>
- Inserra, R. N., Stanley, J. D., Ochoa, A., Schubert, T. S., Subbotin, S. A., Crow, W. T., & Mcsorley, R. (2014). *Hemicriconemoides* Species as Crop Damaging Parasitic Nematodes in Florida 1. 223.
- Jaffuel, G., Mäder, P., Blanco-Perez, R., Chiriboga, X., Fliessbach, A., Turlings, T. C. J., & Campos-Herrera, R. (2016). Prevalence and activity of entomopathogenic nematodes and their antagonists in soils that are subject to different agricultural practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *230*, 329–340. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.06.009>
- Jairajpuri, M. S., & Bilgrami, A. L. (1990). Predatory nematodes. In *Nematodo Bio-Control: Aspects and Prospects* (I, pp. 95–125). CBS Publishers.

- Jana, T., Chatterjee, A., & Manna, B. (2008). Two new and a known species of the genus *Miconchus* Andrassy, 1958 (Nematoda: Anatonchidae) from West Bengal, India. *Opuscula Zoologica Instituti Zoosystematici et Oecologici Universitatis Budapestinensis*, 39(1), 77–90.
- Jaramillo, D. F. J. (2014). *El suelo : origen, propiedades, espacialidad*. Universidad Nacional de Colombia.
- Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G. J., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G. K., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J. E., Wesemael, W. M. L., & Perry, R. N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 14, Issue 9, pp. 946–961). <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>
- Kanzaki, N., Ekino, T., & Masuya, H. (2019). *Seinura caverna* n. Sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae), an androdioecious species isolated from bat guano in a calcareous cave. *Nematology*, 21(2), 207–225. <https://doi.org/10.1163/15685411-00003207>
- Kergunteuil, A., Campos-herrera, R., Sánchez-moreno, S., Vittoz, P., & Ali, J. G. (2016). *The Abundance , Diversity , and Metabolic Footprint of Soil Nematodes Is Highest in High Elevation Alpine Grasslands*. 4(July), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fevo.2016.00084>
- Keshari, A. K., Shah, M. M., & Gupta, R. (2018). First report on four species of predatory nematodes, mononchids (Nematoda : Mononchida) from Nepal. *Journal of Applied and Advanced Research*, 3(5), 139. <https://doi.org/10.21839/jaar.2018.v3i5.223>
- Khan, Z., & Kim, Y. H. (2005). The predatory nematode, *Mononchoides fortidens* (Nematoda: Diplogasterida), suppresses the root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*, in potted field soil. *Biological Control*, 35(1), 78–82. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.05.015>
- Khan, Zakaullah, & Kim, Y. H. (2007a). A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, 35(2), 370–379. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.07.007>
- Khan, Zakaullah, & Kim, Y. H. (2007b). A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, 35(2), 370–379. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.07.007>
- Kim, D., Chun, J. Y., & Lee, K. Y. (2016). Morphometric and molecular characterization of populations of *Pratylenchus kumamotoensis* and *P. pseudocoffeae* (Nematoda, Pratylenchidae) newly recorded in Korea. *ZooKeys*, 2016(600), 1–5. <https://doi.org/10.3897/zookeys.600.8508>
- Kolombia, Y. A., Karsen, G., Viaene, N., Kumar, P. L., Joos, L., Coyne, D. L., &

- Bert, W. (2017). Morphological and molecular characterisation of *Scutellonema* species from yam (*Dioscorea* spp.) and a key to the species of the genus. In *Nematology* (Vol. 19, Issue 7). <https://doi.org/10.1163/15685411-00003084>
- Krebs, J. C. (1999). Ecological methodology BT - Ecological methodology. In *Ecological methodology* (Second). Addison Wesley Longman. [papers2://publication/uuid/2800DBA3-DD0C-4EDC-AA60-D993B4E8D780](https://doi.org/10.1002/9781118163412.ch1)
- Lande, R. (1996). Statistics and Partitioning of Species Diversity, and Similarity among Multiple Communities. *Oikos*, 76(1), 5. <https://doi.org/10.2307/3545743>
- Landesman, W. J., Treonis, A. M., & Dighton, J. (2011). Effects of a one-year rainfall manipulation on soil nematode abundances and community composition. *Pedobiologia*, 54(2), 87–91. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2010.10.002>
- Leduc, D., & Zhao, Z. Q. (2017). Molecular and morphological characterisation of *Sphaerolaimus haurakiensis* n. sp. (Nematoda, Sphaerolaimidae) from the New Zealand continental shelf. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 51(4), 577–590. <https://doi.org/10.1080/00288330.2017.1298633>
- Li, J., Wang, D., Fan, W., He, R., Yao, Y., Sun, L., Zhao, X., & Wu, J. (2018). Comparative effects of different organic materials on nematode community in continuous soybean monoculture soil. *Applied Soil Ecology*, 125, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.12.013>
- Loos, C. A. (1962). Studies on the life-history and habits of the burrowing nematode *Radopholus similis* the cause of black-head disease of banana. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 29, 43–52.
- Luc, M., Sikora, R. A., & Bridge, J. (2005). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture: Second Edition. In *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture: Second Edition*. <https://doi.org/10.1079/9781786391247.0000>
- Lupatini, M., Korthals, G. W., de Hollander, M., Janssens, T. K. S., & Kuramae, E. E. (2017). Soil microbiome is more heterogeneous in organic than in conventional farming system. *Frontiers in Microbiology*, 7(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02064>
- Mahato, R. (1997). *Hemicycliophora biosphaera*. 29(3), 329–335.
- McCain, C. M., & Grytnes, J.-A. (2010). Elevational Gradients in Species Richness. In *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0022548>
- McSorley, R., & Parrado, J. L. (1986). *Helicotylenchus multicinctus* on bananas, an international problem. *Nematropica*, 16, 73–91.
- Mitiku, M. (2018). Plant-Parasitic Nematodes and their Management: A Review.

*Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*, 16(2).  
<https://doi.org/10.19080/artoaj.2018.16.55580>

Moreno, E., Lightfoot, J. W., Lenuzzi, M., & Sommer, R. J. (2019). Cilia drive developmental plasticity and are essential for efficient prey detection in predatory nematodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1912). <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1089>

Mumladze, L., Murvanidze, M., Maraun, M., & Salakaia, M. (2015). Oribatid mite communities along an elevational gradient in Sairme gorge (Caucasus). *Experimental and Applied Acarology*, 66(1), 41–51.  
<https://doi.org/10.1007/s10493-015-9893-4>

NCBI. (n.d.). *Taxonomy browser (Diplogasteridae)*. Retrieved July 10, 2020, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=50861&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>

*Nemaplex*. (n.d.-a). Retrieved July 29, 2019, from <http://nemaplex.ucdavis.edu/>

*Nemaplex*. (n.d.-b). Retrieved October 12, 2020, from <http://nemaplex.ucdavis.edu/>

Niu, X., Zhai, P., Zhang, W., & Gu, Y. (2019). Effects of Earthworms and Agricultural Plant Species on the Soil Nematode Community in a Microcosm Experiment. *Scientific Reports*, 9(1), 11660. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48230-0>

Nusrat, T., Anjum, A., & Ahmad, W. (2013). Mononchida (nematoda) from silent valley national park, India. *Zootaxa*, 3635(3), 224–236. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3635.3.2>

Odontopharynx, P., & Man, I. De. (1989). *Taxonomy and Postembryonic Stages of the Nematode*. 21(2), 189–201.

