

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMIA

**Comportamiento de seis especies vegetales cultivadas en macetas con
suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev.**

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de
Licenciado en Agronomía

DANIEL ALBERTO ZÚÑIGA ARAYA
VALDIVIA - CHILE

2005

Profesor patrocinante

Laura Böhm Stoffel

Ing. Agr.

Facultad de Ciencias Agrarias

Profesores informantes:

Luigi Ciampi Panno

Ing. Agr. Ms. Sc. PhD.

Facultad de Ciencias Agrarias

Peter Seemann Farenkrog

Ing. Agr. Dr. rer. hort

Facultad de Ciencias Agrarias

AGRADECIMIENTOS

- A mi querida profesora Laura por su incansable apoyo, paciencia y consejo que hicieron que mi paso por la Universidad fuera exitoso.
- A mis padres por creer siempre en mí y apoyarme en todas las situaciones difíciles que tuve en mis años en la Universidad.
- A mi polola Daniela por su amor que es imprescindible a la hora de hacer y terminar bien las cosas.

A todos mis buenos amigos que me acompañaron todos estos años.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Nemátodos fitoparásitos	3
2.2	Género <i>Ditylenchus</i>	4
2.3	<i>Ditylenchus dipsaci</i> (Kühn) Filipjev.	4
2.3.1	Aspectos generales	5
2.3.2	Descripción morfológica	5
2.3.3	Descripción taxonómica	6
2.3.4	Ciclo biológico	8
2.3.5	Distribución y dispersión del nemátodo	9
2.3.6	Hospederos	10
2.3.7	Importancia económica	11
2.3.8	Síntomas y daños en cultivos	12
2.3.9	Control	13
2.4	Métodos de extracción e identificación de <i>D. dipsaci</i>	14
3	MATERIAL Y METODO	15
3.1	Materiales	15
3.1.1	Material vegetal	15
3.1.1.1	Ajo	15
3.1.1.2	Chalota	16
3.1.1.3	Trigo	16
3.1.1.4	Ballica	16
3.1.1.5	Perejíl	16

Capítulo		Página
3.1.1.6	Repollo	16
3.1.2	Suelo	17
3.1.3	Equipos	17
3.1.4	Material de laboratorio	17
3.2	Método	18
3.2.1	Ubicación del ensayo	19
3.2.2	Duración y condiciones del ensayo	19
3.2.3	Recolección y preparación del suelo	19
3.2.4	Análisis nematológico inicial del suelo	21
3.2.5	Análisis nematológico de las semillas	22
3.2.6	Pruebas de germinación.	22
3.2.7	Desinfección de las macetas	22
3.2.8	Desinfección de semillas y bulbos	22
3.2.9	Siembra y plantación	23
3.2.10	Condiciones de cultivo	23
3.2.11	Evaluaciones	23
3.2.12	Diseño experimental y análisis estadístico	24
3.3	Segundo ensayo (inoculación directa de especies vegetales)	24
3.3.1	Duración y condiciones del ensayo	24
3.3.2	Recolección y preparación del suelo	24
3.3.3	Análisis nematológico de las semillas	25
3.3.4	Siembra y plantación	25
3.3.5	Condiciones de cultivo	25
3.3.6	Obtención del inóculo de <i>D. dipsaci</i>	26
3.3.7	Inoculación	26
3.3.8	Observaciones y evaluaciones	27
3.3.9	Tratamiento de los datos	28

Capítulo		Página
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	29
4.1	Respuesta a <i>D. dipsaci</i> de seis especies vegetales cultivada en un suelo infestado	29
4.1.1	Emergencia de plantas	29
4.1.1.1	Ballica	30
4.1.1.2	Perejil	31
4.1.1.3	Repollo	32
4.1.1.4	Trigo	32
4.1.1.5	Ajo	33
4.1.1.6	Chalota	34
4.1.2	Altura de plantas	36
4.1.3	Peso fresco de plantas	42
4.1.4	Presencia de <i>D. dipsaci</i> en plantas	45
4.2	Evaluación de la susceptibilidad de las especies por medio de la inoculación directa de <i>D. dipsaci</i>	51
4.2.1	Respuesta a la inoculación directa de las plantas	52
4.2.2	Presencia del nemátodo en las plantas inoculadas	61
5	CONCLUSIONES	62
6	RESUMEN	64
	SUMMARY	66
7	BIBLIOGRAFIA	68
	ANEXOS	76

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Efecto de la presencia de <i>Ditylenchus dipsaci</i> en el sustrato sobre el porcentaje de plantas emergidas (30 días desde siembra)	36
2	Distribución porcentual de individuos de <i>Ditylenchus dipsaci</i> presentes por sección de tejido vegetal en plantas, a los 30 días desde siembra	47
3	Distribución porcentual de individuos de <i>Ditylenchus dipsaci</i> presentes por sección de tejido vegetal en plantas, a los 60 días desde siembra	48
4	Distribución porcentual de individuos de <i>Ditylenchus dipsaci</i> presentes por sección de tejido vegetal en plantas, a los 90 días desde siembra	50
5	Síntomas de ataque en tallo de ajo por <i>Ditylenchus dipsaci</i> (Necrosis de hojas basales)	51
6	Síntoma de deformación y decoloración en hojas de ajo	53
7	Desarrollo de plantas de chalota inoculadas directamente con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	55
8	Desarrollo de plantas de ballica inoculadas directamente con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	56
9	Desarrollo de plantas de repollo inoculadas directamente con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	58
10	Desarrollo de plantas de perejil inoculadas directamente con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	59

Figura		Página
11	Desarrollo de plantas de trigo inoculadas directamente con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	60
12	Presencia porcentual de síntomas en hojas de plantas inoculadas directamente	61

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Tratamientos del ensayo	18
2	Análisis químico del suelo utilizado en el ensayo	20
3	Análisis nematológico del suelo utilizado en el ensayo	21
4	Densidad de plantación y siembra de especies vegetales	23
5	Densidad de siembra y plantación para de especies en segundo ensayo	25
6	Escala de síntomas en plantas inoculadas	27
7	Emergencia promedio (%) de semillas y bulbos establecidos en suelo estéril e infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	29
8	Emergencia (%) de semillas de ballica establecidas en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	30
9	Emergencia (%) de semillas de perejíl establecidas en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	32
10	Emergencia (%) de semillas de repollo establecidas en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	32
11	Emergencia (%) de semillas de trigo establecidas en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	33
12	Emergencia porcentual de bulbos de ajo, establecidos en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	33
13	Emergencia porcentual de bulbos de chalota, establecidos en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	34
14	Efecto de la infestación de <i>Ditylenchus dipsaci</i> en la altura promedio de plantas de semilla y bulbos	37
15	Altura final (cm) de plantas de ballica	39

Cuadro		Página
16	Altura final (cm) de plantas de perejíl	39
17	Altura final (cm) de plantas de repollo	40
18	Altura final (cm) de plantas de trigo	40
19	Altura final (cm) de plantas de ajo	41
20	Altura final (cm) de plantas de chalota	42
21	Peso promedio de plantas provenientes de semilla, en suelo estéril y en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	42
22	Peso fresco (g) de plantas de ballica cultivadas en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	43
23	Peso fresco (g) de plantas de perejíl cultivadas en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	44
24	Peso fresco (g) de plantas de repollo cultivadas en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	45
25	Peso fresco (g) de plantas de trigo cultivadas en suelo infestado con <i>Ditylenchus dipsaci</i>	45
26	Número promedio de individuos de <i>Ditylenchus dipsaci</i> recuperados de plantas	46
27	Efecto de la inoculación directa de <i>Ditylenchus dipsaci</i> en plantas de ajo	52
28	Efecto de la inoculación directa de <i>Ditylenchus dipsaci</i> en plantas de chalota	54
29	Efecto de la inoculación directa de <i>Ditylenchus dipsaci</i> en plantas de ballica	55
30	Efecto de la inoculación directa de <i>Ditylenchus dipsaci</i> en plantas de repollo	57
31	Efecto de la inoculación directa de <i>Ditylenchus dipsaci</i> en plantas de perejíl	59

Cuadro		Página
32	Efecto de la inoculación directa de <i>Ditylenchus dipsaci</i> en plantas de trigo	60

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Análisis de varianza altura de plantas bajo suelo estéril y bajo suelo infestado con <i>D. dipsaci</i>	77
2	Análisis de varianza emergencia de plantas bajo suelo estéril y bajo suelo infestado con <i>D. dipsaci</i>	77
3	Análisis de varianza peso fresco entero de plantas bajo suelo estéril y bajo suelo infestado con <i>D. dipsaci</i>	77
4	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de trigo 6 días desde siembra.	78
5	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de trigo 15 días desde siembra.	78
6	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de trigo 30 días desde siembra.	78
7	Análisis de varianza de la altura de plantas de trigo 10 días desde siembra.	78
8	Análisis de varianza de la altura de plantas de trigo 25 días desde siembra.	79
9	Análisis de varianza de la altura de plantas de trigo 60 días desde siembra.	79
10	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de trigo 30 días desde siembra.	79
11	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de trigo 60 días desde siembra.	79
12	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de trigo 90 días desde siembra.	80

Anexo		Página
13	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de ballica 6 días desde siembra.	80
14	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de ballica 15 días desde siembra.	80
15	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de ballica 30 días desde siembra.	80
16	Análisis de varianza de la altura de plantas de ballica 10 días desde siembra.	81
17	Análisis de varianza de la altura de plantas de ballica 25 días desde siembra.	81
18	Análisis de varianza de la altura de plantas de ballica 60 días desde siembra.	81
19	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de ballica 30 días desde siembra.	81
20	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de ballica 60 días desde siembra.	82
21	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de ballica 90 días desde siembra.	82
22	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de perejíl 6 días desde siembra.	82
23	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de perejíl 15 días desde siembra.	82
24	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de perejíl 30 días desde siembra.	83
25	Análisis de varianza de la altura de plantas de perejíl 10 días desde siembra.	83
26	Análisis de varianza de la altura de plantas de perejíl 25 días desde siembra.	83

Anexo		Página
27	Análisis de varianza de la altura de plantas de perejil 60 días desde siembra.	83
28	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de perejil 30 días desde siembra.	84
29	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de perejil 60 días desde siembra.	84
30	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de perejil 90 días desde siembra.	84
31	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de repollo 6 días desde siembra.	84
32	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de repollo 15 días desde siembra.	85
33	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de repollo 30 días desde siembra.	85
34	Análisis de varianza de la altura de plantas de repollo 10 días desde siembra.	85
35	Análisis de varianza de la altura de plantas de repollo 25 días desde siembra	85
36	Análisis de varianza de la altura de plantas de repollo 60 días desde siembra.	86
37	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de repollo 30 días desde siembra	86
38	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de repollo 60 días desde siembra	86
39	Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de repollo 90 días desde siembra	86
40	Análisis de varianza de la altura de plantas de ajo 90 días desde plantación	87

Anexo		Página
41	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de ajo 30 días desde plantación	87
42	Análisis de varianza de la altura de plantas de chalota 10 días desde plantación	87
43	Análisis de varianza de la altura de plantas de chalota 25 días desde plantación	87
44	Análisis de varianza de la altura de plantas de chalota 60 días desde plantación	88
45	Análisis de varianza de la emergencia de plantas de chalota 30 días desde plantación	88

1 INTRODUCCION

Las enfermedades causadas por nemátodos han incrementado su importancia económica en el país. Entre los géneros causantes de problemas y que afectan a los cultivos en Chile, se encuentra *Ditylenchus*, específicamente *D. dipsaci* (Kühn) Filipjev. Es una de las especies más polífagas del género, y es también conocido como "nemátodo del bulbo y del tallo".

Este nemátodo es un endoparásito migratorio que afecta un amplio rango de plantas de importancia económica. Entre sus hospederos encontramos especies hortícolas tales como zanahorias, ajo, acelga y chalota. Asimismo, afecta a plantas ornamentales y de cultivo, principalmente cereales y forrajeras como las ballicas, alfalfa y tréboles.

Cabe destacar además, la amplia distribución geográfica mundial de este parásito, que habita las zonas de clima templado de Africa, Europa, Australia, Asia y la totalidad del continente americano.

La infección por *D. dipsaci* ocurre principalmente en primavera cuando los nemátodos se reactivan en el suelo bajo condiciones de alta humedad o lluvias recientes. Una vez establecido un cultivo susceptible en un suelo infestado, éste nemátodo penetra a la planta en desarrollo, alcanzando los tallos y hojas basales; durante su alimentación, inyecta su saliva que contiene enzimas, provocando distorsiones en los tejidos.

Los métodos de control recomendados para *D. dipsaci* son entre otros, utilizar semillas o estructuras vegetativas certificadas o provenientes de predios libres de la enfermedad, rotación de cultivos con especies resistentes, destrucción de plantas enfermas y aplicación de productos nematicidas.

Considerando que en la zona sur de Chile se ha incrementado la incidencia del nemátodo, especialmente en el cultivo de ajo, aún cuando se ha utilizado semilla desinfectada, se plantea como hipótesis de que alguna de las seis especies vegetales anteriormente señaladas no sería hospedera del nemátodo, lo cuál permitiría realizar rotaciones de cultivo en suelos que se encuentran infestados con el nemátodo.

Por ello, es que el presente trabajo, pretende alcanzar los siguientes objetivos.

Objetivo general.

Conocer la respuesta a *D. dipsaci* de diferentes especies vegetales cultivadas en un suelo naturalmente infestado con el nemátodo.

Objetivos específicos.

- Determinar la susceptibilidad a *D. dipsaci* que presentan ajo blandino (*Allium ampeloprasum* L.), ballica (*Lolium perenne* L.), chalota (*Allium cepa* var. *ascalonicum* L.), perejil (*Petroselinum hortense* L.), repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.), y trigo (*Triticum aestivum* L.).
- Evaluar la respuesta a *D. dipsaci* de las diferentes especies vegetales cultivadas en un suelo infestado en forma natural con este nemátodo.
- Establecer la susceptibilidad de las especies vegetales, a la presencia de *D. dipsaci*, por medio de inoculación directa de plantas con el nemátodo.

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Nemátodos fitoparásitos.

Los nemátodos corresponden a uno de los grupos de organismos animales más numerosos sobre la tierra. La gran mayoría de las especies viven libres en el suelo o agua, alimentándose de hongos, bacterias, algas o predando otros pequeños animales, incluyendo otros nemátodos (SOUTHEY, 1978).

Aproximadamente un 10% de las especies conocidas se alimentan de plantas (JANSSEN, 1994); éstos que se conocen como fitoparásitos, corresponden a organismos de gran importancia por el daño que causan mundialmente en los cultivos, particularmente en las regiones tropicales y subtropicales (NETSCHER y SIKORA, 1990). MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999), como PLOWRIGHT *et al.* (2002), afirman que los nemátodos fitoparásitos son enemigos de gran implicancia en la agricultura en Chile y mundial respectivamente.

La mayoría de las especies fitoparásitas, afectan principalmente las raíces de las plantas (GRIFFITH *et al.*, 1999). Estos organismos succionan el contenido celular por medio de un estilete protractil. Este órgano está presente en la cavidad bucal cuya estructura es similar a una aguja hipodérmica, y que está conectado por un lumen hueco al esófago o farinix, utilizando para ello un sistema de bombeo similar al de una jeringa hipodérmica (JANSSEN, 1994). Además, poseen mecanismos muy efectivos de acción química, los cuáles les facilitan su función punzante (PERRY y WRIGHT, 1998).

Morfológicamente los nemátodos fitoparásitos son organismos de cuerpo alargado, filiforme, cilíndricos a fusiformes, cuyo tamaño varía entre 0,02 y 5 mm dependiendo de la especie (SOUTHEY, 1978).

2.2 Género *Ditylenchus*.

Este género comprende varias especies entre las cuáles las más importantes, por el daño que causan a los cultivos son *D. dipsaci*, *D. destructor* y *D. angustus* (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999).

Las especies pertenecientes a este género en general, son de difícil identificación (BARRACLOUGH y BLACKIT, 1962), puesto que además de ser similares en cuanto a su morfología, presentan normalmente una considerable variación intraespecífica (WENDT *et al.*, 1993 y PLOWRIGHT *et al.*, 2002). Lo mismo agregan BARRACLOUGH y BLACKWITH (1962) y BAICHEVA *et al.* (1998), quiénes afirman que aún dentro de una misma especie como es el caso de *D. dipsaci*, es posible encontrar varias razas, por lo que estudios más específicos de morfometría son necesarios para la diferenciación entre las especies.

SUBBOTIN *et al.* (2000) confirman lo anterior, después de haber analizado las secuencias específicas de ADN ribosomal de 23 poblaciones de *D. dipsaci* provenientes de distintos lugares del mundo, postulando además, de que *D. dipsaci* puede ser considerado como un complejo de especies.

2.3 *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev.

Esta especie es conocida comúnmente como “nemátodo del bulbo y del tallo” (BARRACLOUGH y BLACKITH, 1962). El nombre fue asignado por el hecho de afectar principalmente tejido aéreo u órganos que tienen su origen en tejido caulinar, como bulbos por ejemplo (SOUTHEY, 1978). Es un nemátodo de amplia distribución mundial que provoca importantes pérdidas en muchos lugares geográficos (JULIER *et al.*, 1996).

Tanto TENENTE (1996) como COOK *et al.* (1992), afirman que *D. dipsaci* es uno de los nemátodos parásitos más destructivos de plantas, especialmente en regiones templadas. En Chile es importante por su daño en cultivos como ajo, cebolla y alfalfa (INSUNZA y VALENZUELA, 1995).