Parvatha, R. P. (2008). *Integrated Nematode Management in Horticultural Crops*. Scientific Publishers (India).

Parvatha, R. P. (2013). *Diseases of Horticultural Crops: Nematode Problems and their Management*. Scientific Publishers (India).

Pedroche, N. B., Villaneuva, L. M., & De Waele, D. (2013). Plant-parasitic nematodes associated with semi-temperate vegetables in the highlands of Benguet Province, Philippines. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46(3), 278–294. <https://doi.org/10.1080/03235408.2012.739928>

Pethybridge, S. J., Gorny, A., Hoogland, T., Jones, L., Hay, F., Smart, C., & Abawi, G. (2016). Identification and characterization of *Ditylenchus* spp. populations from garlic in New York State, USA. *Tropical Plant Pathology*, 41(3), 193–197. <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0083-7>

Phani, V., Bishnoi, S., Sharma, A., Davies, K. G., & Rao, U. (2018). Characterization

- of *Meloidogyne indica* (Nematoda: Meloidogynidae) Parasitizing Neem in India, with a molecular phylogeny of the species. *Journal of Nematology*, 50(3), 387–398. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2018-015>
- Pinochet, J., Fernandez, C., & Sarah, J. L. (1995). Influence of temperature on in vitro reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi*, and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology*, 18, 391–392.
- Porazinska, D. L., Giblin-Davis, R. M., Faller, L., Farmerie, W., Kanzaki, N., Morris, K., Powers, T. O., Tucker, A. E., Sung, W., & Thomas, W. K. (2009). Evaluating high-throughput sequencing as a method for metagenomic analysis of nematode diversity. *Molecular Ecology Resources*, 9(6), 1439–1450. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02611.x>
- Prasad, S. K., & Webster, J. M. (1967). Effect of temperature on the rate of development of *Nacobbus serendipiticus* in excised tomato roots. *Nematologica*, 13, 85–90.
- Quénéhervé, P. (1993). Banana phenology in relation to phytophagous nematodes. In *Biological and Integrated Control of Highland Banana and Plantain Pests and Diseases* (In: Gold, pp. 218–230).
- Salas, A., & Achinelly, M. F. (2020). Community Structure of Soil Nematodes Associated with the Rhizosphere of *Solanum Lycopersicum* in a Major Production Area in Argentina: a Case Study Among Agroecosystem Types. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(1), 43–54. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00099-8>
- Sánchez-Moreno, S., & Ferris, H. (2007). Suppressive service of the soil food web: Effects of environmental management. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 119(1–2), 75–87. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.06.012>
- Sapkota, R., & Nicolaisen, M. (2015). High-throughput sequencing of nematode communities from total soil DNA extractions. *BMC Ecology*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12898-014-0034-4>
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database : The Journal of Biological Databases and Curation*, 2020. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
- Shen, X. L., Wang, L. L., Wang, Y., Wang, M. L., Yang, D. L., Zhao, J. N., Li, G., Xuan, Q. X., & Wang, L. (2020). Progress on the effects of conservation tillage on soil aggregates, microbes, and nematode communities. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 37(3), 361–370. <https://doi.org/10.13254/j.jare.2019.0496>

- Shokoohi, E., Mehrabi-Nasab, A., Mirzaei, M., & Peneva, V. (2013). Study of mononchids from Iran, with description of *Mylonchulus kermaniensis* sp. n. (Nematoda: Mononchida). *Zootaxa*, 3599(6), 519–534. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3599.6.2>
- Sidhu, H. S., & Kanwar, R. S. (2020). Effect of prey density of meloidogyne incognita on the predation efficiency of the predator, ficator composticola (nematoda: diplogasteridae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00274-5>
- Sikora, R. A., Coyne, D. L., & Quénéhervé, P. (2018). Nematode Parasites of Bananas and Plantains. In *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* (pp. 617–657). 978-1-78639-125-4.
- Sivakumar, C. V., & Seshadri, A. R. (1972). Histopathology of infection by the reniform nematode *Rotylenchus reniformis* Linford and Oliveira, 1940 on castor, papaya and tomato. *Indian Journal of Nematology*, 173–181.
- Sivasubramaniam, N., Hariharan, G., & Zakeel, M. C. M. (2020). Sustainable management of plant-parasitic nematodes: An overview from conventional practices to modern techniques. In *Management of Phytonematodes: Recent Advances and Future Challenges* (pp. 353–399). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-4087-5\\_16](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4087-5_16)
- Sommer, R. J., Hunt, D. J., & Perry, R. N. (2015). PRISTIONCHUS PACIFICUS-A NEMATODE MODEL FOR COMPARATIVE AND EVOLUTIONARY BIOLOGY. In *NEMATOLOGY MONOGRAPHS AND PERSPECTIVES* (Vol. 11).
- Srivastava, D.S. Sehgal, M. Kumar, A. Verma, S. Dwivedi, B. K., & Singh, S. P. (2012). Plant-parasitic nematodes associated with tomato and okra fields of Allahabad, Uttar Pradesh, India. *Pakistan Journal of Nematology (Pakistan)*. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PK2013000483>
- Sroczyńska, K., Conde, A., Chainho, P., & Adão, H. (2021). How nematode morphometric attributes integrate with taxonomy-based measures along an estuarine gradient. *Ecological Indicators*, 124. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107384>
- Steel, H., & Ferris, H. (2016). Soil nematode assemblages indicate the potential for biological regulation of pest species. *Acta Oecologica*, 73, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2016.03.004>
- Stirling, G. R. (2014). Nematodes, Mites and Collembola as Predators of Nematodes, and the role of Generalist Predators. In G. R. Stirling (Ed.), *Biological Control of Plant-parasitic Nematodes: Soil Ecosystem Management in Sustainable Agriculture* (2nd ed., pp. 157–188). CAB International.