Los mismos autores anteriores, además de MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999), afirman que un alto nivel de infestación en el suelo, puede ocasionar pérdidas superiores a un 50% en los cultivos. Estas pérdidas se deben a que *D. dipsaci* causa necrosis de bulbos, marchitamiento y distorsión de partes aéreas, amarillamiento de hojas y muerte de plantas (WHITEHEAD y TITE, 1987 y GRIFFITH *et al.*, 1999).

2.3.1 Aspectos generales. ESCUER (1998) y ESQUIBET *et al.* (1998), señalan que *D. dipsaci* es un endoparásito polífago obligatorio, que infecta los tejidos caulinares de sus hospederos. Concordando con lo anterior, (PENG y MOENS, 2003) agregan que, además de este tipo de tejidos puede infectar tejido foliar y floral, lo cual lo diferencia de otras especies del género como por ejemplo, *D. destructor*.

Según ROBERTS y MATHEWS (1995) y SUBBOTIN *et al.* (2000), el nemátodo del bulbo y del tallo es un parásito que primeramente infecta y daña los tallos y hojas basales de las plantas, y luego se extiende al resto de los tejidos junto con el crecimiento de estos. FRANCO (1982) y PENG y MOENS (2003) agregan que *D. dipsaci* al ser un endoparásito migratorio se alimenta de tejido parenquimático de bulbos, tallos y hojas de un enorme número de hospederos.

2.3.2 Descripción morfológica. ESCUER (1998), señala que debido al amplio rango de hospederos como también a factores ambientales, *D. dipsaci* presenta una gran variación morfológica y morfométrica, lo que ha dado origen a la descripción de muchas razas. Sin embargo, una descripción general de individuos de la especie, la da (HOOPER, 1972), señalando que entre sus principales características está el poseer un cuerpo largo y delgado, cuya longitud varía generalmente entre 1 y 2,2 mm, presenta un estilete corto, escasamente distinguible a 40 aumentos.

Su cuerpo es casi recto, y presenta bandas laterales con cuatro líneas. El esófago es cilíndrico y el bulbo basal muscular puede solapar ligeramente el intestino. Tienen un saco uterino postvulvar igual o ligeramente superior a la mitad de la distancia vulva-ano. Y para distinguirlo más claramente, la cola en ambos sexos

es cónica con la terminación aguda (ESCUER, 1998). Cuando se le aísla en agua sus movimientos son generalmente rápidos, lo cuál puede confundirlo con *Aphelenchoides spp.* (FRANCO, 1982 y FERRIS, 2004).

Importante es mencionar que las razas o biotipos de este nemátodo son morfológicamente similares (FERRIS, 2004).

BLAKE (1962) y BARRET y BUTTERWORTH (1985), indican que es muy importante para el desarrollo de las infecciones y mantención de su virulencia, la capacidad que presentan en su cuarto estado juvenil (J4), el cuál puede soportar hasta un 90% de pérdida del agua corporal, lo que le permite sobrevivir en un estado deshidratado por largos períodos de tiempo. Ello es posible gracias a que su ADN y las proteínas, se mantienen estables durante este período, y además, que posee una estructura cuticular altamente resistente al estrés hídrico (BARRET y BUTTERWORTH, 1985; WHARTON y MARSHALL, 2002).

WOMERSLEY *et al.* (1998), agregan que la habilidad de *D. dipsaci* de regular su contenido hídrico, depende además del hospedero y específicamente del tejido en que se encuentre.

Sin embargo, aún a pesar de poseer esta característica que lo diferencia y favorece sobre otras especies de nemátodos del género *Ditylenchus*, temperaturas en el suelo superiores a 32° C afectan notoriamente su desarrollo en estado adulto, independiente del nivel de humedad que tenga el suelo (GRIFFITH *et al.*, 1999).

2.3.3 Descripción taxonómica. Según SOUTHEY (1978) y actualizada por SUBBOTIN *et al.* (2004), la clasificación de *D. dipsaci* es la siguiente:

Phylum	:	Nematoda
Clase	:	Nematodea
Subclase	:	Secernentia

Orden	:	Tylenchida
Suborden	:	Tylenchina
Superfamilia	:	Tylenchoidea
Familia	:	Anguinidae
Subfamilia	:	Anguininae
Género:		Ditylenchus
Especie	:	<i>D. dipsaci</i> Kühn (Filipjev)

Sturhan (1971) citado por WHITEHEAD *et al.* (1987), indica que se conocen más de 20 razas de *D. dipsaci*. Para la determinación de razas se utiliza un grupo de hospederos diferenciales, y se hace necesario hacer pruebas con todos los hospederos para identificar precisamente las poblaciones del nemátodo

Datos más actuales, indican que el número de razas puede llegar a las 30 según Sturham y Brzeski (1991) citado por ESQUIBET *et al.* (1998) y PLOWRIGHT *et al.* (2002).

Muchas veces, grupos de individuos o poblaciones de distinto origen difieren en su rango de hospederos, aún dentro de cultivares de una misma especie, lo cuál hace que aparentemente el número de razas sea aún mayor (GOODEY y HOOPER, 1962; WHITEHEAD *et al.*, 1987 y TENENTE, 1996).

WENDT *et al.* (1993), basándose en investigaciones con marcadores de ADN, tales como RAPDs, afirman que poblaciones del nemátodo del bulbo y del tallo, desarrolladas sobre la misma pueden corresponder también a distintas razas.

Por otra parte, PLOWRIGHT *et al.* (2002), concuerdan con los autores anteriores, en que el empleo de RAPDs, basado en la Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR), es una técnica efectiva para la diferenciación de razas de *D. dipsaci*, pero tiene problemas de reproducibilidad y uso en campo.

Sin embargo SUBBOTIN *et al.* (2004), afirman basados en las más modernas técnicas de diferenciación de especies, por medio de secuencias de ITS de ADNr, que existe una estrecha relación genética entre las especies formadoras de agallas de la subfamilia Anguininae, señalando que *D. dipsaci*, debe ser considerado como un complejo de especies.

2.3.4 Ciclo biológico. *D. dipsaci* puede invadir a las plantas a través de lenticelas, como en el caso de los tubérculos (EVANS *et al.*, 1993), o como agrega ESCUER (1998), por estomas u otras aberturas naturales del tallo y del bulbo. En general, la infestación se produce en los primeros estados de desarrollo, cuando la planta está brotando (BRUNA y GUIÑEZ, 1980).

MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999), señalan que el cuarto estado juvenil o preadulto de *D. dipsaci*, es el invasor primario, penetrando la epidermis o también, a través de las estomas de los tallos y hojas. Al igual que los autores anteriores, (BLAKE, 1962 y HOOPER, 1972), concluyeron que los individuos principalmente del cuarto estado juvenil, son los que invaden los tejidos jóvenes en crecimiento especialmente plántulas, mientras se encuentran bajo la superficie del suelo.

MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999), indican que las hembras ponen sus huevos en el tejido foliar y como muchos otros nemátodos parásitos de plantas, eclosionan como segundo estado juvenil (JII). Agregan que su generación varía entre 19-23 días, dependiendo de la temperatura.

Por su parte ESCUER (1998), indica que el ciclo biológico se completa en 17-23 días a temperatura entre 13-22° C y que tanto la máxima actividad, como la multiplicación, así como la mayor habilidad invasora se dan con temperatura entre 10-20° C y entre 57-70% de humedad. Lo anterior concuerda con resultados observados por GRIFFITH *et al.* (1996) y GRIFFITH *et al.* (1999), en el sentido que con temperaturas superiores a 27° C cesa incluso el desarrollo de los huevos del nemátodo.

Según HOOPER (1972), una hembra de *D. dipsaci*, puede colocar desde 200-500 huevos y puede vivir desde 45 a 73 días.

MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999) y PLOWRIGHT *et al.* (2002), por su parte, afirman que *D. dipsaci*, prefiere temperaturas bajas a moderadas (10-20° C) y por esto ataca cultivos invernales, inactivándose en las épocas de mayores temperaturas (sobre 30° C), a las que sobrevive en estado de quiescencia en el suelo y partes vegetales.

HOOPER (1972) y TAPIA (1984), coinciden en que el cuarto estado juvenil (JIV) o estado infectivo tiene la capacidad de entrar en anaerobiosis, dando al nemátodo mayor posibilidad de resistir las deshidrataciones y otras condiciones adversas.

TENENTE (1996) y PLOWRIGHT *et al.* (2002), concuerdan con lo anterior, y afirman que es la cutícula la que lo protege de la desecación o disminución de la humedad del suelo, y que su habilidad de entrar en anaerobiosis lo sitúa dentro del grupo exclusivo de los nemátodos resistentes a sequías (WOMERSLEY *et al.*, 1998). WHARTON *et al.* (2002), agregan además, que *D. dipsaci* tiene la capacidad de realizar rápidamente este cambio, producto de un control de la permeabilidad de su cutícula.

Una vez que los nemátodos se agrupan en el tejido, forman masas lanosas blanquecinas. Posteriormente cuando las hojas y restos vegetales infestados se secan, el nemátodo puede pasar al suelo y mantenerse vivo durante meses o incluso años en ausencia del huésped (ESCUER, 1998).

2.3.5 Distribución y dispersión del nemátodo. *D. dipsaci* es uno de los nemátodos fitoparásitos más extendidos a nivel mundial, sobretodo en regiones templadas (WHITEHEAD y TITE, 1987 y EVANS *et al.*, 1993).

ESCUER (1998) y PLOWRIGHT *et al.* (2002), agregan que la distribución cosmopolita de *D. dipsaci* se debe en parte a la actividad del hombre y que además su diseminación se ha visto favorecida por la habilidad del nemátodo a sobrevivir a la desecación incluso en semillas y bulbos.

Dentro de los estados de desarrollo de *D. dipsaci*, el cuarto estado juvenil (JIV), es capaz de resistir la desecación por muchos años, usualmente en agregados de gran número de individuos, sin embargo, en condiciones de campo la población declina rápidamente en ausencia de hospederos (EVANS, *et al.*, 1993).

La forma habitual de dispersión de *D. dipsaci* es a través de las semillas y es frecuente que éstas se encuentren infestadas con juveniles de cuarto estado (BRUNA y GUIÑEZ, 1980 y TENENTE, 1996). Esto concuerda con lo señalado por MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999), quiénes además, agregan las partículas de suelo como fuente de diseminación del nemátodo.

Según ROBERTS y MATHEWS (1995) y PLOWRIGHT *et al.* (2002), el nemátodo aparte de diseminarse a través de la semilla o partes vegetales, puede hacerlo también por medio del agua de riego y de drenaje, como también por la maquinaria que lleve restos de plantas enfermas o suelo infectado. Por su parte, MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999), agregan como medio de diseminación al viento.

Al igual que la mayoría de los otros nemátodos, *D. dipsaci* se distribuye por sus propios medios en el suelo y se dispersa horizontalmente y en forma desuniforme en éste, unas pocas pulgadas al año, aún así puede sobrevivir en las capas superficiales del suelo (TENENTE y EVANS, 1996).

GUIÑEZ (1991), indica que en una pradera infectada inicialmente en determinados sectores, el nemátodo puede distribuirse a todo el potrero, incluso a otros vecinos, cuando el riego se efectúa inmediatamente después de un corte o del pastoreo.

2.3.6 Hospederos. Diversos autores, entre los cuáles están ESCUER (1996), MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999) señalan que el número de hospederos de *D. dipsaci* supera los 450 entre plantas cultivadas y silvestres.

Sin embargo, WENDT *et al.* (1993), ESQUIBET *et al.* (1998) y SUBBOTIN *et al.* (2004), afirman que el número es mayor, y que este puede llegar a las 500 especies de Angiospermas.

BLAKE (1962), señala que el hospedero sobre el que se encuentre el nemátodo influye sobre las condiciones reproductivas de éste y aún sobre aspectos morfológicos, tales como: largo del cuerpo, desarrollo y disposición de los órganos genitales.

Aún considerando su amplio rango de hospederos y especialmente la presencia de muchas razas, ESCUER (1998) señala que con rotaciones de cultivos no susceptibles durante 3-4 años se consigue reducir las poblaciones, pero debe tenerse cuidado con las malezas que pueden ser reservorios y por lo tanto fuente de futuras infestaciones.

2.3.7 Importancia económica. En general, *D. dipsaci* tiene gran importancia económica como parásito de plantas superiores (ESCUER, 1998).

GUIÑEZ (1991) y MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999), indican que de las dos principales especies del género presentes en Chile, *D. dipsaci* y *D. destructor*, la primera causa mayores pérdidas, principalmente en plantas de bulbo (cebolla y ajo), pero también se desarrolla muy bien sobre alfalfa y trébol rosado, lo que ha obligado a usar como única alternativa las variedades resistentes.

Según HOOPER (1972), éste nemátodo además del daño directo que provoca, también puede causar daño por asociación con otros patógenos como bacterias u hongos.

Sin embargo, un cultivar resistente a una o más poblaciones de una raza determinada del nemátodo, puede ser susceptible a otras poblaciones de esa raza, y poblaciones naturales del nemátodo pueden consistir en una mezcla de razas (WHITEHEAD *et al.*, 1987).

2.3.8 Síntomas y daños en cultivos. Aún con densidades poblacionales bajas, *D. dipsaci* puede provocar graves daños, atacando partes aéreas, tales como tallos, pecíolos, hojas, vainas y semillas. Algunas especies atacan partes subterráneas tales como, estolones, tubérculos, rizomas y raíces (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999 y PLOWRIGHT *et al.*, 2002).

En plantas susceptibles uno de los síntomas más evidentes del daño es la necrosis, pudrición y muerte del tejido de la planta (FRANCO, 1982).

Por otra parte, tanto INSUNZA y VALENZUELA (1995) como GRIFFITH *et al.* (1999), señalan que el ataque del nemátodo provoca otros síntomas, tales como hipertrofia y detención del crecimiento de los pecíolos y láminas foliares, acortamiento e hipertrofia de internodos y desarrollo anormal de la epidermis de los estolones y epidermis de los pecíolos. A ello se agrega lo que señala HOOPER (1972), según el cuál, el nemátodo provoca distorsiones en tejidos y con ello síntomas de deformación y menor desarrollo de las plantas.

La desorganización de los tejidos se debe a la secreción predigestiva que hace el nemátodo antes de succionar el contenido celular, ya que en ésta van enzimas del tipo pectinasas que actúan sobre los compuestos pécticos de la lámela media del hospedero (PERRY y WRIGHT, 1998). De ésta manera, provoca por la degeneración de estos, flacidez, ablandamiento, separación de las células y formación de cavidades (SEINHORST, 1956 y BLAKE, 1962).

En ajo (*Allium sativum*), puede provocar pérdidas que alcanzan un 30-80% del rendimiento. El nemátodo puede estar presente en los bulbillos y dar así origen a una planta clorótica, también puede causar deformación de bulbos, rupturas

longitudinales de túnicas externas, necrosis de la base de los dientes y el desarrollo de un sistema radical pobre. En ajo, este nemátodo se transmite por bulbos infectados, restos de plantas enfermas, herramientas de trabajo y agua de riego (INSUNZA y VALENZUELA, 1995).

En ballica (*Lolium perenne*), según EVANS *et al.* (1993), *D. dipsaci* ha sido recientemente reportado como causante del menor rendimiento de la ballica en algunos lugares de USA y Nueva Zelanda. Además, produce un exceso de tallos engrosados en su base (HOOPER, 1972).

En trigo (*Triticum aestivum*), se produce una hiperplasia y una hipertrofia en el tejido parenquimatoso, por lo tanto produce un aspecto distorsionado de la planta. Además, óvulos y otras partes florales se distorsionan tomando aspecto de agallas. La infección es mayor cuando las condiciones ambientales incluyen frío y altos niveles de humedad (HOOPER, 1972 y NOMBELA *et al.*, 1998).

Existen además muchas especies de malezas hospederas, tales como correhuela (*Convolvulus arvensis* L.), hualcacho (*Echinochloa crus-galli* L.), pasto miel (*Holcus lanatus* L.), bolsita del pastor (*Capsella bursa-pastoris* L.), pasto cebolla (*Arrhenatherum elatius* L. ssp. *bulbosus*), sanguinaria (*Polygonum aviculare* L.), verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) y yuyo (*Brassica rapa* L.) (INSUNZA y VALENZUELA, 1995).

2.3.9 Control. El control de tipo preventivo se hace a través del uso de semillas certificadas, plantaciones de suelos libres de nemátodos previo análisis, y rotaciones de cultivos (INSUNZA y VALENZUELA, 1995). Entre las medidas de control curativo están la aplicación al suelo de nematicidas u otros productos, la desinfección de semillas con productos nematicidas y el control de malezas hospederas (ESCUER, 1998).

WHITEHEAD y TITE (1987) así como COOK *et al.* (1992), afirman que el control químico es una muy buena alternativa para el control del nemátodo, por

ejemplo en producciones de *Vicia faba* y sobre praderas. Agregan además, que su aplicación elimina el daño a los tallos de las plantas y disminuye también, la infestación en la semilla cosechada.

Las medidas preventivas son el método más adecuado para evitar las infestaciones y diseminación de este patógeno. También, es fundamental que las semillas, bulbos, dientes de ajo u otro material vegetal estén exentas de nemátodos (ESCUER, 1998). Además de la utilización de semilla certificada, el uso de cultivares resistentes es considerada la forma más eficiente de control (LOPEZ, 1989).

Para evitar el daño, WENDT *et al.* (1993), afirman que el principal y primer método de control de *D. dipsaci*, es la rotación de cultivos, pero que la gran presencia de razas morfológicamente indistinguibles, con diferentes preferencias de hospederos hace que esta sea difícil de llevar cabo.

2.4 Métodos de extracción e identificación de *D. dipsaci*.

Un amplio rango de técnicas son usadas para extraer nemátodos desde el suelo y tejidos, pero muchos de estos métodos varían solamente en pequeños detalles. Muchas variaciones de unas pocas técnicas han sido usadas por nematólogos por muchos años (BOLTON *et al.*, 1990).

Dentro de las primeras, una de las más usadas por su grado de simplicidad, es la técnica del embudo de Baermann, la cuál permite extraerlos del suelo luego de 48 horas, previo a la inmersión de éste dentro de una malla (STIRLING *et al.*, 2002 y FERRIS, 2004). Para la extracción de nemátodos desde los tejidos, el método de inmersión en agua para la extracción de éstos desde las semillas los obtiene por decantación al cabo de unas 24 horas, al comenzar a salir de los tejidos (BOLTON *et al.*, 1990).

3 MATERIAL Y METODO

La presente investigación se realizó en dependencias del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile y se desarrolló en base a dos ensayos. En su aspecto general, consistió en determinar la capacidad de *D. dipsaci* para infectar seis especies vegetales: ajo (*A. ampeloprasum* L.), ballica (*L. perenne* L.), trigo (*T. aestivum* L.), repollo (*B. oleraceae* var. *capitata* L.), chalota (*A. cepa* var. *agregatum* L.) y perejil (*P. hortense* L.) cultivadas en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado. Para los tratamientos testigo, se utilizó el mismo suelo esterilizado en autoclave, dando un total de 12 tratamientos.

Además, se realizó un segundo ensayo, en el cuál se inoculó directamente el nemátodo a las especies vegetales, para confirmar su susceptibilidad.

3.1 Materiales.

A continuación se describen los materiales que se utilizaron en el trabajo, siendo éste principalmente de origen vegetal (semillas y bulbos), suelo y materiales de laboratorio.

3.1.1 Material vegetal. Corresponidió al material generador de las especies a estudiar, como son bulbos de ajo blandino, bulbos de chalota y semillas de trigo, ballica, perejil y repollo; todos ellos comprobadamente libres de *D. dipsaci*.

3.1.1.1 Ajo. Se utilizaron 51 bulbos de ajo chilote, los que se obtuvieron del comercio local (feria fluvial de Valdivia), seleccionándolos de un lote mayor por presentarse aparentemente sanos. Al realizar los análisis nematológicos a una muestra de cuatro bulbos tomados al azar, se comprobó que se encontraban libres de *D. dipsaci*. Del total de bulbos, 40 se emplearon durante el primer ensayo. Para el

segundo ensayo fueron utilizados siete bulbos, tres sanos para la plantación y cuatro bulbos infestados como fuente de inóculo.

3.1.1.2 Chalota. Los bulbos de esta especie provenían de pequeños productores de la zona, adquiriéndose 47 bulbos en el comercio local. Estos se seleccionaron en los puestos de venta por presentarse aparentemente sanos. Luego, 40 de estos bulbos fueron utilizados en la primera parte del ensayo, y los cuatro restantes, en los análisis nematológicos. Para el segundo ensayo se emplearon 3 bulbos.

3.1.1.3 Trigo. En el ensayo se utilizó semilla de trigo cultivar Otto Baer, la cuál presentó un 85% de germinación; ésta fue proveída por el Laboratorio de Semillas de la Facultad de Ciencias Agrarias. Para el análisis nematológico de la semilla se utilizaron 100 g de semilla (dos repeticiones de 50 g cada/una), y para la siembra se usaron 26 semillas/maceta. Para el caso del segundo ensayo se sembraron un total de 15 semillas (3 semillas/maceta) de la misma variedad y origen.

3.1.1.4 Ballica. Se trabajó con el cultivar Nui, la que fue proveída por el Laboratorio de Semillas de la Facultad de Ciencias Agrarias, y poseía un 85% de germinación. Para el análisis nematológico de la semilla se utilizaron 20 g de semilla (dos repeticiones de 10 g cada una), y para la siembra 26 semillas/maceta. En el segundo ensayo se utilizaron 20 semillas (4 semillas/maceta) de la misma variedad.

3.1.1.5 Perejil. Se utilizó semilla de la variedad Común Liso, adquiriéndose seis sobres, de 10 g cada uno, distribuidos por la empresa ANASAC. La información de la empresa distribuidora indicaba un 85% mínimo de germinación. Para el análisis nematológico de la semilla se utilizaron 10 g de semilla (dos repeticiones de 5 g cada una), y para la siembra 91 semillas/maceta, producto del menor tamaño de semilla. Además, para el segundo ensayo, se utilizaron 20 semillas (4 semillas/maceta) de la misma variedad.

3.1.1.6 Repollo. La semilla correspondió al cultivar Copenhagen, adquirida en el comercio local y distribuida por la empresa la ANASAC, ésta también aseguraba un

mínimo de 85% de germinación. Para el análisis nematológico de la semilla se utilizaron 10 g de semilla (dos repeticiones de 5 g cada una), y para la siembra 26 semillas/maceta. Para el segundo ensayo, al igual que las dos especies anteriores, se utilizaron 20 semillas (4 semillas/maceta).

3.1.2 Suelo. Para el ensayo se utilizaron aproximadamente 100 kg de suelo, proveniente del sector de Asque, localidad de Pelchuquín, comuna de Valdivia; éste corresponde a suelo trumao de la serie Pelchuquín y se obtuvo de un potrero naturalmente infestado con *D. dipsaci*. Este potrero había sido cultivado la temporada anterior con ajo blandino (*A. ampeloprasum*), cultivo que presentó una severa infestación por el nemátodo del bulbo y del tallo.

3.1.3 Equipos. El ensayo se realizó en una cámara biocontrolada, que consiste en una sala bioclimática regulada a una temperatura promedio de 15° C, con un fotoperíodo de primavera de 12 h luz y 12 h de oscuridad y una intensidad lumínica simulando primavera (30.000 lux aproximadamente). Esta cámara se encuentra en dependencias del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal y cuenta con un sistema automático para la regulación del fotoperíodo y la temperatura.

Para la revisión de las muestras se utilizaron lupas estereoscópicas y microscopios. Para los análisis nematológicos de suelo y plantas, se utilizó un set de tamices de bronce cuya abertura de poros varía desde 50 hasta 325 mallas/pulgada². También, en las distintas etapas del ensayo se requirió el uso de balanzas de lectura electrónica, con 0,01 g de precisión y con una capacidad de 2 kg como máximo.

3.1.4 Material de laboratorio. Para el cultivo de las plantas se usaron 96 macetas plásticas de 1 kg de capacidad, con 15 cm de diámetro y 20 cm de altura. Además, material de vidrio como cubreobjetos, matraces, pipetas, placas de Petri, portaobjetos, probetas, tubos de ensayo, vasos de precipitado y termómetros.

Para los procesos de desinfección de macetas, mesones y equipos de disección se utilizó hipoclorito de sodio al 5 % (cloro comercial), así como también alcohol al 95%.

También se utilizaron otros materiales, tales como baldes, bolsas de papel, bolsas plásticas, jarros, lápices marcadores, palas, papel absorbente (Nova), papel facial, pinzas, piscetas, platillos plásticos, tijeras, etc.

Para el segundo ensayo, el material de laboratorio empleado fue igual que en el primer ensayo, matraces, placas de Petri, portaobjetos tamices, bisturí, micropipetas y soportes. Además, para la esterilización de estos implementos, se utilizó una estufa de esterilización Memmert.

3.2 Método.

El primer ensayo se estructuró en base a 12 tratamientos, los cuáles correspondieron a cada una de las seis especies vegetales cultivadas en sustrato infestado y en sustrato estéril.

Cada tratamiento contó con siete repeticiones, a excepción del ajo y la chalota que tuvieron diez, producto de un menor número de plantas por maceta (Cuadro 1).

CUADRO 1 Tratamientos del ensayo.

Especie	N° repeticiones /tratamiento	
	Suelo infestado	Testigo
Ballica	7	7
Perejil	7	7
Repollo	7	7
Trigo	7	7
Ajo	10	10
Chalota	10	10

3.2.1 Ubicación del ensayo. Este se realizó en el Laboratorio de Nematología del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile.

3.2.2 Duración y condiciones del ensayo. La fase experimental del primer ensayo, duró aproximadamente 120 días, a partir del 7 de mayo del 2002, fecha en la cuál se sembraron las macetas. Para el desarrollo de las plantas, se emularon condiciones de primavera para la ciudad de Valdivia (12 h luz y 12 h noche), en una cámara con condiciones controladas. Durante este tiempo se evaluó periódicamente tanto el desarrollo de las especies establecidas en las macetas, como la población de nemátodos en éstas.

El segundo ensayo tuvo una duración de 60 días. Se llevó a cabo, para confirmar la susceptibilidad de las especies al nemátodo, evaluando además síntomas de su parte aérea.

3.2.3 Recolección y preparación del suelo. El suelo utilizado provino del sector Asque, Pelchuquín, y fue extraído de un potrero de aproximadamente 1 ha cultivado con ajo blandino en la temporada 2002, cultivo que presentó una alta infestación de *D. dipsaci*.

De este potrero se recolectaron, con ayuda de una pala y al azar, un número suficiente de submuestras hasta obtener aproximadamente los 100 kg necesarios para el ensayo. Estas se sacaron de los primeros 20 cm de profundidad, perfil en el que se encuentran normalmente la mayoría de las especies de nemátodos.

El suelo se llevó a invernadero, donde se depositó en un contenedor y se mezcló con pala durante unos tres a cuatro días para eliminar el exceso de humedad y lograr su homogeneización. Posteriormente y previo al llenado de las macetas, se procedió a harnerearlo para eliminar restos vegetales mayores y dejarlo lo más uniforme posible.

Con éste suelo se llenaron las 48 macetas, que correspondieron a los tratamientos con suelo infestado. Para los tratamientos correspondientes a suelo sin infestación, se utilizó el mismo sustrato esterilizado en autoclave a 1 atmósfera de presión por 60 minutos.

Del mismo suelo, se tomó una muestra de 1 kg la que fue posteriormente analizada químicamente (Cuadro 2).

CUADRO 2 Análisis químico del suelo utilizado en el ensayo¹.

Parámetro	Valor
pH H ₂ O	6,1
pH KCL	5,4
Ct (%)	6,8
Nt (%)	0,5
C/N	13,6
P-OLSEN (ppm)	18,4
Al (ppm)	1213
Na (ppm)	255
K (ppm)	318
Ca (ppm)	1583
Mg (ppm)	133
Fe (ppm)	81
Mn (ppm)	8
Cu (ppm)	5,6
Zn (ppm)	3,6
B (ppm)	1
S (ppm)	24
Al-KCL (ppm)	2
Suma de Bases (meq/100g)	10,94
Saturación de Al (%)	0,21

¹ FUENTE: LABORATORIO DE NUTRICION Y SUELOS FORESTALES. Comunicación personal.

3.2.4 Análisis nematológico inicial del suelo. La densidad poblacional de *D. dipsaci* en el suelo utilizado en el ensayo, se determinó procesando cuatro muestras de 50 cc cada una, por el método Baermann modificado por (STIRLING *et al.*, 2002), y mantenido en reposo durante 48 h. Luego, la suspensión se recuperó en un tubo de ensayo de 200 cc, la que se dejó decantar en refrigerador (5-7° C) por 24 h. La posterior revisión y recuento de la suspensión obtenida en cada repetición se realizó bajo microscopio en base a cuatro alícuotas de 0,5 cc cada una.

Los resultados del análisis nematológico se indican en el Cuadro 3.

CUADRO 3 Análisis nematológico del suelo utilizado en el ensayo.

Género de nemátodos	Nº individuos/50g suelo
<i>Aphelenchoides sp.</i>	40
<i>Aphelenchus sp.</i>	60
<i>Ditylenchus sp.</i>	180
<i>Helicotylenchus sp.</i>	50
<i>Meloidogyne sp.</i>	20
<i>Paratylenchus sp.</i>	130
<i>Pratylenchus sp.</i>	90
<i>Tylenchorhynchus sp.</i>	10
<i>Tylenchus sp.</i>	30
Total nemátodos	610
Nemátodos saprófitos	420

Para reconocer la especie de *Ditylenchus sp.* presente en el suelo, se procedió a separar manualmente y bajo una lupa cinco individuos de cada muestra; cada individuo se identificó, siguiendo las descripciones de (HOOPER, 1972), en base a la forma de la cabeza, estilete y esófago, extremo terminal, ubicación del poro anal y número de líneas laterales.

Todos los especímenes revisados correspondieron a la especie de *D. dipsaci*.

3.2.5 Análisis nematológico de las semillas. Como se mencionó anteriormente, de cada especie vegetal se tomó al azar una muestra representativa del material a sembrar. Para el caso de la ballica 20 g, perejíl y repollo 10 g cada uno y para trigo 100 g.

Se realizaron dos repeticiones tomando como base el número de semillas mencionado anteriormente para cada especie, y se las procesó siguiendo la metodología propuesta por (BOLTON *et al.*, 1990). Esta consiste en sumergir la semilla en agua, manteniéndola a temperatura ambiente por 48 h; transcurrido este tiempo se recupera el agua en un set de tamices de 100 y 325 mallas/pulgada², colectándose el residuo del tamiz mas fino en un tubo de ensayo el que se mantiene refrigerado por 20 - 24 h para permitir la decantación de la suspensión; la semilla se vuelve a sumergir, recuperando el agua por el mismo método cada 24 h, durante cinco días. Las suspensiones obtenidas se revisan directamente bajo lupa estereoscópica o microscopio utilizando una placa de recuento.

3.2.6 Pruebas de germinación. De las especies vegetales de semilla, vale decir, ballica, perejíl, repollo y trigo; se colocaron 50 semillas dentro de placas de vidrio especiales y sobre un sustrato húmedo, con el objetivo de cuantificar el vigor germinativo de las semillas empleadas en el ensayo, y para establecer un número definido de plantas por maceta, además, de verificar que las semillas se encontraran viables. Estas se realizaron en dependencias del Laboratorio de Semillas del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal.

3.2.7 Desinfección de las macetas. Las macetas fueron desinfectadas previo a la siembra, con una solución de hipoclorito de sodio al 5% (producto comercial) durante 30 minutos; luego cada maceta se enjuagó con agua destilada para eliminar el remanente de cloro y se dejó secar a temperatura ambiente. Igual tratamiento tuvieron las macetas utilizadas en el segundo ensayo.

3.2.8 Desinfección de semillas y bulbos. Las semillas de trigo, ballica, perejíl y repollo, fueron desinfectadas previo a su siembra, con hipoclorito de sodio al 0,5%

producto comercial por un tiempo de 5 minutos, posteriormente se enjuagaron con agua estéril, para finalmente ser secadas sobre papel absorbente estéril.

Los bulbos de ajo y chalota no se desinfectaron, Similar metodología se realizó para el segundo ensayo.

3.2.9 Siembra y plantación. Cada especie se sembró por separado en 14 macetas de 1 kg cada una, (siete con suelo infestado y siete con suelo esterilizado), excepto el ajo y la chalota, que se plantaron en diez macetas por tratamiento. La densidad de siembra correspondió a la recomendada para la especie en particular (Cuadro 4).

CUADRO 4 Densidad de plantación y siembra de especies vegetales.

Especie	Densidad (semilla o bulbo/maceta)
Ajo	2 bulbos
Chalota	2 bulbos
Ballica	26 semillas
Perejil	91 semillas
Repollo	26 semillas
Trigo	26 semillas

3.2.10 Condiciones de cultivo. Una vez sembradas las macetas, éstas se mantuvieron en una cámara con ambiente controlado emulando condiciones de primavera (fotoperíodo de 12 h luz y 12 h oscuridad), y con una temperatura promedio de 15° C aproximadamente. El riego se aplicó según las necesidades de las plantas. Además se registró diariamente la temperatura mínima, máxima y la ambiental.

3.2.11 Evaluaciones. La emergencia de plantas se evaluó los días 6, 15 y 30 desde siembra. La altura de plantas, en cambio, los días 10, 25 y 60 y el peso fresco a los 30, 60 y 90 días desde la siembra, junto con las evaluaciones nematológicas de las plantas en estos mismos períodos. Además, también se describió la presencia de síntomas característicos del nemátodo.

Las evaluaciones de emergencia y altura se realizaron a cinco plantas de cada maceta; en cambio para las mediciones de peso, se separaron dos plantas de cada maceta. Para el caso del ajo y chalota, se realizaron evaluaciones de tamaño y peso de bulbos.

Para las evaluaciones nematológicas se utilizaron las mismas dos plantas por maceta usadas para evaluar peso, las cuáles se dividieron en tres secciones: hojas, tallo y raíz, y luego procesadas por el método de Baermann, previo a tomado su peso fresco (STIRLING *et al.*, 2002).

En el caso de las especies bulbosas, las evaluaciones consistieron en procesar los bulbos mediante el método Baermann y describir los síntomas.

3.2.12 Diseño experimental y análisis estadístico. El ensayo se estructuró en base a un diseño completamente al azar, con 12 tratamientos y siete repeticiones por especie a excepción de ajo y chalota que tuvieron 10. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente por análisis de varianza para posteriormente someterlos a una prueba de diferencias de medias estadísticas de Tukey.

3.3 Segundo ensayo (inoculación directa de especies vegetales).

Se realizó con el fin de confirmar la susceptibilidad al nemátodo en aquellas especies que mostraron susceptibilidad durante el primer ensayo.

3.3.1 Duración y condiciones del ensayo. El ensayo se realizó durante los meses de Septiembre y Octubre de 2003, y duró 60 días.

3.3.2 Recolección y preparación del suelo. Para este ensayo, el suelo utilizado correspondió a una mezcla volumétrica de tierra de hoja y arena (2:1) esterilizado en autoclave a 1 atmósfera por 60 min.

3.3.3 Análisis nematológico de las semillas. Las semillas utilizadas fueron de la misma procedencia de las utilizadas en el primer ensayo, por lo tanto, se utilizaron semillas del mismo lote comprobadas como libres del nemátodo.