- Tahseen, Q., & Rajan, P. (2009). Description of *Mononchus intermedius* sp. n. (Mononchidae: Nematoda). In *Nematologia Mediterranea*. <https://journals.flvc.org/nemamedi/article/view/86998>
- Tahseen, Qudsia, Ahlawat, S., Asif, M., & Mustaqim, M. (2016). Description of a new species of *Acrostichus* Rahm 1928 (Nematoda: Diplogastridae) from India with a note on its position and relationship with the congeners. *Biodiversity Data Journal*, 4(1), e8029-24. <https://doi.org/10.3897/BDJ.4.e8029>
- Tahseen, Qudsia, Asif, M., Mustaqim, M., Ahlawat, S., & Bert, W. (2013). Descriptions of ten known species of the superfamily mononchoidea (Mononchida: Nematoda) from north India with a detailed account on their variations. *Zootaxa*, 3646(4), 301–335. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3646.4.1>
- Tahseen, Qudsia, Jairajpuri, M. S., & Ahmad, I. (1990). The life cycle of *Mononchoides fortidens* with emphasis on gonad development. *Nematologica*, 36, 440–447.
- Thorne, G. (1927). The life history, habits and economic importance of some mononchs. *Journal of Agricultural Research*, 34, 265–286.
- Todd, T. C., Blair, J. M., & Milliken, G. A. (1999). Effects of altered soil-water availability on a tallgrass prairie nematode community. *Applied Soil Ecology*, 13(1), 45–55. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(99\)00022-0](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(99)00022-0)
- Traunspurger, W., Reiff, N., Krashevskaya, V., Majdi, N., & Scheu, S. (2017). Diversity and distribution of soil micro-invertebrates across an altitudinal gradient in a tropical montane rainforest of Ecuador, with focus on free-living nematodes. *Pedobiologia*, 62, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2017.04.003>
- Treonis, A. M., Unangst, S. K., Kepler, R. M., Buyer, J. S., Cavigelli, M. A., Mirsky, S. B., & Maul, J. E. (2018). Characterization of soil nematode communities in three cropping systems through morphological and DNA metabarcoding approaches. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20366-5>
- Van Den Bergh, I., Nguyet, D. T. M., Tuyet, N. T., Nhi, H. H., & De Waele, D. (2006). Influence of *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne* spp. on plant growth and yield of banana (*Musa* spp.) in Vietnam. *Nematology*, 8(2), 265–271. <https://doi.org/10.1163/15685410677998683>
- van Wyk, J. A., & Mayhew, E. (2013). Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 80(1). <https://doi.org/10.4102/ojvr.v80i1.539>



- Varela Benavides, I. (2018). Abundance, diversity and metabolic footprint of nematode communities in different life zones in the Region Huetar Norte from Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 66(4), 1709–1720. <https://doi.org/10.15517/rbt.v66i4.33219>
- Vittoz, P., Camenisch, M., Mayor, R., Miserere, L., Vust, M., & Theurillat, J. P. (2010). Gradient subalpin-nival de la richesse spécifique des plantes vasculaires, bryophytes et lichens dans les Alpes internes en Suisse. *Botanica Helvetica*, 120(2), 139–149. <https://doi.org/10.1007/s00035-010-0079-8>
- Vovlas, N. (1992). Taxonomy of *Discocriconemella* (Nematoda: Criconematoidea) with a Redescription of *D. mauritiensis*. *Journal of Nematology*, 24(3), 391–398.
- Wardle, D. A., & Yeates, G. W. (1993). The dual importance of competition and predation as regulatory forces in terrestrial ecosystems: evidence from decomposer food-webs. *Oecologia*, 93(2), 303–306. <https://doi.org/10.1007/BF00317685>
- WHITEHEAD, A. G., & HEMMING, J. R. (1965). A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology*, 55(1), 25–38. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1965.tb07864.x>
- Zhang, Z. Q. (2013). Animal biodiversity: An update of classification and diversity in 2013. *Zootaxa*, 3703(1), 5–11. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3703.1.3>
- Zhao, J., & Neher, D. A. (2014). Soil energy pathways of different ecosystems using nematode trophic group analysis: A meta analysis. *Nematology*, 16(4), 379–385. <https://doi.org/10.1163/15685411-00002771>
- Zheng, F., Zhu, D., Giles, M., Daniell, T., Neilson, R., Zhu, Y. G., & Yang, X. R. (2019). Mineral and organic fertilization alters the microbiome of a soil nematode *Dorylaimus stagnalis* and its resistome. *Science of the Total Environment*, 680, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.384>
- ALVAREZ-ORTEGA, S., DUONG NGUYEN, T. A., ABOLAFIA, J., BONKOWSKI, M., & PENˆA-SANTIAGO, R. (2016). *Sectonema caobangense* sp. n. from Vietnam (Nematoda, Dorylaimida, Aporcelaimidae). *Journal of Nematology*, 48(2), 95–103. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-014>
- Andrássy, I. (2010). Two new nematode species of the subfamily Brittonematinae (Dorylaimida: Actinolaimidae). *Opuscula Zoologica Instituti Zoosystematici et Oecologici Universitatis Budapestinensis*, 41(2), 175–190.
- Armendáriz, I., Quiña, D., Rios, M., & Landázuri, P. (2015). *NEMATODOS FITOPATÓGENOS Y SUS ESTRATEGIAS DE CONTROL* (A. A. David (Ed.)).
- Bengtsson, J., Ahnström, J., & Weibull, A. C. (2005). The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: A meta-analysis. *Journal of Applied*

- Ecology*, 42(2), 261–269. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x>
- Bento, G., Ogawa, A., & Sommer, R. J. (2010). Co-option of the hormone-signalling module dafachronic acid-DAF-12 in nematode evolution. *Nature*, 466(7305), 494–497. <https://doi.org/10.1038/nature09164>
- Bernard, E. C. (1992). Soil nematode biodiversity. *Biology and Fertility of Soils*, 14(2), 99–103. <https://doi.org/10.1007/BF00336257>
- Bhusal, D. R., Tsiafouli, M. A., & Sgardelis, S. P. (2015). Temperature-based bioclimatic parameters can predict nematode metabolic footprints. *Oecologia*, 179(1), 187–199. <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3316-4>
- Bilgrami, A. L. (1995). Numerical analysis of the relationship between the predation by *Mesodorylaimus bastiani* (Nematoda: Dorylaimida) and different prey trophic categories. *Nematologia Mediterranea*, 23, 81–88.
- Bilgrami, A. L., & Brey, C. (2005). Potential of Predatory Nematodes to Control Plant-parasitic Nematodes. In *Nematodes as Biocontrol Agent* (pp. 447–461).
- Bilgrami, A. L., Brey, C., & Gaugler, R. (2007). First field release of a predatory nematode *Monochoides gaugleri* (Nematoda: Diplogasterida) to control plant parasitic nematodes. *Nematology*, 9, in press.
- Bilgrami, A. L., & Jairajpuri, M. S. (1989). Predatory abilities of *monochoides longicaudatus* and *M. Fortidens* (Nematoda: Diplogasterida) and factors influencing predation. *Nematologica*, 35(4), 475–488. <https://doi.org/10.1163/002825989X00223>
- Bilgrami, A. L., Khan, Z., Kondo, E., & Yoshiga, T. (2002). Generic diversity and community dynamics of nematodes with particular reference to predaceous nematodes at deciduous forest of Henukuma. *International Journal of Nematology*, 12, 46–54.
- Bilgrami, A. L., Pervez, R., Kondo, E., & Yoshiga, T. (2001). Attraction and aggregation behaviour of *Mesodorylaimus bastiani* and *Aquatides thornei* (Nematoda: Dorylaimida). *Applied Entomology and Zoology*, 36, 243–249.
- Bilgrami, Anwar L. (1997). Nematode Biopesticides. *Aligarh University Press*, 262.
- Bilgrami, Anwar L. (2008). Biological Control Potentials Of Predatory Nematodes. In *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes* (pp. 3–28). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6063-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6063-2_1)
- Bilgrami, Anwar L., Ahmad, I., & Jairajpuri, M. S. (1986). A study on the intestinal contents of some mononchs. *Revue de Nématologie*, 9, 191–194.
- Bilgrami, Anwar L., & Gaugler, R. (2004). Feeding Behaviour. In *Nematode Behaviour* (First, pp. 91–119). CABI Publishing.