3.3.4 Siembra y plantación. Esta se llevó a cabo, el día 23 de Septiembre de 2003, y las especies vegetales fueron todas establecidas en macetas plásticas de 300 cc desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5%. Para este ensayo se sembró sólo una maceta sin inóculo (testigo) para cada especie y cuatro para las plantas a inocular. En el caso particular de las bulbosas solamente se plantaron dos macetas.

En éstas se sembró y/ plantó la cantidad indicada en el Cuadro 5.

CUADRO 5 Densidad de plantación y siembra de especies en segundo ensayo.

Especie	Densidad (semilla o bulbo/maceta)
Ajo	1 bulbo
Chalota	1 bulbo
Ballica	4 semillas
Perejil	4 semillas
Repollo	4 semillas
Trigo	3 semillas

3.3.5 Condiciones de cultivo. Una vez sembradas, las macetas se mantuvieron en dependencias del Laboratorio de Nematología, dentro de campanas de vidrio; tanto estas campanas como la superficie sobre la cuál se dispusieron, fueron desinfectadas con alcohol al 96%. El ensayo estuvo expuesto a condiciones de luminosidad ambiental y a una temperatura de 18° C promedio, y sólo se abrían momentáneamente para regar las plantas cada dos o tres días. El riego se efectuó utilizando agua destilada estéril.

El método descrito anteriormente es muy importante para asegurar la persistencia del inóculo y la infestación de las estructuras inoculadas, ya que se logra

mantener una alta humedad relativa en el entorno de las plantas durante las primeras 24 horas, tal como lo describe (GRIFFITH *et al.*, 1997).

Según PLOWRIGHT *et al.* (2002), cuando se inocula una planta directamente, y ésta se mantiene en un ambiente de alta humedad relativa o abastecida permanentemente de riego, los estados de huevo, juvenil libre y adulto, tienen similar potencial de infección de la planta. En caso de que el nemátodo se introdujera al suelo, o se incorpore en el agua de riego, la infectividad relativa de los diferentes estados, influenciará el número final de invasores.

3.3.6 Obtención del inóculo de *D. dipsaci*. El nemátodo se obtuvo de bulbos de ajo blandino adquiridos en el comercio local e infestados con el nemátodo. Estos se trozaron en su sección basal y este tejido se procesó mediante el método Baermann, dejando reposar por 24 h la suspensión contenida en el recipiente de base del sistema.

Posteriormente, la solución con nemátodos, fue lavada con agua destilada estéril sobre tamices de 120 y 325 mallas/pulgada². Los individuos recuperados en el tamiz más fino se depositaron en placas de Petri conteniendo hipoclorito de sodio al 1% en el cuál se mantuvieron por tres minutos y luego se enjuagó en agua destilada estéril.

La suspensión final de nemátodos obtenida fue de 250 *D. dipsaci* /0,5mL, con la cuál se inocularon las plantas en estudio.

3.3.7 Inoculación. La inoculación se realizó cuando las plantas presentaron la primera hoja verdadera, depositando con ayuda de una micropipeta graduada 1mL de la suspensión del nemátodo (500 *D. dipsaci*/mL) en la intersección formada por el nacimiento de la primera hoja de la planta (MERCER y GRANT, 1995 y GRIFFITH *et al.*, 1997). La primera especie inoculada fue el trigo, ya que ésta fue la primera en desarrollar un par de hojas verdaderas; ésta se llevó a cabo el día 11 de Septiembre.

Con una suspensión fresca, el día 29 de Septiembre fueron inoculadas las plantas de ballica, perejil y de repollo; las cuáles recibieron idéntico volumen de agua, y la misma concentración del nemátodo que para las plantas de trigo. Este volumen de inóculo se aplicó igual que a esta última especie, cuando las plantas ya habían emitido un par de hojas verdaderas.

Las especies bulbosas fueron las últimas en inocularse ya que su desarrollo es más lento que el de las otras especies. Esta se llevó a cabo el día 16 de Octubre y cabe destacar, que al igual que las especies anteriores, ajo y chalota se inocularon con el nemátodo en el nudo de su primer par de hojas verdaderas.

3.3.8 Observaciones y evaluaciones. Estas fueron de carácter cualitativo y cuantitativo y fueron hechas 30 días después de la inoculación de las plantas de cada especie.

La evaluación cualitativa fue describir los síntomas en hojas de aquellas plantas inoculadas. Se realizaron a la totalidad de las plantas, y para ello se confeccionó una escala de evaluación del daño visualizado en las hojas, basada en tres categorías (Cuadro 6).

CUADRO 6 Escala de síntomas en plantas inoculadas.

Síntoma	Descripción
Decoloración	Color desuniforme
Deformación	Hoja o tallo curvado
Apice necrosado	Apice seco o con necrosis

Las evaluaciones de carácter cuantitativo consistieron en registrar el número de plantas por maceta, altura de plantas, número de hojas desarrolladas, longitud del tallo y pecíolo, peso de plantas y bulbos. En ajo y chalota se midió además el diámetro de los brotes desarrollados.

Estas mediciones fueron hechas a la parte aérea de cada planta, a excepción de ajo y chalota en que consideró la planta entera. Todos los registros de altura y largo de estructuras se realizaron con regla y el peso registrado con balanza digital. Para el caso de la medición del diámetro de brotes, estos una vez cortada la parte aérea de las plantas bulbosas, se midieron con regla en la base de cada uno de ellos.

Además, para el caso específico de las especies bulbosas se realizó una evaluación del estado sanitario a los bulbos cosechados incluyendo sus raíces.

Finalmente, se realizó un análisis nematológico a todas las plantas, incluidas las plantas sin inocular; cada una de ellas se pesó previo a su revisión y ésta consistió en trozar finamente el tejido aéreo y subterráneo de las plantas, esto último sólo en ajo y chalota; mantenerlas en una placa de Petri con agua durante 48 horas, posteriormente recuperar una solución previo a un filtrado en tamices de 100 y 270 mallas/pulgada². La suspensión recuperada sobre este último se revisó en su totalidad dividiéndola en alícuotas de 1 cm sobre una placa de recuento nematológica que se observó directamente bajo lupa estereoscópica.

3.3.9 Tratamiento de los datos.

Los datos se analizaron por comparaciones matemáticas y cualitativas simples, y no se realizó análisis estadístico, ya que el número de repeticiones fue desuniforme, y el objetivo de él, fue solamente realizar observaciones que sirvieran de referencia para comprobar o descartar susceptibilidad de las especies inoculadas directamente.

4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

Tal como se indicó en el capítulo anterior, la investigación se desarrolló en base a dos ensayos, cuyos resultados se muestran en los puntos siguientes.

4.1 Respuesta a *D. dipsaci* de seis especies vegetales cultivadas en suelo infestado.

A continuación se entregan y discuten los resultados obtenidos con relación a la emergencia, altura, peso fresco de las plantas, así como de los análisis nematológicos para evaluar la presencia del nemátodo en las plantas de ajo, ballica, chalota, perejil, repollo y trigo.

4.1.1 Emergencia de plantas. Transcurridos 30 días desde la siembra, la emergencia de las plantas establecidas en suelo estéril fue de 40,3%, mientras que para las establecidas en suelo infestado fue de 39,6% (Cuadro 7).

CUADRO 7 Emergencia promedio (%) de semillas y bulbos establecidos en suelo estéril e infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Sustrato	Porcentaje de emergencia promedio
Suelo estéril	39,6 a
Suelo infestado	40,3 a
D.H.S	0,67

Letras distintas en la columna denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

El análisis de varianza de los promedios de todas las especies indica que no existió diferencia significativa entre las plantas cultivadas en suelo estéril y sobre suelo infestado. A continuación se analizaron los resultados de emergencia por especie.

El que los tratamientos no hayan sido estadísticamente diferentes, puede deberse en parte a que se consideraron en el análisis estadístico las dos especies bulbosas analizadas en este primer ensayo, de las cuáles muchos bulbos no emergieron o demoraron muchos días en emerger, producto de que requieren de mayor cantidad de días para ello, o tal como afirma GUIÑEZ (1991), la presencia de *D. dipsaci* en alta cantidad, retrasa notablemente su proceso de emergencia.

4.1.1.1 Ballica. Esta especie mostró a lo largo de su período de desarrollo, una emergencia siempre menor en las plantas testigos, comparadas con las plantas sobre suelo infestado; situación que nunca varió en las tres fechas en las cuáles este parámetro fue evaluado (Cuadro 8). Esto contrasta notablemente con el 90% de emergencia alcanzado previamente por esta especie durante la prueba de germinación, en la cuál tuvo las condiciones ambientales ideales para ello.

CUADRO 8 Emergencia (%) de semillas de ballica establecidas en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
6	0,0 a	7,7 b
15	19,2 a	44,1 b
30	25,1 a	63,1 b

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

TAYLOR y SZOT (2000), afirman que *D. dipsaci*, específicamente la raza avena, provoca en gramíneas una pobre emergencia de plántulas; lo cuál no ocurrió en este ensayo, ya que las plantas testigos tuvieron una emergencia significativamente menor que las plantas sobre suelo infestado, además, no se determinó la raza de *D. dipsaci* presente.

También estos resultados se contraponen con lo señalado por (GOODEY y HOOPER, 1962 y VENTER *et al.*, 1991), quiénes indican que en semillas de especies gramíneas sometidas a una alta concentración de nemátodos del género *Ditylenchus* en el suelo, la germinación se ve seriamente afectada.

Como se analizará en los puntos siguientes, en las posteriores evaluaciones nematológicas hechas a plantas de ballica, fue detectada la presencia del nemátodo en éstas aunque no causando síntomas como los descritos por (GOODEY y HOOPER 1962), quiénes señalan que *D. dipsaci* invade y se reproduce en los cotiledones y endosperma de la semilla de cereales, posteriormente en las raíces primarias y luego, en la parte basal del tallo. Por su parte, SELMARE *et al.* (1992), señalan que los nemátodos del género *Ditylenchus* invaden el embrión y la testa de las semillas, y otras veces los cotiledones, causando fallas en la emergencia, lo que se refleja en mermas en los cultivos.

Una posible explicación a las diferencias de emergencia entre plantas establecidas en suelo estéril y aquellas sobre suelo infestado, la plantean (MANSILLA *et al.*, 1987), quiénes señalan que si el material vegetal que se utiliza en los ensayos no se encuentra totalmente libre del nemátodo, basta una mínima presencia de éste, para que junto con un sustrato libre de organismos que compitan con él, su ataque se exprese con mayor intensidad, lo cuál además, se ve favorecido por las condiciones ambientales imperantes al momento del ensayo. Esto sugiere que los testigos pudieron haber estado contaminados con el nemátodo.

Sin embargo, en el caso particular de este ensayo, las semillas utilizadas se encontraban libres de nemátodos, por lo cuál la menor emergencia en sustrato estéril pudo ser un efecto del sustrato. Sin embargo, esto no concuerda con los resultados obtenidos por EVANS *et al.* (1993), quiénes en sus experimentos también utilizaron suelo estéril para el establecimiento de semillas, sin influir este sobre la emergencia de las plantas.

4.1.1.2 Perejíl. Los valores de la emergencia de esta especie fueron similares en la primera medición. Sin embargo, en la tercera medición, que se realizó 30 días después de la siembra, las plantas sobre suelo infestado presentaban un 48,7% de emergencia acumulada, valor significativamente inferior al 82,4% que habían alcanzado las plantas sobre suelo estéril (Cuadro 9).

Es importante destacar, que las plantas sobre suelo infestado comenzaron a emerger antes que las testigos, sin embargo, en las primeras el desarrollo se hizo más lento, ya que en la última medición, el porcentaje de las testigos fue un 33,7% superior. Por lo tanto, es posible concluir que *D. dipsaci* afectó la emergencia de perejil.

CUADRO 9 Emergencia (%) de semillas de perejil establecidas en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
6	0,0 a	1,1 b
15	0,0 a	33,5 b
30	82,4 b	48,7 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

4.1.1.3 Repollo. Sólo presentó variaciones significativas en la primera medición, vale decir, al sexto día, mientras que en las dos mediciones posteriores, los porcentajes fueron muy similares, y con una pequeña diferencia a favor de las plantas sobre suelo estéril (Cuadro 10).

CUADRO 10 Emergencia (%) de semillas de repollo establecidas en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
6	32,3 a	78,0 b
15	94,0 a	90,5 a
30	94,0 a	92,3 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

4.1.1.4 Trigo. En el Cuadro 11 se aprecia que la emergencia de esta especie alcanzó un 75,7% en promedio para las plantas testigos, comparadas con 76,8% de las plantas cultivadas sobre suelo infestado a los seis días. En la segunda y tercera medición, se apreciaron diferencias significativas en este parámetro, siendo mayor la

emergencia en el testigo, esto significa que el *D. dipsaci* afectó la emergencia del trigo durante este período del ensayo.

CUADRO 11 Emergencia (%) de semillas de trigo establecidas en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
6	75,7 a	76,8 a
15	94,2 a	80,4 b
30	94,2 a	82,2 b

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

El menor porcentaje de emergencia de las semillas sobre suelo infestado con el nemátodo, concuerda con los resultados obtenidos por SELMARE *et al.* (1992), quiénes encontraron que poblaciones altas de nemátodos del género *Ditylenchus* generalmente ocasionan daño sobre las estructuras germinativas de diversas especies vegetales, incluidas gramíneas.

4.1.1.5 Ajo. Transcurridos recién 30 días desde la plantación, esta especie mostró los primeros indicios de emergencia, los que se presentaron solamente en aquellas plantas cultivadas sobre suelo estéril. Las que se establecieron sobre el suelo infestado con el nemátodo no emergieron (Cuadro 12).

CUADRO 12 Emergencia porcentual de bulbos de ajo, establecidos en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
6	0,0 a	0,0 a
15	0,0a	0,0 a
30	37,5 a	0,0 b

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

La emergencia promedio final para esta especie, fue de 0,0% para los infestados y de 37,5% para el testigo. Claramente fue superior en las plantas testigos

a lo largo de su desarrollo, por lo tanto, sería posible concluir que *D. dipsaci*, afectó la emergencia del ajo.

Los resultados obtenidos anteriormente concuerdan con lo afirmado por GUIÑEZ (1991), quién señala que si al momento de plantación, el suelo presenta una población de 20 nemátodos/100 g de suelo, *D. dipsaci* provoca un considerable daño a las plantas en desarrollo y bulbos por emerger. Sin embargo, es importante recalcar que la emergencia de esta especie es más lenta que las otras analizadas en este ensayo. ANDRES y LOPEZ-FANDO (1996), agregan que el daño a la emergencia de plantas de ajo por altas poblaciones del nemátodo es tan grave, que sólo métodos químicos serían útiles para lograr establecer exitosamente el cultivo.

4.1.1.6 Chalota. Una situación similar al ajo, ocurrió con esta especie bulbosa, la cuál tampoco emergió en ninguno de los dos tratamientos antes de la segunda medición, por lo tanto su proceso más lento de emergencia debe considerarse en el resultado. No obstante, a los 30 días desde la siembra las plantas cultivadas sobre suelo estéril emergieron y alcanzaron un porcentaje de emergencia significativamente superior al de las cultivadas sobre suelo infestado (Cuadro 13). De hecho en esta última medición los bulbos infestados se encontraron muy dañados por el ataque del nemátodo. Esto concuerda con lo señalado por MANSILLA *et al.* (1987), quiénes afirman, basados en sus ensayos, que una alta infestación o población de *D. dipsaci* en el terreno de cultivo, produce la formación de un sistema radical deficiente, y que las cabezas de los bulbos se deformen y/o revienten, lo cuál impide que broten y emerjan normalmente.

CUADRO 13 Emergencia porcentual de bulbos de chalota, establecidos en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
6	0,0 a	0,0 a
15	0,0 a	0,0 a
30	75,0 a	14,3 b

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

Es importante señalar al respecto lo que indican (ROBERTS *et al.*, 1995, TENENTE, 1996 y FERRIS, 2004), quiénes señalan que los bulbos infestados presentan generalmente problemas de emergencia o brotación o muchas veces manifiestan dificultades en su desarrollo.

Por otra parte SELMARE *et al.* (1992), observaron que muchas veces *D. dipsaci*, no alcanzaba a provocar sus efectos sobre los brotes, porque el desarrollo de los bulbos infectados generalmente es muy lento o insuficiente, incluso después de varias semanas.

Tal como se indicó en el capítulo de Material y Método, los bulbos de ajo y chalota utilizados en el ensayo, se sometieron a análisis nematológicos. Los resultados de dichos análisis demostraron la ausencia de nemátodos en los bulbos. No obstante, autores como (TAPIA, 1984 y MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999) indican que frecuentemente los análisis nematológicos realizados a los bulbos no logran detectar la presencia del nemátodo en ellos, debido a que se encuentran en muy bajo número o en estado de huevo y eventualmente los análisis realizados no son los correctos.

Por su parte WINDRICH (1985) y también WINDRICH (1986), afirma que cuando el estado de JIV se mantiene en anhidrobiosis el tratamiento de bulbos infectados aún con nemátodos no siempre es efectivo, logrando luego el nemátodo reactivarse y de esta forma ocasionar severas mermas en la emergencia de éstos. Por otra parte como la revisión bajo microscopio, no siempre es suficiente para asegurarse la ausencia del nemátodo, eventualmente las plantas utilizadas como testigos en este ensayo pudieron encontrarse infectadas. Así es muy probable que algunos bulbos hayan tenido presente al nemátodo, los cuáles al encontrarse bajo un suelo estéril, encontraron condiciones favorables y sin competidores para su desarrollo y posterior infección de plantas.