- Bilgrami, Anwar L., & Gaugler, R. (2005). Feeding behaviour of the predatory nematodes *Laimydrus baldus* and *Discolaimus major* (Nematoda: Dorylaimida). *Nematology*, 7(1), 11–20.  
<https://doi.org/10.1163/1568541054192207>
- Bilgrami, Anwar L., Gaugler, R., & Brey, C. (2005). Prey preference and feeding behaviour of the diplogastrid predator *Mononchoides gaugleri* (Nematoda: Diplogastrida). *Nematology*, 7(3), 333–342.  
<https://doi.org/10.1163/156854105774355563>
- Bogale, M., Baniya, A., & Digennaro, P. (2020). Nematode identification techniques and recent advances. In *Plants* (Vol. 9, Issue 10, pp. 1–15). MDPI AG.  
<https://doi.org/10.3390/plants9101260>
- Bongers, T. (1990). The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, 83(1), 14–19.  
<https://doi.org/10.1007/BF00324627>
- Bongiorno, G., Bodenhausen, N., Bünemann, E. K., Brussaard, L., Geisen, S., Mäder, P., Quist, C. W., Walser, J. C., & de Goede, R. G. M. (2019). Reduced tillage, but not organic matter input, increased nematode diversity and food web stability in European long-term field experiments. *Molecular Ecology*, 28(22), 4987–5005. <https://doi.org/10.1111/mec.15270>
- Boosalis, M., & Mankau, R. (1965). Parasitism and predation of soil microorganisms. In *Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens* (pp. 374–391). University of California Press.
- BOSTROËM, S. (1991). *Mesorhabditis minuta* n. sp. from Greece (Nematoda: Rhabditidae). *Revue de Nématologie*, 14(1), 119–122.
- Brentu, C. F., Speijer, P. R., Green, K. R., Hemeng, B. M. S., De Waele, D., & Coyne, D. L. (2004). Micro-plot evaluation of the yield reduction potential of *Pratylenchus coffeae*, *Helicotylenchus multicinctus* and *Meloidogyne javanica* on plantain cv. Apantu-pa (*Musa* spp., AAB-group) in Ghana. *Nematology*, 6(3), 455–462. <https://doi.org/10.1023/B:NEMT.0000046915.35372.0a>
- Carta, L. K., & Skantar, A. M. (2014). A *Trichodorus* (Triplonchida: Trichodoridae) nematode from thrips (Thysanoptera: Panchaetothripinae). *Journal of Nematology*, 46(3), 302–308.
- Chabrier, C., Tixier, P., Duyck, P. F., Cabidoche, Y. M., & Quénéhervé, P. (2010). Survival of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne without food: Why do males survive so long? *Applied Soil Ecology*, 45(2), 85–91.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.02.005>
- Chen, D., Zheng, S., Shan, Y., Taube, F., & Bai, Y. (2013). Vertebrate herbivore-induced changes in plants and soils: Linkages to ecosystem functioning in a

- semi-arid steppe. *Functional Ecology*, 27(1), 273–281.  
<https://doi.org/10.1111/1365-2435.12027>
- Cobb, N. A. (1917). The *Mononchus*: a genus of free living predatory nematodes. *Soil Science*, 3, 431–486.
- Coyne, D L, Nicol, J. M., & Claudius-Cole, B. (2014). *Practical plant nematology: A field and laboratory guide Integrated Pest Management* (2nd ed.).  
<http://biblio.iita.org/documents/U14BkCoynePracticalNothomDev.pdf-d663ec356760331c1acd9a16e3848f16.pdf>
- Coyne, Danny L., Omowumi, A., Rotifa, I., & Afolami, S. O. (2013). Pathogenicity and damage potential of five species of plant-parasitic nematodes on plantain (*Musa* spp., AAB genome) cv. Agbagba. *Nematology*, 15(5), 589–599.  
<https://doi.org/10.1163/15685411-00002704>
- Crop, A., Society, S., Waceke, J. W., & Sciences, M. (2007). Plant parasitic nematodes associated with cabbages in Kenya Results and Discussion. *8th African Crop Science Society Conference, El-Minia, Egypt, 27-31 October 2007*, 8, 1071–1074.
- De Goede, R. G. M., Bongers, T., & Ettema, C. H. (1993). Graphical presentation and interpretation of nematode community structure: c-p triangles. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 58(2b), 743–750.
- De Luca, F., Troccoli, A., Duncan, L. W., Subbotin, S. A., Waeyenberge, L., Coyne, D. L., Brentu, F. C., & Inserra, R. N. (2012). *Pratylenchus speijeri* n. sp. (Nematoda: Pratylenchidae), a new root-lesion nematode pest of plantain in West Africa. *Nematology*, 14(8), 987–1004.  
<https://doi.org/10.1163/156854112X638424>
- Desgarenes, D., Sanchez-Nava, P., Pena-Santiago, R., & Carrion, G. (2009). *Nematode fauna associated with the rhizosphere of potato crop (Solanum tuberosum) grown in the region of Cofre de Perote, Veracruz, Mexico*. *Revista Mexicana De Biodiversidad*.
- Dietrich, P., Roeder, A., Cesarz, S., Eisenhauer, N., Ebeling, A., Schmid, B., Schulze, E., Wagg, C., Weigelt, A., & Roscher, C. (2020). Nematode communities, plant nutrient economy and life-cycle characteristics jointly determine plant monoculture performance over 12 years. *Oikos*, 129(4), 466–479. <https://doi.org/10.1111/oik.06989>
- du Preez, G. C., Daneel, M. S., Wepener, V., & Fourie, H. (2018). Beneficial nematodes as bioindicators of ecosystem health in irrigated soils. *Applied Soil Ecology*, 132, 155–168. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.08.008>
- Elling, A. A. (2013). Major emerging problems with minor Meloidogyne species. *Phytopathology*, 103(11), 1092–1102. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-13->

0019-RVW

- Escobar, C. ; Fenoll, C. (2015). *ADVANCES IN Plant Nematode Interactions : A View on Compatible* (Vol. 7, Issues 1–6). [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(15\)00020-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(15)00020-8)
- Fallas, G., & Sarah, J. L. (1995). Effect of temperature on the in vitro multiplication of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. *Fundamental and Applied Nematology*, 18, 445-451.
- FAOSTAT. (2020). <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Ferris, H., Bongers, T., & de Goede, R. G. M. (2004). Nematode faunal analyses to assess food web enrichment and connectance. *Nematology Monographs and Perspectives*, 2(January), 503–510.
- Ferris, H., Sánchez-Moreno, S., & Brennan, E. B. (2012). Structure, functions and interguild relationships of the soil nematode assemblage in organic vegetable production. *Applied Soil Ecology*, 61, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.04.006>
- Ferris, H., & Van Gundy, S. D. (1979). Meloidogyne ecology and host interrelationships. In F. Lamberli & C. E. Taylor (Eds.), *Root-knot Nematodes (Meloidogyne species). Systematics, Biology and Control*. (pp. 205–230). Academic Press.
- Fosu-Nyarko, J., & Jones, M. G. K. (2015). Application of biotechnology for nematode control in crop plants. In *Advances in Botanical Research* (Vol. 73). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2014.12.012>
- Franco, A. L. C., Gherardi, L. A., de Tomasel, C. M., Andriuzzi, W. S., Ankrom, K. E., Ashley Shaw, E., Bach, E. M., Sala, O. E., & Wall, D. H. (2019). Drought suppresses soil predators and promotes root herbivores in mesic, but not in xeric grasslands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(26), 12883–12888. <https://doi.org/10.1073/pnas.1900572116>
- Fürst Von Lieven, A., & Sudhaus, W. (2000). Comparative and functional morphology of the buccal cavity of Diplogastrina (Nematoda) and a first outline of the phylogeny of this taxon. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 38(1), 37–63. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0469.2000.381125.x>
- Grewal, P. S., Ehlers, R. U., & Shapiro-Ilan, D. I. (2005). Nematodes as biocontrol agent. In *Nematodes as Biocontrol Agent*. <https://doi.org/10.21273/hortsci.46.2.333a>
- Gugino, B. K., Abawi, G. S., & Ludwig, J. W. (2006). Damage and management of Meloidogyne hapla using oxamyl on carrot in New York. *Journal of*

- Nematology*, 38(4), 483–490. /pmc/articles/PMC2586463/?report=abstract
- Hallmann, J., & Meressa, H. B. (2018). Nematode Parasites of Vegetables. In *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* (pp. 346–410).
- Hernandes, I., Brito, O. D. C., Cardoso, M. R., Ferreira, J. C. A., Puerari, H. H., & Dias-Arieira, C. R. (2017). Acibenzolar-S-methyl on *Meloidogyne javanica* control in lettuce. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 67(7), 660–664. <https://doi.org/10.1080/09064710.2017.1329453>
- Hu, N., Li, H., Tang, Z., Li, Z., Tian, J., Lou, Y., Li, J., Li, G., & Hu, X. (2016). Community diversity, structure and carbon footprint of nematode food web following reforestation on degraded Karst soil. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep28138>
- Insera, R. N., Stanley, J. D., Ochoa, A., Schubert, T. S., Subbotin, S. A., Crow, W. T., & Mcsorley, R. (2014). *Hemicriconemoides* Species as Crop Damaging Parasitic Nematodes in Florida 1. 223.
- Jaffuel, G., Mäder, P., Blanco-Perez, R., Chiriboga, X., Fliessbach, A., Turlings, T. C. J., & Campos-Herrera, R. (2016). Prevalence and activity of entomopathogenic nematodes and their antagonists in soils that are subject to different agricultural practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 230, 329–340. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.06.009>
- Jairajpuri, M. S., & Bilgrami, A. L. (1990). Predatory nematodes. In *Nematodo Bio-Control: Aspects and Prospects* (I, pp. 95–125). CBS Publishers.
- Jana, T., Chatterjee, A., & Manna, B. (2008). Two new and a known species of the genus *Miconchus* Andrassy, 1958 (Nematoda: Anatonchidae) from West Bengal, India. *Opuscula Zoologica Instituti Zoosystematici et Oecologici Universitatis Budapestinensis*, 39(1), 77–90.
- Jaramillo, D. F. J. (2014). *El suelo : origen, propiedades, espacialidad*. Universidad Nacional de Colombia.
- Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G. J., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G. K., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J. E., Wesemael, W. M. L., & Perry, R. N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 14, Issue 9, pp. 946–961). <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>
- Kanzaki, N., Ekino, T., & Masuya, H. (2019). *Seinura caverna* n. Sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae), an androdioecious species isolated from bat guano in a calcareous cave. *Nematology*, 21(2), 207–225. <https://doi.org/10.1163/15685411-00003207>
- Kergunteuil, A., Campos-herrera, R., Sánchez-moreno, S., Vittoz, P., & Ali, J. G. (2016). *The Abundance , Diversity , and Metabolic Footprint of Soil Nematodes*

- Is Highest in High Elevation Alpine Grasslands*. 4(July), 1–12.  
<https://doi.org/10.3389/fevo.2016.00084>
- Keshari, A. K., Shah, M. M., & Gupta, R. (2018). First report on four species of predatory nematodes, mononchids (Nematoda : Mononchida) from Nepal. *Journal of Applied and Advanced Research*, 3(5), 139.  
<https://doi.org/10.21839/jaar.2018.v3i5.223>
- Khan, Z., & Kim, Y. H. (2005). The predatory nematode, *Mononchoides fortidens* (Nematoda: Diplogasterida), suppresses the root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*, in potted field soil. *Biological Control*, 35(1), 78–82.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.05.015>
- Khan, Zakaullah, & Kim, Y. H. (2007a). A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, 35(2), 370–379. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.07.007>
- Khan, Zakaullah, & Kim, Y. H. (2007b). A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, 35(2), 370–379. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.07.007>
- Kim, D., Chun, J. Y., & Lee, K. Y. (2016). Morphometric and molecular characterization of populations of *Pratylenchus kumamotoensis* and *P. pseudocoffeae* (Nematoda, Pratylenchidae) newly recorded in Korea. *ZooKeys*, 2016(600), 1–5. <https://doi.org/10.3897/zookeys.600.8508>
- Kolombia, Y. A., Karsen, G., Viaene, N., Kumar, P. L., Joos, L., Coyne, D. L., & Bert, W. (2017). Morphological and molecular characterisation of *Scutellonema* species from yam (*Dioscorea* spp.) and a key to the species of the genus. In *Nematology* (Vol. 19, Issue 7). <https://doi.org/10.1163/15685411-00003084>
- Krebs, C. J. (1999). *ECOLOGICAL METHODOLOGY* (Second). Addison Wesley Longman.
- Lande, R. (1996). Statistics and Partitioning of Species Diversity, and Similarity among Multiple Communities. *Oikos*, 76(1), 5. <https://doi.org/10.2307/3545743>
- Landesman, W. J., Treonis, A. M., & Dighton, J. (2011). Effects of a one-year rainfall manipulation on soil nematode abundances and community composition. *Pedobiologia*, 54(2), 87–91. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2010.10.002>
- Leduc, D., & Zhao, Z. Q. (2017). Molecular and morphological characterisation of *Sphaerolaimus haurakiensis* n. sp. (Nematoda, Sphaerolaimidae) from the New Zealand continental shelf. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 51(4), 577–590. <https://doi.org/10.1080/00288330.2017.1298633>
- Li, J., Wang, D., Fan, W., He, R., Yao, Y., Sun, L., Zhao, X., & Wu, J. (2018). Comparative effects of different organic materials on nematode community in continuous soybean monoculture soil. *Applied Soil Ecology*, 125, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.07.007>

doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.12.013

- Loos, C. A. (1962). Studies on the life-history and habits of the burrowing nematode *Radopholus similis* the cause of black-head disease of banana. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 29, 43–52.
- Lupatini, M., Korthals, G. W., de Hollander, M., Janssens, T. K. S., & Kuramae, E. E. (2017). Soil microbiome is more heterogeneous in organic than in conventional farming system. *Frontiers in Microbiology*, 7(JAN).  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02064>
- Mahato, R. (1997). *Hemicycliophora biosphaera*. 29(3), 329–335.
- McCain, C. M., & Grytnes, J.-A. (2010). Elevational Gradients in Species Richness. In *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd.  
<https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0022548>
- McSorley, R., & Parrado, J. L. (1986). *Helicotylenchus multicinctus* on bananas, an international problem. *Nematropica*, 16, 73–91.
- Mitiku, M. (2018). Plant-Parasitic Nematodes and their Management: A Review. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*, 16(2).  
<https://doi.org/10.19080/artoaj.2018.16.55580>
- Mumladze, L., Murvanidze, M., Maraun, M., & Salakaia, M. (2015). Oribatid mite communities along an elevational gradient in Sairme gorge (Caucasus). *Experimental and Applied Acarology*, 66(1), 41–51.  
<https://doi.org/10.1007/s10493-015-9893-4>
- NCBI. (n.d.). *Taxonomy browser (Diplogasteridae)*. Retrieved July 10, 2020, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=50861&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
- Nemaplex*. (n.d.-a). Retrieved July 29, 2019, from <http://nemaplex.ucdavis.edu/>
- Nemaplex*. (n.d.-b). Retrieved October 12, 2020, from <http://nemaplex.ucdavis.edu/>
- Niu, X., Zhai, P., Zhang, W., & Gu, Y. (2019). Effects of Earthworms and Agricultural Plant Species on the Soil Nematode Community in a Microcosm Experiment. *Scientific Reports*, 9(1), 11660. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48230-0>
- Nusrat, T., Anjum, A., & Ahmad, W. (2013). Mononchida (nematoda) from silent valley national park, India. *Zootaxa*, 3635(3), 224–236. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3635.3.2>
- Odontopharynx, P., & Man, I. De. (1989). *Taxonomy and Postembryonic Stages of the Nematode*. 21(2), 189–201.
- Parvatha, R. P. (2008). *Integrated Nematode Management in Horticultural Crops*.



Scientific Publishers (India).

- Parvatha, R. P. (2013). *Diseases of Horticultural Crops: Nematode Problems and their Management*. Scientific Publishers (India).
- Pedroche, N. B., Villaneuva, L. M., & De Waele, D. (2013). Plant-parasitic nematodes associated with semi-temperate vegetables in the highlands of Benguet Province, Philippines. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46(3), 278–294. <https://doi.org/10.1080/03235408.2012.739928>
- Pethybridge, S. J., Gorny, A., Hoogland, T., Jones, L., Hay, F., Smart, C., & Abawi, G. (2016). Identification and characterization of *Ditylenchus* spp. populations from garlic in New York State, USA. *Tropical Plant Pathology*, 41(3), 193–197. <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0083-7>
- Phani, V., Bishnoi, S., Sharma, A., Davies, K. G., & Rao, U. (2018). Characterization of *Meloidogyne indica* (Nematoda: Meloidogynidae) Parasitizing Neem in India, with a Molecular Phylogeny of the Species. *Journal of Nematology*, 50(3), 387–398. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2018-015>
- Pinochet, J., Fernandez, C., & Sarah, J. L. (1995). Influence of temperature on in vitro reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi*, and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology*, 18, 391–392.
- Porazinska, D. L., Giblin-Davis, R. M., Faller, L., Farmerie, W., Kanzaki, N., Morris, K., Powers, T. O., Tucker, A. E., Sung, W., & Thomas, W. K. (2009). Evaluating high-throughput sequencing as a method for metagenomic analysis of nematode diversity. *Molecular Ecology Resources*, 9(6), 1439–1450. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02611.x>
- Prasad, S. K., & Webster, J. M. (1967). Effect of temperature on the rate of development of *Nacobbus serendipiticus* in excised tomato roots. *Nematologica*, 13, 85–90.
- Quénéhervé, P. (1993). Banana phenology in relation to phytophagous nematodes. In *Biological and Integrated Control of Highland Banana and Plantain Pests and Diseases* (In: Gold, pp. 218–230).
- Salas, A., & Achinelly, M. F. (2020). Community Structure of Soil Nematodes Associated with the Rhizosphere of *Solanum Lycopersicum* in a Major Production Area in Argentina: a Case Study Among Agroecosystem Types. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(1), 43–54. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00099-8>
- Sánchez-Moreno, S., & Ferris, H. (2007). Suppressive service of the soil food web: Effects of environmental management. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 119(1–2), 75–87. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.06.012>
- Sapkota, R., & Nicolaisen, M. (2015). High-throughput sequencing of nematode

- communities from total soil DNA extractions. *BMC Ecology*, 15(1).  
<https://doi.org/10.1186/s12898-014-0034-4>
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database : The Journal of Biological Databases and Curation*, 2020.  
<https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
- Shen, X. L., Wang, L. L., Wang, Y., Wang, M. L., Yang, D. L., Zhao, J. N., Li, G., Xuan, Q. X., & Wang, L. (2020). Progress on the effects of conservation tillage on soil aggregates, microbes, and nematode communities. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 37(3), 361–370.  
<https://doi.org/10.13254/j.jare.2019.0496>
- Shokoohi, E., Mehrabi-Nasab, A., Mirzaei, M., & Peneva, V. (2013). Study of mononchids from Iran, with description of *Mylonchulus kermaniensis* sp. n. (Nematoda: Mononchida). *Zootaxa*, 3599(6), 519–534. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3599.6.2>
- Sidhu, H. S., & Kanwar, R. S. (2020). Effect of prey density of meloidogyne incognita on the predation efficiency of the predator, ficator composticola (nematoda: diplogasteridae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1).  
<https://doi.org/10.1186/s41938-020-00274-5>
- Sikora, R. A. (2018). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. In *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*.  
<https://doi.org/10.1079/9781786391247.0000>
- Sikora, R. A., Coyne, D. L., & Quénéhervé, P. (2018). Nematode Parasites of Bananas and Plantains. In *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* (pp. 617–657). 978-1-78639-125-4.
- Sivakumar, C. V., & Seshadri, A. R. (1972). Histopathology of infection by the reniform nematode *Rotylenchus reniformis* Linford and Oliveira, 1940 on castor, papaya and tomato. *Indian Journal of Nematology*, 173–181.
- Sivasubramaniam, N., Hariharan, G., & Zakeel, M. C. M. (2020). Sustainable management of plant-parasitic nematodes: An overview from conventional practices to modern techniques. In *Management of Phytonematodes: Recent Advances and Future Challenges* (pp. 353–399). Springer Singapore.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-15-4087-5\\_16](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4087-5_16)
- Sommer, R. J., Hunt, D. J., & Perry, R. N. (2015). PRISTIONCHUS PACIFICUS-A NEMATODE MODEL FOR COMPARATIVE AND EVOLUTIONARY BIOLOGY. In *NEMATOLOGY MONOGRAPHS AND PERSPECTIVES* (Vol. 11).