El resumen del efecto del nemátodo sobre la emergencia para cada una de las especies vegetales, 30 días desde siembra, es posible apreciarlo en la Figura 1.

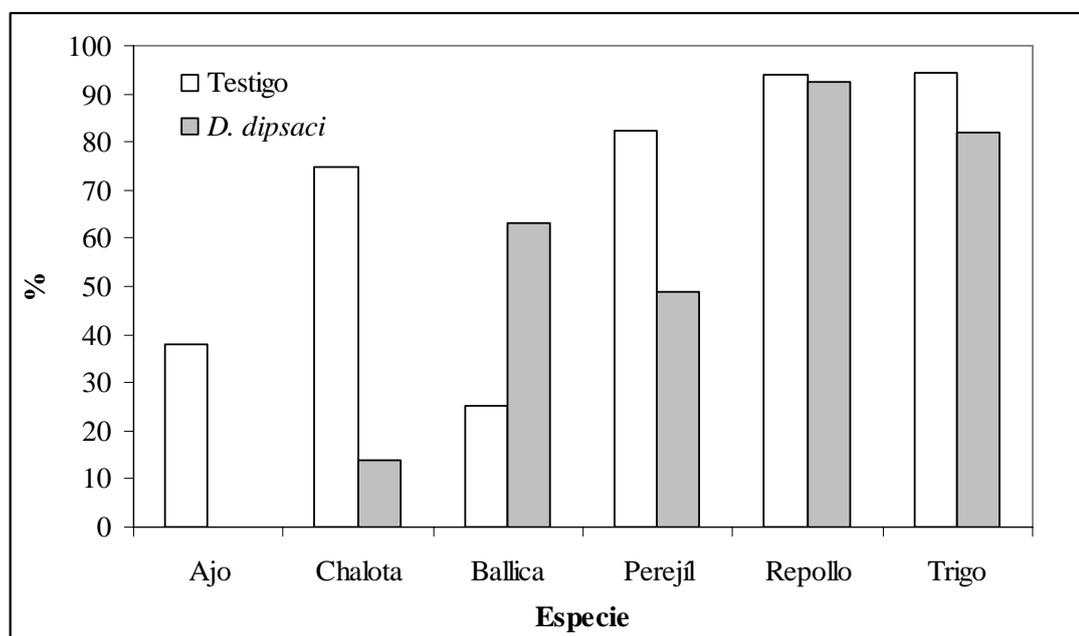


FIGURA 1 Efecto de la presencia de *Ditylenchus dipsaci* en el sustrato sobre el porcentaje de plantas emergidas (30 días desde siembra).

De los resultados presentados anteriormente, es posible concluir, que el nemátodo afectó en menor proporción a la emergencia de la ballica y repollo.

La especie vegetal que mostrò ser más susceptible a lo largo del período del ensayo en cuanto a la emergencia de sus semillas, fue trigo. Además, de ésta especie, en plantas de ajo se aisló el mayor número de nemátodos como se verá en el punto 4.1.4.

4.1.2 Altura de plantas. En el Cuadro 14 se muestran los resultados registrados como promedio de altura para todas las especies analizadas en este ensayo, e indican un valor promedio de 5,99 cm para aquellas plantas establecidas bajo suelo estéril; y de 8,92 cm, para aquellas bajo el suelo infestado con el nemátodo.

CUADRO 14 Efecto de la infestación de *Ditylenchus dipsaci* en la altura promedio de plantas de semilla y bulbos.

Sustrato	Altura promedio de plantas (cm)
Suelo estéril	5,99 a
Suelo infestado	8,92 b
D.H.S	2,92*

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

El análisis de varianza de los datos, indica que hubo diferencias estadísticas significativas en los valores de la altura. De acuerdo a estos resultados, las plantas desarrolladas sobre suelo estéril obtuvieron menor altura final que aquellas cultivadas sobre suelo infestado. Este resultado pudo ser consecuencia de la esterilización a la que fue sometido el sustrato sobre el cuál se establecieron estas especies y además, cabe señalar que el retraso en la emergencia de las plantas bulbosas influyó en el análisis estadístico, haciendo más abultada la diferencia entre tratamientos.

Este resultado no es un caso aislado, ya que en otros ensayos, como el efectuado por MANSILLA *et al.* (1987) en España en cultivos de ajo, se obtuvieron plantas con menor desarrollo en los tratamientos testigos, producto que el nemátodo ya se encontraba originalmente en los bulbos y/o la desinfección del suelo no fue suficiente como para evitar el desarrollo posterior del nemátodo en los tratamientos testigos.

Por otra parte, el mayor desarrollo experimentado por las plantas sobre suelo infestado, pudo ser al contrario, efecto de la hipertrofia de tejidos que causa el nemátodo, tal como señalan autores como (BRUNA y GUIÑEZ, 1980; CELETTI *et al.*, 2000 y SAAD, 2001).

Goodey (1948), citado por BLAKE (1962), afirma que en tejidos infectados por *D. dipsaci* se liberan auxinas, lo cuál causaría un alargamiento y/o crecimiento celular. Esto posteriormente se traduciría en un mayor desarrollo o altura de la planta

atacada, lo cuál concuerda con los resultados generales obtenidos en esta parte del ensayo.

Finalmente a lo señalado anteriormente, se agrega lo indicado por Nolte (1952) y Krusberg (1960), citados por BLAKE (1962), quiénes agregan que es posible encontrar en plantas gramíneas como la avena principalmente, una mayor cantidad de aminoácidos como el triftófano en tejidos infestados que en sanos, lo cuál se traduciría en un mayor desarrollo de las estructuras que lo poseen. Esto no concordaría con lo observado en trigo específicamente, ya que esta especie, fue una de las más afectadas ante la presencia del nemátodo en sus estructuras.

Los resultados sobre la influencia de *D. dipsaci* en altura de plantas de las distintas especies se presentan a continuación.

Las plantas de ballica desarrolladas en suelo infestado presentaron una altura superior a aquellas plantas cultivadas en suelo esterilizado.

Esta altura final a la tercera medición, fue para las plantas testigos de 18,7 cm y para las infectadas de 20,3 cm, no encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 15). Estos resultados difieren de lo afirmado por TACCONI y AMBROGIONI (1995), quiénes demostraron que especies gramíneas son afectadas por el nemátodo, especialmente en lo que a su tamaño respecta.

CUADRO 15 Altura final (cm) de plantas de ballica.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
10	0,0 a	4,6 b
25	6,0 a	9,7 b
60	18,7 a	20,3 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

En cuanto a perejíl, las plantas desarrolladas sobre suelo infestado también alcanzaron una mayor altura, que aquellas establecidas sobre suelo estéril. La altura

final a la tercera medición, no mostró diferencias significativas a los 30 días entre los tratamientos (Cuadro 16).

CUADRO 16 Altura final (cm) de plantas de perejil.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
10	0,0 a	1,54 b
25	0,0 a	2,38 b
60	4,57 a	5,01 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey $>0,05$.

A pesar de no existir diferencias en cuanto a la altura (GENTZSCH, 1999), señala que este cultivo puede ser muy dañado por la presencia del nemátodo en un suelo cultivado con esta especie, disminuyendo la producción drásticamente por un pobre crecimiento de su parte aérea.

En repollo (Cuadro 17), se aprecia que la altura de las plantas fue similar los primeros 25 días de desarrollo, sin embargo, a los 30 días las plantas cultivadas en suelo infestado con el nemátodo desarrollaron una mayor altura.

Tal como se indicó anteriormente, el nemátodo no incidió sobre la altura final de esta especie, pero sí causó ligeras distorsiones foliares. Lo anterior concuerda con lo descrito por (HOOPER, 1991 y ESCUER, 1998), quienes basados en sus observaciones señalan que uno de los principales síntomas en el área foliar son las distorsiones o enrollamientos.

CUADRO 17 Altura final (cm) de plantas de repollo.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
10	2,43 a	2,20 a
25	3,44 a	3,99 a
60	6,27 a	7,23 b

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey $>0,05$.

Para el caso del trigo, la altura de las plantas sobre suelo infestado fue mayor que la de los testigos durante todas las evaluaciones. Específicamente durante la primera medición, las primeras duplicaron a las testigos al cabo de 10 días de desarrollo, 13,2 y 6,3 cm respectivamente. Esta situación se mantuvo inalterada hasta la tercera medición (60 días desde siembra), en la cuál las plantas sanas sobrepasaron en altura a aquellas establecidas sobre suelo infestado (Cuadro 18).

Es posible que el nemátodo haya ejercido un efecto negativo en el sistema radical de las plantas infestadas, lo cuál incidió en la altura de las plantas después de 60 días desde la siembra. Tal afirmación se basa en las investigaciones de (WHITEHEAD *et al.*, 1983; TACCONI y AMBROGIONI, 1995 y HYPP ZOOLOGY, 2001), quiénes indican que la presencia del nemátodo en la zona radicular incide directamente en un menor tamaño y desarrollo de las plantas afectadas.

CUADRO 18 Altura final (cm) de plantas de trigo.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
10	6,3 a	13,2 b
25	14,6 a	29,8 b
60	30,2 b	28,8 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

Los resultados anteriores concuerdan con los obtenidos por (WHITEHEAD *et al.*, 1987), quiénes afirman, basados en sus ensayos, que *D. dipsaci*, produce en cereales como avena y trigo, daños en el tallo y base de las hojas, deformando éstas últimas y necrosándolas, lo cuál disminuye la altura que debiera alcanzar normalmente la planta.

En lo que respecta a las especies bulbosas, ajo tuvo un desarrollo en altura mínimo a lo largo del período de evaluación del primer ensayo, mostrando recién pasados los 30 días desde plantación el primer indicio de brotación en las plantas testigos; las cuáles alcanzaban sólo 1,5 cm en promedio. Las plantas sobre suelo

infestado no brotaron durante el período de evaluación. Esto incidió en los resultados de promedios presentados a continuación (Cuadro 19).

CUADRO 19 Altura final (cm) de plantas de ajo.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
10	0,0 a	0,0 a
25	0,0 a	0,0 a
60	1,5 b	0,0 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey $>0,05$.

Los resultados observados se complementan a lo señalado por BRUNA y GUIÑEZ (1980), quienes afirman que junto a una lenta brotación, *D. dipsaci* produce acortamiento de tallos, decoloración y enrollamiento de hojas en plantas de ajo, aún en sus primeros estados de desarrollo. Esto merma directamente la altura de las plantas de ajo.

En el caso de la chalota, ésta tuvo un mayor desarrollo en altura que ajo y en general fue mayor en aquellas plantas cultivadas sobre suelo infestado con *D. dipsaci*.

Sin embargo, el análisis estadístico indica que la evolución de la altura de las plantas en suelo estéril en la última medición, no presentó diferencias significativas con el tratamiento infestado, tal como lo indica el Cuadro 20.

CUADRO 20 Altura final (cm) de plantas de chalota.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
10	0,0 a	0,0 a
25	0,0 a	8,2 b
60	14,0 a	22,0 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey $>0,05$.

Según MANSILLA *et al.* (1987), una alta población de *D. dipsaci* en el tejido de plantas bulbosas, produce en las plantas un sistema radicular poco desarrollado y hojas deformadas.

4.1.3 Peso fresco de plantas. Los resultados de peso fresco para las especies establecidas en este ensayo sólo consideran aquellas provenientes de semilla (ballica, perejil, repollo y trigo), ya que como se indicó antes, las provenientes de bulbos, chalota y ajo principalmente, no alcanzaron un desarrollo suficiente como para evaluar este parámetro. En el Cuadro 21, se muestran los valores promedios de peso fresco de éstas especies.

CUADRO 21 Peso promedio de plantas provenientes de semilla, en suelo estéril y en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Sustrato	Peso fresco (g)
Suelo estéril	0,55 a
Suelo infestado	0,55 a
D.H.S	0,006

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

En este ensayo no se evaluó el peso seco de las plantas, porque éstas se utilizaron para los análisis nematológicos, los cuáles abarcan las plantas enteras.

El análisis de varianza de los datos, indica que no existió diferencia significativa en el peso fresco, entre las especies de semilla cultivadas en el suelo estéril y el suelo infestado, resultados que se contraponen con los obtenidos por VENTER y MELLER (1991), quienes indican que altas densidades de nemátodos del género *Ditylenchus*, disminuyen el peso de raíces, sección aérea e incluso semillas de muchas especies vegetales, lo que finalmente provoca un menor peso en las plantas desarrolladas.

Los resultados por especie, indican para el caso particular de ballica, que el peso fresco de esta especie en general fue bastante similar en las plantas sometidas a

ambos tratamientos, ya que en las tres evaluaciones no hubo mayores diferencias entre las plantas cultivadas sobre suelo estéril y aquellas cultivadas sobre suelo infestado (Cuadro 22). Sin embargo, este resultado no concuerda con los obtenidos por (TACCONI y AMBROGIONI, 1995), quienes señalan que especies gramíneas, incluyendo la ballica, sufren bajas en el peso de sus plantas desarrolladas en suelo infestado con *D. dipsaci* y bajo condiciones de temperaturas moderadas.

CUADRO 22 Peso fresco (g) de plantas de ballica cultivadas en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
30	0,02 a	0,02 a
60	0,03 a	0,03 a
90	0,79 a	0,84 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

En perejil, durante la primera evaluación, las plantas testigos tuvieron pesos frescos significativamente mayores, sin embargo, en la segunda evaluación a pesar de la fluctuación a favor de las plantas sobre suelo infestado, no hubo diferencias. Finalmente, transcurridos 90 días desde la siembra tampoco hubo diferencias significativas a favor de las plantas en suelo infestado (Cuadro 23), lo cual indica que *D. dipsaci*, no influyó sobre el peso fresco de esta especie.

Los resultados anteriores sumado a lo observado en altura para esta especie, indicarían en primera instancia que esta especie no sería afectada por el nemátodo, sin embargo, estas conclusiones no concordarían con lo observado por (GENTZSCH, 1999 y CELETTI, 2000), quienes concluyeron de sus observaciones, que esta especie desarrollada sobre suelo con una gran incidencia del nemátodo sufre severos daños que hacen mermar drásticamente su producción. Uno de los síntomas más notorios sería el menor tamaño y peso fresco de las plantas cosechadas.

CUADRO 23 Peso fresco (g) de plantas de perejil cultivadas en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
30	0,04 a	0,03 b
60	0,13 a	0,16 a
90	0,29 a	0,31 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

Para el caso de repollo, el peso fresco para esta especie en particular, no presentó diferencias significativas a lo largo del período de evaluación de este parámetro, tal como lo indica el Cuadro 24. Esto concuerda con el tamaño y desarrollo similar, alcanzado por las plantas de ambos tratamientos. Sin embargo, a pesar de que repollo sufre algún daño, dependiendo del tipo de suelo y nivel de infestación del nemátodo en éste, su peso fresco no sería tan gravemente afectado, tal como lo indica (HYPP ZOOLOGY, 2001).

CUADRO 24 Peso fresco (g) de plantas de repollo cultivadas en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
30	0,19 a	0,18 a
60	1,03 a	0,81 a
90	1,39 a	1,47 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

En el caso del trigo, a lo largo de todo su desarrollo, éste exhibió un peso que tampoco presentó diferencias significativas en las fechas evaluadas (Cuadro 25). Sin embargo, según (GODDEY y HOOPER, 1962, ESCUER, 1998 y HYPP ZOOLOGY, 2001), cereales como avena, y específicamente trigo, serían fuertemente dañados por el nemátodo, perdiendo masa radicular y aérea producto de la necrosis, por ende el peso sería directamente disminuido bajo estas condiciones.

CUADRO 25 Peso fresco (g) de plantas de trigo en suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci*.

Días desde siembra	Testigo	Suelo infestado
30	0,21 a	0,24 a
60	0,53 a	0,50 a
90	1,71 a	1,70 a

Letras distintas en la fila denotan diferencia estadística Tukey >0,05.

Finalmente cabe señalar, que la susceptibilidad de las especies no se reflejó en una disminución del peso fresco. Esto, sumado a la evaluación de altura, demuestra que aún después de 60 días desde la siembra, *D. dipsaci*, no ejerció disminuciones significativas en los parámetros de desarrollo de las plantas evaluadas en este ensayo.

4.1.4 Presencia de *D. dipsaci* en plantas. En el Cuadro 26 se aprecia que transcurridos 30 días desde siembra se observó al nemátodo en las plantas de repollo y trigo, mientras que a los 60 días se detectó también en ballica y recién transcurridos 90 días se detectó en ajo. En chalota no se detectó su presencia al igual que en perejil.

Las poblaciones del nemátodo en estas especies fueron muy variables, lo cuál coincide principalmente con el desarrollo en masa vegetal de las especies. En general, se presentó en mayor cantidad a los 30 días desde siembra en las especies que más rápido emergieron y que mayor desarrollo vegetativo mostraron en ese momento (trigo y repollo principalmente). Este comportamiento se mantuvo similar en la segunda evaluación. Sin embargo, en la última esto varió y se presentó en mayor cantidad en ajo ya que recién en este período emergió. Además, en ese instante (90 días desde siembra), las especies gramíneas (ballica y trigo principalmente), mostraron un claro decaimiento vegetativo.

Cuadro 26 Número promedio de individuos de *Ditylenchus dipsaci* recuperados por planta.

Especie	Días desde siembra		
	30	60	90
Ajo (Bulbo)	0	0	298
Chalota	0	0	0
Ballica	6	7	2
Perejíl	0	0	0
Repollo	20	23	20
Trigo	370	226	4

El recuento final, realizado a los 30 días desde siembra y plantación, mostró que *D. dipsaci* se presentó principalmente en el sector radical de ballica, trigo y repollo (Figura 2), esto se debe a que el nemátodo se disemina en las plantas inicialmente por este tipo de estructura, tal como lo señala (BRUNA y GUIÑEZ, 1980).

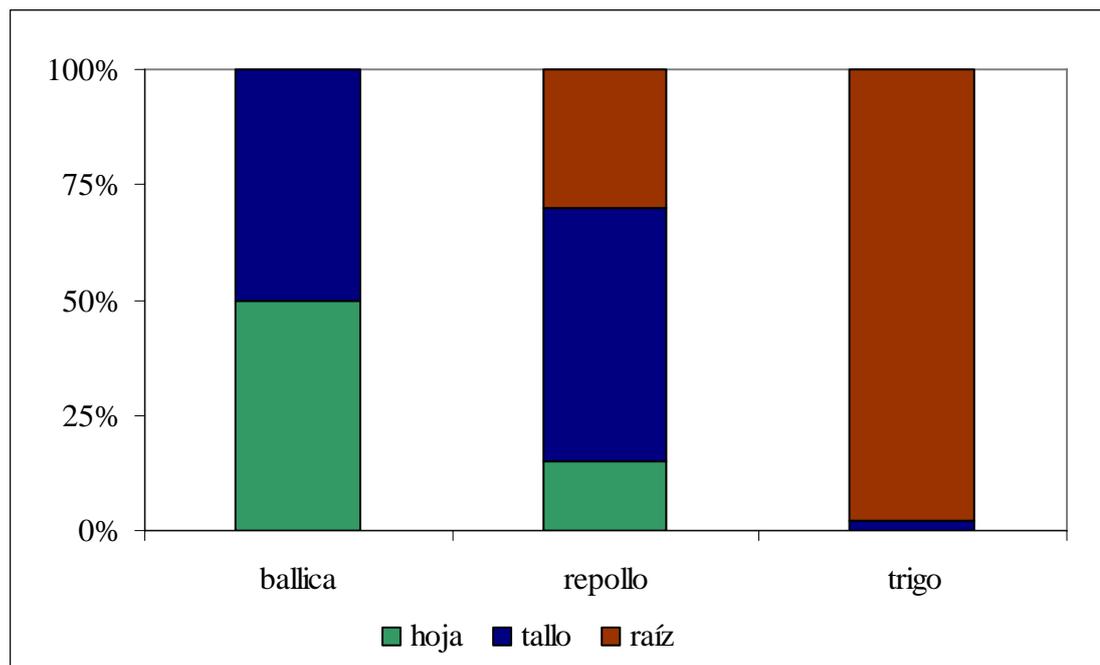


FIGURA 2 Distribución porcentual de individuos de *Ditylenchus dipsaci* presentes por sección de tejido vegetal en plantas, a los 30 días desde siembra.

Por otra parte, en plantas gramíneas emparentadas como ballica y trigo, el nemátodo afectó en forma diferente el tejido, presentándose en mucha mayor cantidad en esta última, especialmente en su sector radical. En la parte aérea de trigo (tallo y hojas), la presencia de *D. dipsaci* fue porcentualmente mucho menor que en ballica tal como lo indica la Figura 2. Estas diferencias entre plantas ligadas botánicamente, coinciden con lo señalado por TENENTE (1996), quién señala que las diferentes razas del nemátodo influyen en la patogenicidad dentro de una misma especie, incluso entre cultivares de una misma.

Además, GOODEY y HOOPER (1962) obtiene resultados similares, concluyendo que cereales como avena y trigo son principalmente dañados en su parte radical.

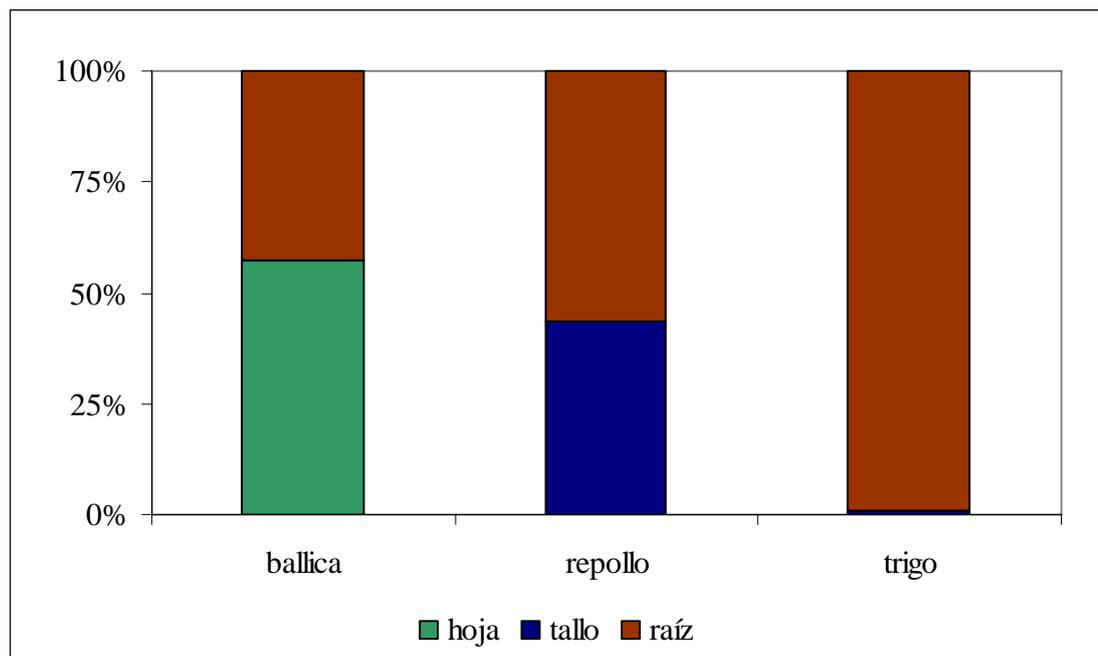


FIGURA 3 Distribución porcentual de individuos de *Ditylenchus dipsaci* presentes por sección de tejido vegetal en plantas, a los 60 días desde siembra.

Como muestra la Figura 3, en la segunda evaluación nematológica, la presencia del nemátodo en la parte radical de las plantas se hizo más acentuada, ya que las plantas de repollo y ballica incrementaron su grado de infestación a diferencia de lo visualizado a los 30 días desde la siembra.

Esta tendencia observada es una conducta normal del nemátodo, ya que (ROBERTS y MATHEWS, 1995 y SUBBOTIN *et al.*, 2000), señalan que *D. dipsaci* es un parásito que luego de infectar y dañar los tallos y hojas basales de las plantas afectadas, se propaga al resto de los tejidos junto con el crecimiento de estos, cosa que ocurrió durante este período.

Para el caso del trigo, en que *D. dipsaci* infectó casi exclusivamente las raíces de las plantas, los principales daños se reflejaron a través de síntomas en su sección aérea tales como deformaciones en hojas, acortamiento de entrenudos, y además una disminución de la altura de las plantas.

Esto se contrapone a lo señalado por HYPP ZOOLOGY (2001), quién indica que en trigo no son comunes estos síntomas y que el nemátodo rara vez ataca severamente a este cereal.

Sin embargo, los síntomas descritos anteriormente según (HOOPER, 1972 e INSUNZA y VALENZUELA, 1995), son producto de que *D. dipsaci* afecta la epidermis del tejido aéreo y subterráneo, afectando por lo tanto el normal desarrollo y función de estructuras como la raíz. Además, la desorganización de tejidos aéreos y radicales se deben a la secreción predigestiva que realiza el nemátodo antes de alimentarse, ya que posee enzimas que afectan los compuestos pécticos de la lámina media del hospedero (PERRY y WRIGHT, 1998). Por ende, se produce flacidez, ablandamiento, separación de las células y formación de cavidades (SEINHORST, 1956 y BLAKE, 1962).

En la última evaluación (90 días desde siembra), producto del mayor desarrollo alcanzado por las plantas, disminuyó el porcentaje de presencia del nemátodo en las estructuras radicales, y aumentó en las hojas, como fue el caso de la ballica, la cuál presentó decoloraciones y adelgazamiento de sus hojas. Los resultados concuerdan con las conclusiones obtenidas de sus experimentos, por parte de (WHITEHEAD *et al.*, 1987), quienes concluyen que el daño causado por el nemátodo en las estructuras de plantas susceptibles es proporcional a la cantidad presente en ellos y a la etapa de desarrollo.

Por otra parte, su presencia se trasladó mayormente al sector aéreo de las plantas de ballica, repollo, trigo y ajo (Figura 4), ya que las tres primeras tenían casi completo su desarrollo vegetativo.

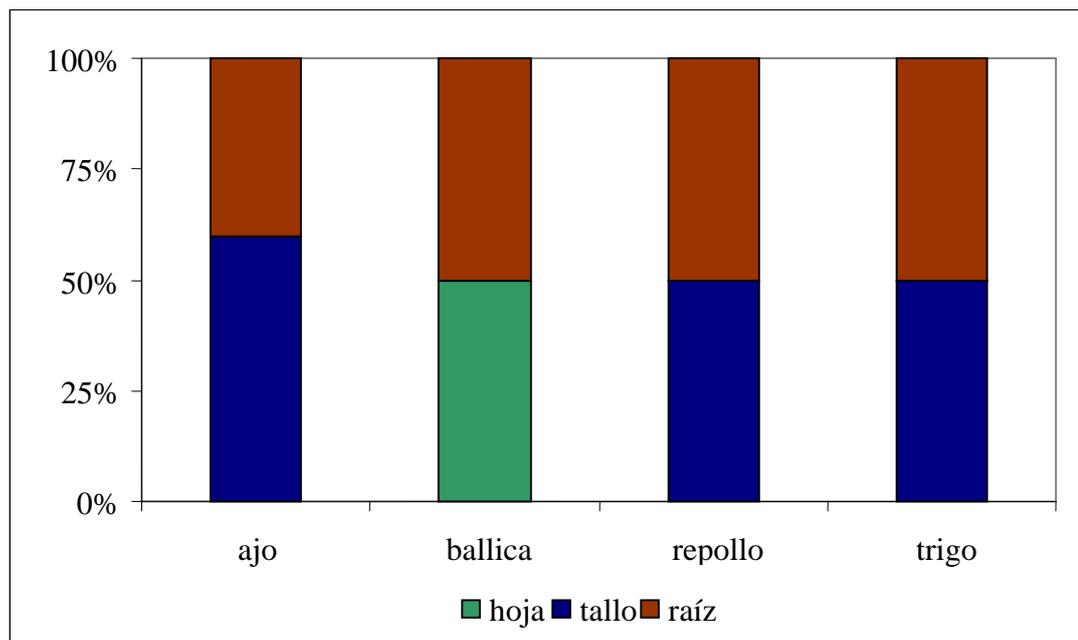


FIGURA 4 Distribución porcentual de individuos de *Ditylenchus dipsaci* presentes por sección de tejido vegetal en plantas, a los 90 días desde siembra.

Para el caso específico del ajo, transcurridos 90 días desde plantación, recién sus plantas mostraron desarrollo aéreo, por lo cuál, sólo en ésta tercera evaluación fue posible evaluar el daño provocado por del nemátodo en las estructuras de esta especie. Los síntomas presentados fueron acortamiento de sus entrenudos y manchas café en base de tallo (Figura 5), los cuáles concuerdan con los descritos para la especie por los autores (KODIRA y WESTRDAHL, 2001).



FIGURA 5 Síntomas de ataque en tallo de ajo por *Ditylenchus dipsaci*. (Necrosis de hojas basales).

Finalmente, en cuanto a la presencia del nemátodo en las estructuras de las plantas, aunque esta varió durante el período de evaluación y luego de analizar todos los datos y observaciones a lo largo de 90 días, el resultado final indicó que *D. dipsaci*, prefirió o se distribuyó principalmente en los tallos de las plantas evaluadas.

4.2 Evaluación de la susceptibilidad de las especies vegetales por medio de la inoculación directa de *D. dipsaci*.

Los resultados entregados a continuación son valores comparativos promedio de las plantas evaluadas, ya que como se mencionó anteriormente, el objetivo de este ensayo era comprobar la susceptibilidad de las plantas inoculadas directamente principalmente mediante observaciones.

Con el fin de comprobar susceptibilidad de especies vegetales, es que existen métodos en los cuáles se cultivan plantas en condiciones asépticas. Posteriormente se les agrega directamente el agente patógeno, en este caso un nemátodo, para verificar

si efectivamente daña estructuras aéreas de las plantas (MERCER y GRANT, 1995 y GRIFFITH *et al.*, 1996).

4.2.1 Respuesta a la inoculación directa de las plantas. En el caso de ajo, este presentó síntomas del ataque del nemátodo en las plantas inoculadas, los cuáles fueron más intensos en la parte subterránea de las plantas que en su parte aérea, sin embargo, las plantas inoculadas alcanzaron un mayor desarrollo en altura aunque su desarrollo vegetativo y peso de bulbos fueron muy similares, tal como lo indica el Cuadro 27

CUADRO 27 Efecto de la inoculación directa de *Ditylenchus dipsaci* en plantas de ajo.

Parámetro	Sin inóculo	Con inóculo
Nº de nemátodos/planta	1	4
Altura planta (cm)	16,9	34,5
Nº plantas/maceta	1,0	1,0
Longitud tallo (cm)	4,0	4,1
Nº hojas/planta	3,0	4,5
Diámetro brotes (cm)	0,6	0,8
Peso bulbos (g)	48,1	44,7

En la evaluación visual de daños efectuada a hojas de las plantas de ajo, el principal síntoma encontrado fue la deformación seguida de una leve decoloración de algunas hojas (Figura 6).



FIGURA 6 Síntoma de deformación y decoloración en hojas de ajo.

En la evaluación sanitaria hecha a los bulbos, se encontró que la planta sin inóculo presentó un aspecto blanco y translúcido tanto en el interior como en el exterior. Sin embargo, en una de las plantas inoculadas se presentó un bulbo con coloración café oscura en su interior y colorada en el exterior, también raíces más delgadas y con aspecto oscuro. Tales síntomas concuerdan plenamente con lo señalado por (ROBERTS y MATTHEWS, 1995), quienes indican que la coloración café oscura en bulbos cosechados junto con la necrosis de las raíces, es una clara señal del ataque de *D. dipsaci*.

En el caso de chalota, la otra especie bulbosa evaluada en este segundo ensayo, ésta no presentó síntomas claros del ataque de *D. dipsaci* en la parte aérea y subterránea de las plantas inoculadas, a pesar de haber detectado su presencia en las revisiones nematológicas. Sin embargo, aunque la planta sin inóculo desarrolló una mayor altura y longitud de tallo, el peso fresco del bulbo al cabo de 30 días fue muy superior en las plantas inoculadas (Cuadro 28).

CUADRO 28 Efecto de la inoculación directa de *Ditylenchus dipsaci* en plantas de chalota.

Parámetro	Sin inóculo	Con inóculo
Nº de nemátodos/planta	0	2
Altura planta (cm)	41,0	35,5
Nº plantas/maceta	1,0	1,0
Longitud tallo (cm)	4,7	4,3
Nº hojas/planta	16,0	19,0
Diámetro brotes (cm)	5,0	5,5
Peso bulbos (g)	18,9	33,5

En cuanto a la evaluación de daño realizada a la parte aérea de las plantas de chalota inoculadas, los síntomas encontrados en las hojas de esta especie al momento de la revisión en mayor proporción fueron respectivamente la deformación y la presencia de gran cantidad de hojas con puntas secas.

El menor desarrollo vegetativo alcanzado por la planta sin inocular, en este segundo ensayo, se contrapone a lo señalado por GOODEY y HOOPER (1962), quienes señalan que altas poblaciones del nemátodo inoculadas directamente, generalmente causan muerte prematura de plantas o grave daño en su desarrollo, cosa que no ocurrió en este caso.

No obstante, el desarrollo en tamaño fue muy similar entre las plantas inoculadas y la sin inocular, tal como lo indica la Figura 7.



FIGURA 7 Desarrollo de plantas de chalota inoculadas con *Ditylenchus dipsaci*.

En ballica la inoculación directa del nemátodo, provocó plantas más débiles, tallos delgados y en general plantas menos vigorosas que las sanas, a pesar de que en altura fueron muy similares, además, el número de hojas desarrolladas fue levemente superior en la planta sin inóculo (Cuadro 29). Los principales síntomas en hojas de aquellas plantas inoculadas fueron las hojas decoloradas y deformadas.

CUADRO 29 Efecto de la inoculación directa de *Ditylenchus dipsaci* en plantas de ballica.

Parámetro	Sin inóculo	Con inóculo
Nº de nemátodos/planta	0	5
Altura planta (cm)	33,9	34,7
Nº de plantas/maceta	4,0	2,3
Longitud tallo (cm)	1,5	1,5
Nº hojas/planta	7,3	5,8
Peso planta (g)	0,41	0,40

El desarrollo de las plantas inoculadas y la sin inocular (Figura 8), discrepa de lo observado por (EVANS *et al.*, 1993), quienes concluyeron de sus observaciones que *D. dipsaci* provoca una notable declinación en el crecimiento y tamaño de esta especie.



FIGURA 8 Desarrollo de plantas de ballica inoculadas con *Ditylenchus dipsaci*

Estos resultados discrepan en parte con lo afirmado por (HYPP ZOOLOGY, 2001), que indica que la ballica no sería tan susceptible al ataque del nemátodo, y que su tamaño no se vería tan afectado, y a la vez se confirman en parte por GOODEY y HOOPER (1962), quienes afirman que especies gramíneas como la ballica, sufren severas mermas en su desarrollo producto de la inoculación directa con el nemátodo, cosa que ocurrió en el presente estudio. Además, se presentarían síntomas tales como necrosis en tallos, hipertrofia de algunos tejidos, deformaciones en raíces, y hojas, esto último fue el síntoma más generalizado aunque se expresó no con la severidad indicada por el autor.