- Srivastava, D.S. Sehgal, M. Kumar, A. Verma, S. Dwivedi, B. K., & Singh, S. P. (2012). Plant-parasitic nematodes associated with tomato and okra fields of Allahabad, Uttar Pradesh, India. *Pakistan Journal of Nematology (Pakistan)*. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PK2013000483>
- Steel, H., & Ferris, H. (2016). Soil nematode assemblages indicate the potential for biological regulation of pest species. *Acta Oecologica*, 73, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2016.03.004>
- Stirling, G. R. (2014). Nematodes, Mites and Collembola as Predators of Nematodes, and the role of Generalist Predators. In G. R. Stirling (Ed.), *Biological Control of Plant-parasitic Nematodes: Soil Ecosystem Management in Sustainable Agriculture* (2nd ed., pp. 157–188). CAB International.
- Tahseen, Q., & Rajan, P. (2009). Description of *Mononchus intermedius* sp. n. (Mononchidae: Nematoda). In *Nematologia Mediterranea*. <https://journals.flvc.org/nemamedi/article/view/86998>
- Tahseen, Qudsia, Ahlawat, S., Asif, M., & Mustaqim, M. (2016). Description of a new species of *Acrostichus* Rahm 1928 (Nematoda: Diplogastridae) from India with a note on its position and relationship with the congeners. *Biodiversity Data Journal*, 4, e8029-24. <https://doi.org/10.3897/bdj.4.e8029>
- Tahseen, Qudsia, Asif, M., Mustaqim, M., Ahlawat, S., & Bert, W. (2013). Descriptions of ten known species of the superfamily mononchoidea (Mononchida: Nematoda) from north India with a detailed account on their variations. *Zootaxa*, 3646(4), 301–335. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3646.4.1>
- Tahseen, Qudsia, Jairajpuri, M. S., & Ahmad, I. (1990). The life cycle of *Mononchoides fortidens* with emphasis on gonad development. *Nematologica*, 36, 440–447.
- Thorne, G. (1927). The life history, habits and economic importance of some mononchs. *Journal of Agricultural Research*, 34, 265–286.
- Todd, T. C., Blair, J. M., & Milliken, G. A. (1999). Effects of altered soil-water availability on a tallgrass prairie nematode community. *Applied Soil Ecology*, 13(1), 45–55. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(99\)00022-0](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(99)00022-0)
- Traunspurger, W., Reiff, N., Krashevskaya, V., Majdi, N., & Scheu, S. (2017). Diversity and distribution of soil micro-invertebrates across an altitudinal gradient in a tropical montane rainforest of Ecuador, with focus on free-living nematodes. *Pedobiologia*, 62, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2017.04.003>
- Treonis, A. M., Unangst, S. K., Kepler, R. M., Buyer, J. S., Cavigelli, M. A., Mirsky, S. B., & Maul, J. E. (2018). Characterization of soil nematode communities in

- three cropping systems through morphological and DNA metabarcoding approaches. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20366-5>
- Van Den Bergh, I., Nguyet, D. T. M., Tuyet, N. T., Nhi, H. H., & De Waele, D. (2006). Influence of *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne* spp. on plant growth and yield of banana (*Musa* spp.) in Vietnam. *Nematology*, 8(2), 265–271. <https://doi.org/10.1163/15685410677998683>
- van Wyk, J. A., & Mayhew, E. (2013). Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 80(1). <https://doi.org/10.4102/ojvr.v80i1.539>
- Varela Benavides, I. (2018). Abundance, diversity and metabolic footprint of nematode communities in different life zones in the Region Huetar Norte from Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 66(4), 1709–1720. <https://doi.org/10.15517/rbt.v66i4.33219>
- Vittoz, P., Camenisch, M., Mayor, R., Miserere, L., Vust, M., & Theurillat, J. P. (2010). Gradient subalpin-nival de la richesse spécifique des plantes vasculaires, bryophytes et lichens dans les Alpes internes en Suisse. *Botanica Helvetica*, 120(2), 139–149. <https://doi.org/10.1007/s00035-010-0079-8>
- Vovlas, N. (1992). Taxonomy of *Discocriconemella* (Nematoda: Criconematoidea) with a Redescription of *D. mauritiensis*. *Journal of Nematology*, 24(3), 391–398.
- Wardle, D. A., & Yeates, G. W. (1993). The dual importance of competition and predation as regulatory forces in terrestrial ecosystems: evidence from decomposer food-webs. *Oecologia*, 93(2), 303–306. <https://doi.org/10.1007/BF00317685>
- WHITEHEAD, A. G., & HEMMING, J. R. (1965). A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology*, 55(1), 25–38. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1965.tb07864.x>
- Zhang, Z. Q. (2013). Animal biodiversity: An update of classification and diversity in 2013. *Zootaxa*, 3703(1), 5–11. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3703.1.3>
- Zhao, J., & Neher, D. A. (2014). Soil energy pathways of different ecosystems using nematode trophic group analysis: A meta analysis. *Nematology*, 16(4), 379–385. <https://doi.org/10.1163/15685411-00002771>
- Zheng, F., Zhu, D., Giles, M., Daniell, T., Neilson, R., Zhu, Y. G., & Yang, X. R. (2019). Mineral and organic fertilization alters the microbiome of a soil nematode *Dorylaimus stagnalis* and its resistome. *Science of the Total Environment*, 680, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.384>

# ANEXO

**Anexo 1.** Cuestionario para entrevistas a propietarios/encargados de cultivos.



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL  
ESPOL



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA  
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN BIOCENCIAS APLICADAS

Estudio de la diversidad de poblaciones de nematodos predadores, existentes en la fauna microbiana de suelos tropicales y subtemplados del Ecuador

**1.- Información requerida**

Nombre del colector:													
Nombre del identificador:													
Fecha					Lugar (latitud/longitud):								
Altura:					Profundidad de suelo:								
Código muestra:	L	L	L	L	N	N	Código foto:	L	L	L	L	N	N
Temperatura:					Humedad:			pH:					
Textura de suelo:					Clima:								
Calidad de agua (fuente)													
Notas del hábitat:													
Referencia: (Trivedi, y otros, 2016)													

**2.- Características generales:**

Nombre de la finca:						
Nombres y apellidos del propietario:						
Edad:		Género:		Preparación		

¿Cuál es su nacionalidad?	¿Cuántas personas comparten la propiedad?	En la semana de referencia, ¿ha estado viviendo en ese domicilio la mayor parte de los días?	¿Lleva al menos 3 meses en la vivienda / fuera de la vivienda?	Desde el inicio del trimestre de encuesta, ¿ha vivido en otra vivienda?