En cuanto a repollo, esta especie presentó el más alto número de nemátodos encontrado en las revisiones nematológicas efectuadas a todas las especies inoculadas directamente, sin embargo, las plantas inoculadas desarrollaron un tallo más largo, lo cuál les permitió alcanzar mayor altura que la planta sin inocular, esto además, se reflejó en un mayor peso de estas plantas comparado con la planta sin inóculo (Cuadro 30). Por su parte, el aspecto general de las plantas inoculadas mostró varias deformaciones en tallos y especialmente en las hojas (Figura 9), donde la presencia de hojas sanas fue casi nula y el número de hojas deformadas muy alto. Tal grado de daño presentado por esta especie en su parte aérea coincide con lo indicado por (HYPP ZOOLOGY, 2001).

CUADRO 30 Efecto de la inoculación directa de *Ditylenchus dipsaci* en plantas de repollo.

Parámetro	Sin inóculo	Con inóculo
Nº de nemátodos	0	32
Altura planta (cm)	8,9	10,1
Nº plantas/maceta	4,0	3,5
Longitud tallo (cm)	1,9	2,6
Longitud pecíolo (cm)	1,8	1,8
Nº hojas/planta	5,8	6,0
Peso planta (g)	0,48	0,60



FIGURA 9 Desarrollo de plantas de repollo inoculadas con *Ditylenchus dipsaci*.

En perejil las evaluaciones de daño efectuadas a esta especie, difieren de las obtenidas durante el primer ensayo, ya que posterior a su inoculación, fue detectado *D. dipsaci* en las estructuras aéreas de las plantas, especialmente hojas (Figura 10). Sin embargo, en cuanto a los parámetros de tamaño y peso, los resultados obtenidos fueron muy similares entre las plantas inoculadas y la sin inocular, así como su aspecto entre las plantas (Cuadro 31).

GENTZSCH (1999), señala sin embargo, que esta especie sometida a una intensa población del nemátodo debiera ser seriamente afectada en su desarrollo, no obstante no indica qué comportamiento presentaría ante la inoculación directa.



FIGURA 10 Desarrollo de plantas de perejil inoculadas con *Ditylenchus dipsaci*

CUADRO 31 Efecto de la inoculación directa de *Ditylenchus. dipsaci* en plantas de perejil.

Parámetro	Sin inóculo	Con inóculo
Nº de nemátodos	0	9
Altura planta (cm)	15,6	14,6
Nº plantas/maceta	4	3,8
Longitud tallo (cm)	0,6	0,94
Longitud pecíolos (cm)	8,8	8,5
Nº hojas/planta	4,8	4,1
Peso planta (g)	0,41	0,40

Finalmente en trigo, los resultados de las evaluaciones demostraron que esta especie es muy susceptible a la presencia del nemátodo en sus estructuras, ya que la inoculación directa de ella provocó plantas más delgadas que la planta sin inóculo, con algunas deformaciones en la base del tallo y una gran cantidad de hojas con puntas secas, decoloradas y deformadas. En cuanto al desarrollo vegetativo de las

plantas, este fue muy parejo, encontrándose diferencias sólo en la longitud de los pecíolos (Cuadro 32), la cuál fue mayor en la planta sin inóculo, no obstante, la altura alcanzada por las plantas inoculadas y la sin inocular fue muy similar (Figura 11).



FIGURA 11 Desarrollo de plantas de trigo inoculadas con *Ditylenchus dipsaci*

CUADRO 32 Efecto de la inoculación directa de *Ditylenchus dipsaci* en plantas de trigo.

Parámetro	Sin inóculo	Con inóculo
Nº de nemátodos	0	10
Altura planta (cm)	41,8	40,5
Nº plantas/maceta	3,0	2,8
Longitud tallo (cm)	0,5	1,1
Longitud pecíolos (cm)	6,5	4,6
Nº hojas/planta	5,0	4,8
Peso planta (g)	0,82	0,81

La severidad del ataque presentada por esta especie durante este segundo ensayo, menor que en el primero, puede explicarse por lo señalado por BLAKE (1962), quién afirma que los síntomas pueden variar dependiendo del número de

nemátodos presentes y de las condiciones de crecimiento. Tal observación concuerda plenamente con el número de nemátodos encontrados en las plantas, menor en este segundo ensayo y con las condiciones de desarrollo que tuvieron, ya que su crecimiento transcurrió principalmente dentro de cámaras de vidrio.

4.2.2 Presencia del nemátodo en las plantas inoculadas. En este segundo ensayo, las plantas en las cuáles se aisló y observó el mayor número de nemátodos, fueron repollo y trigo respectivamente. Por su parte ajo y ballica, especies en las cuáles se encontró un menor número de *D. dipsaci*, que las especies anteriormente señaladas, desarrollaron mayor cantidad de síntomas en su parte aérea causados por el nemátodo, además de la pudrición de bulbos en el caso de ajo.

Finalmente, la Figura 12, indica porcentualmente los principales síntomas que provocó el nemátodo en las plantas inoculadas durante este segundo ensayo.

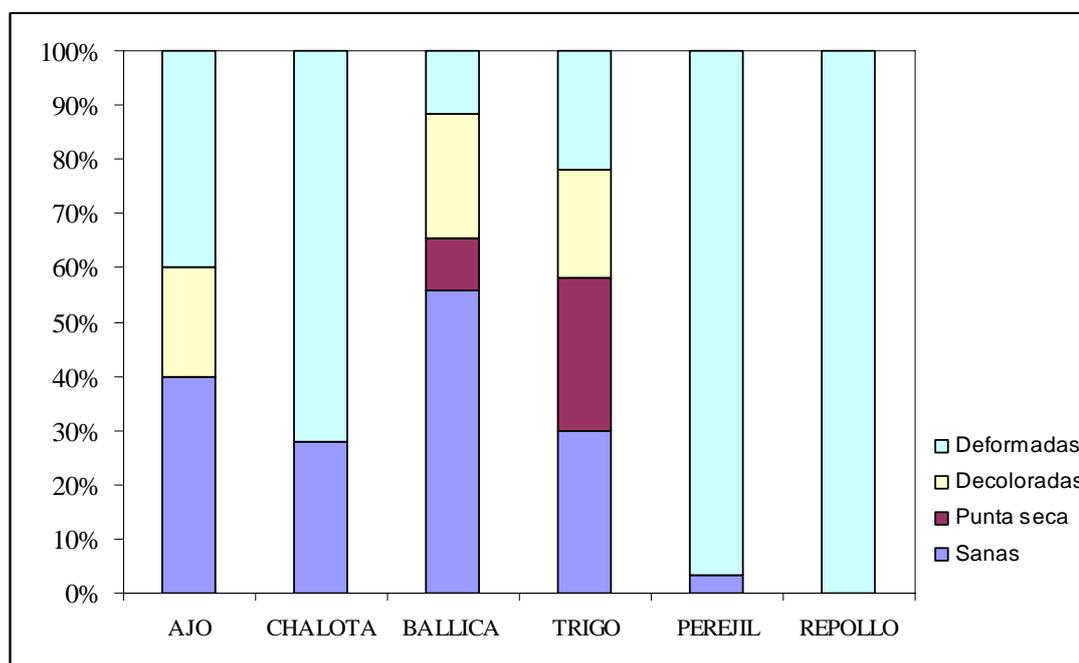


FIGURA 12 Presencia porcentual de síntomas en hojas de plantas inoculadas directamente.

5 CONCLUSIONES

Se rechaza la hipótesis, ya que ninguna de las seis especies vegetales cultivadas bajo un suelo naturalmente infestado con *D. dipsaci* demostró no ser susceptible en algún grado, cuestión que posteriormente se comprobó con la inoculación directa del nemátodo en sus estructuras aéreas.

D. dipsaci, no afectó de manera significativa el peso fresco ni la altura de las especies cultivadas en suelo naturalmente infestado.

D. dipsaci, infestó principalmente el tejido radical de ajo y trigo, lo cuál se comprobó en las tres evaluaciones nematológicas efectuadas a las plantas infectadas.

D. dipsaci, comenzó siempre su infección en la zona radical de las plantas y fue extendiéndose al resto de las estructuras aéreas de las plantas a medida que éstas se desarrollaron.

D. dipsaci en general, disminuyó su presencia a medida que las plantas aumentaron su desarrollo, ya que la relación del nemátodo por gramo de tejido vegetal, decreció para todas las especies.

Repollo y trigo respectivamente, presentaron el mayor número de *D. dipsaci* en sus estructuras aéreas producto de la inoculación directa, durante el segundo ensayo.

Ajo y ballica a pesar de presentar una menor presencia de *D. dipsaci* en sus estructuras aéreas mostraron durante el segundo ensayo una alta susceptibilidad a la presencia del nemátodo, lo que se reflejó en bulbos deformados con pudrición incluyendo sus raíces. En el caso de ballica, gran cantidad de hojas y tallos con deformaciones.

La inoculación directa de perejil, causó deformaciones en sus hojas, indicando que poseería cierto grado de susceptibilidad al ataque de *D. dipsaci*.

La comparación entre especies bulbosas concluyó que ajo es más susceptible que chalota al ataque de *D. dipsaci*.

6 RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivos, evaluar conocer la respuesta a *Ditylenchus dipsaci* de seis especies vegetales (*Allium ampeloprasum* L., *Allium cepa* var. *ascalonicum* L., *Lolium perenne* L., *Petroselinum hortense* L., *Brassica oleraceae* L., *Triticum aestivum* L.) cultivadas en un suelo infestado naturalmente con el nemátodo y posteriormente, en un segundo ensayo, se procedió a confirmar la susceptibilidad a *D. dipsaci* que presentaban las mismas seis especies y confirmarla por medio de la inoculación directa del nemátodo.

El primer ensayo se realizó en macetas de 1 kg conteniendo suelo naturalmente infestado con el nemátodo. Estas fueron mantenidas en una cámara bioclimática con 12 h luz y temperaturas entre 14 – 24° C. El suelo utilizado provino de la localidad de Pelchuquín, y correspondió a un potrero cultivado la temporada anterior con ajo blandino, cultivo que presentó una alta infestación (180 individuos/100 g de suelo). Para los tratamientos testigos se utilizó el mismo suelo, pero esterilizado en autoclave, dando un total de 12 tratamientos.

Durante el ensayo se evaluó periódicamente la emergencia y altura de plantas. Transcurridos 30, 60 y 90 días desde siembra o plantación se evaluó la presencia del nemátodo en el sector radical y aéreo (tallo y hojas) de las plantas, procesando cada sección por el método de Whitehead STIRLING *et al.* (2002). El reconocimiento y recuento de los individuos presentes se realizó bajo microscopio. Los resultados obtenidos se sometieron a análisis de varianza y posterior Test de Tukey (5%).

Posteriormente en un segundo ensayo cada especie se sembró en suelo estéril y cuando las plantas tenían el primer par de hojas verdaderas se procedió a inocularlas en la inserción de éstas con una suspensión de 250 *D. dipsaci*/mL

De acuerdo a los resultados obtenidos *D. dipsaci* afectó la emergencia de ajo, chalota, ballica, trigo y perejíl. Sin embargo, en las tres evaluaciones nematológicas realizadas posteriormente a las plantas se comprobó que el nemátodo no infectó perejíl, por lo que la menor emergencia de las plántulas se debió a factores externos.

Para el caso de los parámetros de altura y peso fresco de las plantas, *D. dipsaci* no afectó significativamente a las plantas, a pesar de que un gran número de individuos fueron posteriormente aislados en plantas de ajo, repollo y trigo.

Finalmente, producto de la inoculación directa, el mayor número de nemátodos se encontró en plantas de repollo y trigo, lo cuál coincide con los resultados obtenidos durante su desarrollo sobre suelo naturalmente infestado. Perejil presentó cierto grado de susceptibilidad al ataque por parte del nemátodo. Para el caso de los síntomas, las hojas de trigo, repollo, ballica y ajo, fueron las especies que mayor cantidad de ellos mostraron, siendo la deformación y la decoloración lo más comunes.

En base a lo anterior, se concluyó que trigo y ajo fueron las especies que mayor susceptibilidad presentaron a *D. dipsaci*, a lo largo del estudio realizado.

SUMMARY

The goal of this investigation was to evaluate the response of six cultivated species (*Allium ampeloprasum* L., *Allium cepa* var. *ascalonicum* L., *Lolium perenne* L., *Petroselinum hortense* L., *Brassica oleraceae* L. and *Triticum aestivum* L.) to *Ditylenchus dipsaci*, cultivated in soil naturally infested with the nematode. In a second experiment, the same six species were tested to confirm their susceptibility when they are directly inoculated with the nematode.

The first trial was conducted in pots containing 1 kg of naturally infested soil with *D. dipsaci*. The pots were then incubated in a bioclimatic chamber with a photoperiod of 12 and a temperature of 14 – 24° C. The soil was collected in Pelchuquín and was cultivated the previous season with *A. ampeloprasum* L. the crop showed a high infestation rate (180 nematodes/100 g of soil). For the control, the same soil was used but it was sterilized in an autoclave, giving a total of 12 treatments.

The emergence and the height of plants were evaluated periodically during the research. At 30, 60 and 90 days after seeding or planting, the presence of *D. dipsaci* in the root and foliar zone was recorded. The plant pieces were processed using the Whitehead method (STIRLING *et al.*, 2002). The examination and counting of the individuals was done by microscope and the data were submitted to analysis of variance and Tukey test for $\alpha = 0.05$.

In a second experiment each plant was sowed in sterile soil and inoculated with 250 *D. dipsaci*/mL suspension when they had two expanded leaves. 30 days after inoculation the height, weight, symptoms and the presence of *D. dipsaci* in plants were evaluated.

The results indicated that *D. dipsaci* affected the emergence of garlic, shallot, ryegrass and parsley. However, in the three nematological evaluations it was observed that *D. dipsaci* did not infect parsley, so that the lower emergence must have been caused by external factors.

D. dipsaci did not affected the height or fresh weight of the six plant species used in the study. However, the highest number of individuals was found in garlic, wheat and cabbage.

Finally, with direct inoculation, the highest number of nematodes was found in cabbage and wheat plants. These results coincide partially with those obtained during the first trial, although parsley did show some grade of susceptibility to the nematode attack. Wheat, ryegrass, cabbage and garlic presented the greatest number of symptoms, with leaf deformation and discoloration in highest proportion.

In conclusion, it was found that wheat and garlic were the most susceptible crop to *D. dipsaci*.

7 BIBLIOGRAFIA

- ANDRES, M. y LOPEZ-FANDO, S. 1996. Effect of granular nematicide applications on the population density of *Ditylenchus dipsaci* in garlic. *Nematropica (USA)* 26 (2): 167-170.
- BAICHEVA, O., BUDUROVA, L. y KIRILOVA, G. 1998. On the intraspecies variability and morphometric of *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filipjev, 1936. *Experimental Pathology and Parasitology (Bulgary)* 1: 3-7.
- BARRACLOUGH, R. and BLACKITH, R. 1962. Morphometric relationships in the genus *Ditylenchus*. *Nematologica (England)* 8: 51-58.
- BARRET, J. and BUTTERWORTH, P. 1985. DNA stability in the anabiotic fourth-stage juveniles of *Ditylenchus dipsaci* (Nematoda). *Annals Applied of Biology (England)* 106: 121-124.
- BLAKE, C. 1962. The etiology of tulip-root disease in susceptible and in resistant varieties of oats infested by the stem nematode, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. *Annals Applied Biology (England)* 50: 703-722.
- BOLTON, C., DE WAELE, D y BASSON, S. 1990. Comparison of two methods for extracting *Ditylenchus destructor* from hulls and seeds of groundnut. *Revue Nematology (Francia)* 13(2): 233-235.
- BRUNA, A. y GUIÑEZ, A. 1980. Identificación del nemátodo del tallo y de los bulbos, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev y porcentaje de infestación en ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.). *Agricultura Técnica (Chile)* 40(4): 137-143.

- CELETTI, M. CLARK, T. y POTTER, J. 2000. Bulb and Stem Nematode in Onions and Carrots (On line). Ministry Of Agriculture, Food and Rural Affairs. <<http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/crops/facts/00-043.htm>>. (3 Mayo 2002).
- CHITWOOD, D. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Annual Review of Phytopathology (USA) 40:221-249.
- COOK, R. MIZEN, K.A. PLOWRIGHT, R.A. y YORK, P.A. 1992. Observations on the incidence of plant parasitic nematodes in grassland in England and Wales. Grass and Forage Science (England) 274-279.
- ESCUER, M. 1998. Nemátodos del género *Ditylenchus* de interés fitopatológico. Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas (España) 24: 773-786 .
- ESQUIBET, M., BEKAL, S., CASTAGNONE - SERENO, P., GAUTHIER, J.P., RIVOAL, R. y CAUBEL, G. 1998. Differentiation of normal and giant *Vicia faba* populations of the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*; agreement between RAPD and phenotypic characteristics. Heredity (USA) 82 (3): 291-298 .
- ESQUIBET, M. GRENIER, E. PLANTARD, O. ANDALOUSSI, F. y CAUBEL, G. 2003. DNA polymorphism in the stem nematode *Ditylenchus dipsaci* development of diagnostic markers for normal and giant races. Genome (USA) 46 (6): 1077-1083.
- EVANS, K., TRUGDILL, D.L. y WEBSTER, J.M. 1993. Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Cambridge (England) CAB International. 631p.
- FERRIS, H. 2004. *Ditylenchus dipsaci*. (On Line). Department of Nematology. University of California Davis <<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Taxadata/G042S1.HTM>>. (2 octubre 2004).