2. Actividad económica:

Tipo de cultivo:	
¿A quién vende la producción?	

3. Años de cultivo del lote

Cultivo/variedad	Edad promedio de la plantación	área(ha)

4. Manejo de la fertilidad del suelo

Indicador	Sí (FUAAM)*	No	Fórmula	Ciclos/año	Kg/ha/año
Fertilizantes					
Fertilizantes foliares					
Abono orgánico (tipo)					
Otros					

\*Fecha de la última aplicación antes del muestreo

5. Problemas de nemátodos

Si	No	¿En toda la finca?	¿Por sectores? ( <u>Donde?</u> )





6. Manejo fitosanitario

Indicador	Sí (FUAAM)*	No	Cuál?	Ciclos/año	Kg/ha/año
Nematicidas					
Insecticidas					
Plaguicidas orgánicos					
Prácticas culturales de manejo de enfermedades					
Prácticas culturales de manejo de nemátodos					
Poda de árboles o manejo de sombra					





**Anexo 2.** Sitios de muestreo: Zona tropical, A cultivos de banano, B toma de muestras de suelo. Zona Subtemplada, C cultivos de lechuga, D ajo, E col, F zanahoria.



**Anexo 3.** Manejo de muestras y método de extracción de nemátodos. Bandejas de Whitehead modificado (Whitehead & Hemming, 1965).

a. Muestras etiquetadas





- b. Elementos del tamiz, tubería de PVC con alambre como soporte, malla plástica, bandeja plástica y papel filtro de café.



- c. Bandejas de extracción con muestras de suelo



d. Recolección de muestras en tubos.



#### Anexo 4. Aislamiento e identificación de nemátodos





**Anexo 5.** Panorama general de la diversidad de géneros de nemátodos obtenidos en suelos con cultivos de hortalizas y musáceas; (A) Axonchium, (B) Rhabditis, (C) Radophulus, (D) Iotonchus, (E) Dorylaimus, (F) Pratylenchus, (G) Heterodera, (H) Discocriconemella, (I) Helicotylenchus, (J) Radophulus, (K) Mylonchus, (L) Sectonema, (M) Seinura.



**Anexo 6.** Proceso molecular en el laboratorio de maestrías VLIR NETWORK ECUADOR.

a. Separación de sobrenadante y obtención de pellet



b. Kit de purificación PureLink® Genomic



c. Primers utilizados para la amplificación de amplicones.



e. Extracción de ADN





f. Muestras para secuenciación



**Anexo 7.** Tabla de valores de c-p para familias de nemátodos terrestres y acuáticos: 1 = colonizador, 5 = persistente (ver texto en Metodología). Fuente: modificado de Bongers 1990.

Achromadoridae	3	Diphtherophoridae	3	Nordiidae	4
Actinolaimidae	5	Diplogasteridae	1	Nygolaimidae	5
Alaimidae	4	Diplogasteroididae	1	Odontolaimidae	3
Alloionematidae	1	Diplopeltidae	3	Odontopharyngida	1
Anatonchidae	4	Diploscapteridae	1	Onchulidae	3
Anguinidae	2	Discolaimidae	5	Ostellidae	2
Aphelenchidae	2	Dorylaimidae	4	Panagrolaimidae	1
Aphelenchoididae	2	Ethmolaimidae	3	Plectidae	2
Aporcelaimidae	5	Halaphanolaimidae	3	Prismatolaimidae	3
Aulolaimidae	3	Hypodontolaimidae	3	Qudsianematidae	4
Bastianiidae	3	Ironidae	4	Rhabditidae	1
Bathyodontidae	4	Leptolaimidae	3	Rhabdolaimidae	3
Belonidiridae	5	Leptonchidae	4	Teratocephalidae	3
Bunonematidae	1	Linhomoeidae	3	Thornenematidae	5
Cephalobidae	2	Microlaimidae	3	Tobritidae	3
Choanolaimidae	4	Monhysteridae	1	Tripylidae	3
Chromadoridae	3	Mononchidae	4	Tylopharyngidae	1
Chrysonematidae	5	Myolaimidae	2	Xyalidae	2
Cyatholaimidae	3	Neodiplogasteridae	1		
Desmodoridae	3	Neotylenchidae	2		



**Anexo 8.** Tabla con el número de larvas y concentración de ADN para secuenciación, según los nemátodos encontrados en los carriles de electroforesis.

Géneros	Nº larvas	Carril	Concentracion ADN (ng/µl)
<i>Pratylenchus</i>	10	5	369.8
<i>Dorylaimus</i>	5	8	370.4
<i>Hemicycliophora</i>	2	9	410.3
<i>Meloidogyne</i>	1	10	424.7
<i>Hemicycliophora</i>	2	11	401.8
<i>Meloidogyne</i>	1	12	359.4
<i>Dorylaimus</i>	1	13	356.3
<i>Mononchus</i>	11	15	401.8
<i>Heterodera</i>	9	16	384.3
<i>Pratylenchus</i>	7	17	386.1
<i>Radopholus</i>	14	18	385.5
<i>Discocriconemella</i>	1	19	320.8
<i>Seinura</i>	4	20	399.8
<i>Neodiplogaster</i>	3	21	391.3
<i>Pristionchus</i>	3	22	379.3
<i>Brittonema</i>	1	23	398.5
<i>Iotonchus</i>	1	24	387.5
<i>Helycotylenchus</i>	18	25	430.8
<i>Meloidogyne</i>	26	26	377.6
Por identificar	4	27	350.5
<i>Mesorhabdittis</i>	5	28	386.4
<i>Rhabditti</i>	4	29	369.5
<i>Dorylaimus</i>	30	30	367.2
<i>Mylonchulus</i>	3	31	371.4
<i>Trichodorus</i>	10	33	363.8
<i>Paractinolaimus</i>	1	34	402.6
Por identificar	1	35	362.8
<i>Axonchium</i>	5	36	361.3
Por identificar	1	37	372
Por identificar	1	38	388.5
<i>Odontopharynx</i>	2	39	397.9
<i>Mesorhabdittis</i>	3	40	395.1
<i>Diplogaster</i>	2	41	356.1
<i>Mononchus</i>	2	42	440.8
<i>Monhystera</i>	1	43	460.5
<i>Discolaimiun</i>	20	44	396.6
<i>Sectonema</i>	10	45	360.4
<i>Seinura</i>	15	46	380.1
		BLANCO	0