- FRANCO, J. 1982. Apuntes de FAO, para Curso de Inspectores del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) en Chile. Roma, (Italia) 110p.
- GENTZSCH, D. 1999. Stem nematode in celery – infection area mapped out. *Gemüse Munchen (Germany)* 35(3): 166.
- GOODEY, J. y HOOPER, D. 1962. Observations on the attack by *Ditylenchus dipsaci* on varieties of oats. *Nematologica (USA)* 8: 33-38.
- GRIFFITH, G., COOK, R. y MIZEN, K. 1996. *Ditylenchus dipsaci* infestation of *Trifolium repens*. II. Dynamics of infestation development. *Journal of Nematology (USA)* 29(3): 356-369.
- GRIFFITH G. COOK, R. y MIZEN K. 1999. Effects of temperature on stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) infestation of white clover (*Trifolium repens*) swards. *Nematology (USA)* 1 (4): 415-420.
- GUIÑEZ, .A. 1991. Control del nemátodo del tallo y de los bulbos, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev, en cultivo de ajo (*Allium sativum*). *Agricultura Técnica (Chile)* 51(3): 233-236.
- HANKS, G. 1995. Prevention of hot-water treatment damage in narcissus bulbs by pre-warming. *Journal of Horticultural Science (England)* 70(2): 343-355.
- HOOPER, D.J. 1972. *Ditylenchus dipsaci*. CIH Descriptions of Plant-parasitic nematodes, St Albans, England. Commonwealth Institute of Helminthology Set 1 N° 14.
- HOOPER, D.J. 1991. Stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) a pest of faba beans (*Vicia faba*). *Aspects of Applied Biology (USA)* 27(3): 143-149.

- HYPP ZOOLOGY. 2001. *Ditylenchus dipsaci* Filipjev. Stem nematode. (On Line).
In: Insitute National de la Reserche Agronomique (Inra) (21 agosto 2001).
- INSUNZA, V. y VALENZUELA, A. 1995. Control of *Ditylenchus dipsaci* on garlic (*Allium sativum*) with extracts of medicinal plants from Chile. *Nematropica* (USA) 25(1): 35-41.
- JANSSEN, G. J. 1994. The relevance of races of *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Flipjev, the stem nematode. *Fundamental and Applied Nematology* (Holland) 17(5): 469-473.
- JULIER, B. GUY, P. CASTILLO-ACUNA, C. GAUBEL, G. ECALLE, C. ESQUIBET, M. FURSTOSS, V. HUYGHE, C. LAVAUD, C. PORCHERON, A. PACROSS, P. And RAYNAL, G. 1996. Genetic variation for disease and nematode resistances and forage quality in perennial diploid and tetraploid lucerne populations (*Medicago sativa* L.). *Euphytica* (Netherlands) 91(5): 241-250.
- KODIRA, U. y WESTERDAHL, B. 2001. Onion and garlic nematodes. (On Line)
In: UC IPM Pest Management Guidelines: Onion/Garlic. <<http://www.Ipm.ucdavis.edu/PGM/r584200111.html>> (5 julio 2001).
- LOPEZ, H. 1989. Palihue-INIA, Nueva variedad de alfalfa (*Medicago sativa*) para la zona centro-norte, resistente al nemátodo del tallo (*Ditylenchus dipsaci*). *Agricultura Técnica* (Chile) 49(1): 4-19.
- MAGUNACELAYA, J.C. y DAGNINO, E. 1999. *Nematología Agrícola en Chile*. Santiago, Universidad de Chile , Serie Ciencias Agronómicas N°2. 282 p.
- MANSILLA, J. MARTINEZ, M.E. y SALVADOR, E. 1987. Análisis nematológico en el cultivo del ajo. *Boletín Sanitario de Plagas* (España) 13: 3-13.

- MERCER, C y GRANT, J.L. 1995. Resistance of the white clover variety G49 and its parents lines to stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*). New Zealand Journal of Agriculture Research. 38: 495-499.
- NETSCHER, C. y SIKORA, A. 1990 Nematode parasites of vegetables. **In:** Luc, M.; Sikora, R.A. y Bridge, J. (eds). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture.). Wallingford, UK . CAB International. 237.283p.
- NOMBELA, G. NAVAS, A y BELLO, A. 1998. Effects of crops rotations of cereals with vetch and fallow on soil nematofauna in Central Spain. Nematologica (USA) 44(1): 63-80.
- PENG, J. y MOENS, M. 2003. Host resistance and tolerance to migratory plant parasitic nematodes. Nematology (USA) 5(2): 145-177.
- PERRY, R. and WRIGHT, D. 1998. The Physiology and Biochemistry of Free Living and Plant Parasitic Nematodes. Londres. Cabi Publishing. 438 p.
- PLOWRIGHT, R.A, CAUBEL, G, and MIZEN, K.A. 2002. *Ditylenchus* species. Plant resistance to parasitic nematodes. **In:** Cab International. Starr, R. Cook and J. Bridge. 33 p.
- ROBERTS, P.A. y MATTHEWS, W.C. 1995. Desinfection Alternatives for Control of *Ditylenchus dipsaci* in Garlic Seed Cloves. Journal of Nematology (USA) 27 (4): 448-456.
- SAAD, H. 2001. Fighting Nematodes In Alfalfa (On line). <<http://www.agronomy.ucdavis.edu/alfalfa.wg/s...Fighting%20Nematodes%20in%20Alfalfa.html>>. (21 agosto 2001).
- SEINHORST, J.W. 1956. Population studies on stem eelworms (*Ditylenchus dipsaci*). Nematologica (Holanda) 1: 159-164.

- SELMARE, B. DE WAELE, D. and MEYER, A. 1992. Effect of host plant age on population development and pathogenicity of *Ditylenchus destructor* on Peanut. *Journal of Nematology* (USA) 24(2): 310-314.
- SOUTHEY, J. 1978. *Plant Nematology*. 3^a ed. Londres, Her Majesty's Stationery Office. 440 p.
- STIRLING, G. NICOL, J. y REAY, F. 2002. *Advisory Services for Nematode Pests; Operation Guidelines*. Australia, Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC). 119 p.
- SUBBOTIN, S. MADANI, M. KRALL, E. STURHAN, D y MOENS, M. 2000. Identification and phylogenetic relationships within the stem nematode *Ditylenchus dipsaci* species complex (Tylenchida: Anguinidae) as inferred from analyses of the ITS-rDNA sequences (On line). UC Riverside CNAS Nematology. <http://www.russnematology.com/subbotin/Poster/DitylenchusSON2003.pdf>. (15 Julio 2004).
- SUBBOTIN, S, KRALL, E. RILEY, I. CHIZHOV, V. STAELENS, A. DE LOOSE, M. and MOENS, M. 2004. Evolution of the gall forming plant parasitic nematodes (Tylenchida: Anguinidae) and their relationship with host as inferred from Internal Transcribed Spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* (USA) 30 (1): 226-235.
- TACCONI, R. y AMBROGIONI, L. 1995. *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev Tylenchida, Anguinidae. *Nematodi da Quarantena* (Italy) 22: 45-56.
- TAPIA, E. 1984. Aporte al estudio de la incidencia del "nemátodo del bulbo y del tallo" (*Ditylenchus dipsaci*) (Kühn) Filipjev, en el estudio del ajo (*Allium sativum* L.), tipo rosado, en sectores de la V Región. Tesis Ing. Agr. Quillota, Chile. Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Agronomía. 62p.

- TAYLOR, S. y SZOT, D. 2000. First record of damage to canola caused by the oat race of stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*). Australasian Plant Pathology 29(2): 153-153.
- TENENTE, R. 1996. Nematode problems of bulbs, with special reference to *Ditylenchus dipsaci*. Nematropica (USA) 26(1): 91-99.
- TENENTE, R. y EVANS, A. 1996. Winter survival and migration of two populations of *Ditylenchus dipsaci*. Nematología Brasileira (Brasil) 20(1): 14-21.
- VENTER, C. DE WAELLE, D. and MEYER, A, J. 1991. Reproductive and damage potential of *Ditylenchus destructor* on Peanut. Journal of Nematology (USA) 23(1): 12-19.
- WALLACE, H.R. 1962. Observation on the behaviour of *Ditylenchus dipsaci* in soil. Nematologica (Holanda) N° 7. 91-101p.
- WHARTON, D. and MARSHALL, A. 2002. Changes in surface features during desiccation of the anhydrobiotic plant parasitic nematode *Ditylenchus dipsaci*. Tissue and Cell (USA) 34 (2): 81-87.
- WENDT, K. VRAIN, T. C. WEBSTER, J.M. 1993. Separation of three species of *Ditylenchus* and some host races of *D. dipsaci* by restriction fragment length polymorphism. Journal of Nematology (USA) 25(4): 555-563.
- WHITEHEAD, G. TITE, D. and FRASER, J. 1983. Control of stem nematode, *Ditylenchus dipsaci* ("oat race"), by aldicarb and resistant plants. Annals of Applied Biology (England) 103(4): 291-299.

- WHITEHEAD, A. y TITE, D. 1987. Chemical control of stem nematode, *Ditylenchus dipsaci*, in field beans (*Vicia faba*). *Annals Applied of Biology* (England) 110: 341-349.
- WHITEHEAD, A. G, FRASER, J. E, y NICHOLS, J.F. 1987. Variation in the development of stem nematodes, *Ditylenchus dipsaci*, in susceptible and resistant plants. *Annals of Applied Biology* (England) (111): 373 - 383.
- WINDRICH, W. A. 1985. Control of stem nematode, *Ditylenchus dipsaci*, in tulips bulbs with aldicarb and oxamyl. *Crop Protection* (USA)4(4): 458-463.
- WINDRICH, W. A. 1986. Control of stem nematode, *Ditylenchus dipsaci*, in narcissus with aldicarb. *Crop Protection* (USA) 5(4): 266-267.
- WOMERSLEY, C. WHARTON, D. and HIGA, L. 1998. Survival biology. In: Perry and D.J. Wright . (eds R.N). *The Phisiology and Biochemistry of Free-living and Plant-parasitic Nematodes*.pp: 271-302.

ANEXOS

ANEXO 1 Análisis de varianza altura de plantas bajo suelo estéril y bajo suelo infestado con *D. dipsaci*

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A:fecha	4798,59	2	2399,29	120,88	0,0000
B:especie	11114,1	5	2222,82	111,99	0,0000
C:tratamiento	538,858	1	538,858	27,15	0,0000
Error	4823,02	243	19,8478		
Total	21274,6	251			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 2 Análisis de varianza emergencia de plantas bajo suelo estéril y bajo suelo infestado con *D. dipsaci*

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A:fecha	56421,2	2	28210,6	78,57	0,0000
B:especie	236741,0	5	47348,2	131,87	0,0000
C:tratamiento	28,6706	1	28,6706	0,08	0,7777
Error	87249,4	243	359051		
Total	380440,0	251			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 3 Análisis de varianza peso fresco entero de plantas bajo suelo estéril y bajo suelo infestado con *D. dipsaci*

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A:fecha	25,6041	2	12,8021	136,40	0,0000
B:especie	14,2186	3	4,73954	50,50	0,0000
C:tratamiento	0,00170372	1	0,00170372	0,02	0,8930
Error	15,1113	161	0,093859		
Total	54,9358	167			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 4 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de trigo 6 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	4,235	1	4,235	0,03	0,8765
Error	2016,32	12	168,027		
Total	2020,55	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 5 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de trigo 15 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	673,458	1	673,458	13,86	0,0029
Error	582,891	12	48,5743		
Total	1256,35	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 6 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de trigo 30 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	511,226	1	511,226	13,84	0,0029
Error	443,234	12	36,9362		
Total	954,46	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 7 Análisis de varianza de la altura de plantas de trigo 10 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	167,326	1	167,326	541,01	0,0000
Error	3,71143	12	0,309286		
Total	171,037	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 8 Análisis de varianza de la altura de plantas de trigo 25 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	802,571	1	802,571	301,85	0,0000
Error	31,9057	12	2,65881		
Total	834,477	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 9 Análisis de varianza de la altura de plantas de trigo 60 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	6,72071	1	6,72071	1,70	0,2165
Error	47,3886	12	3,94905		
Total	54,1093	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 10 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de trigo 30 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,00160714	1	0,00160714	0,12	0,7362
Error	0,162143	12	0,0135119		
Total	0,16375	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 11 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de trigo 60 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,00285714	1	0,00285714	0,11	0,7469
Error	0,314286	12	0,0261905		
Total	0,317143	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 12 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de trigo 90 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,000714286	1	0,000714286	0,00	0,9479
Error	1,92857	12	0,160714		
Total	1,92929	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 13 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de ballica 6 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	209,831	1	209,831	13,36	0,0033
Error	188,537	12	15,7114		
Total	398,369	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 14 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de ballica 15 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	2157,6	1	2157,6	19,83	0,0008
Error	1305,53	12	108,794		
Total	3463,13	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 15 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de ballica 30 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	5046,4	1	5046,4	68,17	0,0000
Error	888,297	12	74,0248		
Total	5934,7	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 16 Análisis de varianza de la altura de plantas de ballica 10 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	74,9829	1	74,9829	129,76	0,0000
Error	6,93429	12	0,577857		
Total	81,9171	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 17 Análisis de varianza de la altura de plantas de ballica 25 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	48,6579	1	48,6579	9,86	0,0085
Error	59,2171	12	4,93476		
Total	107,875	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 18 Análisis de varianza de la altura de plantas de ballica 60 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	9,12071	1	9,12071	2,32	0,1538
Error	47,2286	12	3,93571		
Total	56,3493	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 19 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de ballica 30 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,00000714286	1	0,00000714286	0,03	0,8614
Error	0,00269286	12	0,000224405		
Total	0,0027	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 20 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de ballica 60 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,000714286	1	0,000714286	0,08	0,7835
Error	0,108571	12	0,009047583		
Total	0,109286	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 21 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de ballica 90 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,0114286	1	0,0114286	0,32	0,5808
Error	0,425714	12	0,0354762		
Total	0,437143	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 22 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de perejil 6 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	4,235	1	4,235	21,00	0,0006
Error	2,42	12	0,201667		
Total	6,655	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 23 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de perejil 15 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	3921,18	1	3921,18	304,49	0,0000
Error	154,534	12	12,8779		
Total	4075,71	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 24 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de perejil 30 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	3978,29	1	3978,29	43,39	0,0000
Error	1100,31	12	91,6926		
Total	5078,6	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 25 Análisis de varianza de la altura de plantas de perejil 10 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	8,33143	1	8,33143	2691,69	0,0000
Error	0,0371429	12	0,00309524		
Total	8,36857	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 26 Análisis de varianza de la altura de plantas de perejil 25 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	19,9207	1	19,9207	174,67	0,0000
Error	1,36857	12	0,114048		
Total	21,2893	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 27 Análisis de varianza de la altura de plantas de perejil 60 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,686429	1	0,686429	3,52	0,0853
Error	2,34286	12	0,195238		
Total	3,02929	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 28 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de perejil 30 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,000516071	1	0,000516071	7,11	0,0206
Error	0,000871429	12	0,000072619		
Total	0,0013875	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 29 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de perejil 60 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,00315	1	0,00315	1,02	0,3332
Error	0,0371714	12	0,00309762		
Total	0,0403214	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 30 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de perejil 90 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,00285714	1	0,00285714	0,25	0,6261
Error	0,137143	12	0,0114286		
Total	0,14	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 31 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de repollo 6 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	7305,15	1	7305,15	41,98	0,0000
Error	2088,26	12	174,022		
Total	9393,41	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 32 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de repollo 15 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	43,5779	1	43,5779	1,01	0,3356
Error	519,614	12	43,3012		
Total	563,192	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 33 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de repollo 30 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	10,4579	1	10,4579	0,31	0,5877
Error	404,414	12	33,7012		
Total	414,872	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 34 Análisis de varianza de la altura de plantas de repollo 10 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,182857	1	0,182857	1,15	0,3054
Error	1,91429	12	0,159524		
Total	2,09714	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 35 Análisis de varianza de la altura de plantas de repollo 25 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	1,03143	1	1,03143	2,65	0,1293
Error	4,66571	12	0,38881		
Total	5,69714	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 36 Análisis de varianza de la altura de plantas de repollo 60 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	3,20643	1	3,20643	6,40	0,0264
Error	6,00857	12	0,500714		
Total	9,215	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 37 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de repollo 30 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,000864286	1	0,000864286	0,23	0,6437
Error	0,0460857	12	0,00384048		
Total	0,04695	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 38 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de repollo 60 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,160714	1	0,160714	1,07	0,3214
Error	1,80286	12	0,150238		
Total	1,96357	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 39 Análisis de varianza del peso fresco entero de plantas de repollo 90 días desde siembra.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	0,00257143	1	0,00257143	0,14	0,7195
Error	2,28286	12	0,190238		
Total	2,30857	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 40 Análisis de varianza de la altura de plantas de ajo 90 días desde plantación.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	7,43143	1	7,43143	10,96	0,0062
Error	8,13714	12	0,678095		
Total	15,5686	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 41 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de ajo 30 días desde plantación.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	5160,96	1	5160,96	94,33	0,0000
Error	656,52	12	54,71		
Total	5817,48	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 42 Análisis de varianza de la altura de plantas de chalota 10 días desde plantación.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	9,12071	1	9,12071	18,97	0,0009
Error	5,78657	12	0,4822142		
Total	14,8893	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 43 Análisis de varianza de la altura de plantas de chalota 25 días desde plantación.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	233,703	1	233,703	22,82	0,0005
Error	122,894	12	10,2412		
Total	356,597	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 44 Análisis de varianza de la altura de plantas de chalota 60 días desde plantación.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	225,603	1	225,603	4,42	0,0573
Error	612,757	12	51,0631		
Total	838,36	13			

Prueba de Tukey >0,05%

ANEXO 45 Análisis de varianza de la emergencia de plantas de chalota 30 días desde plantación.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
Tratamiento	12901,8	1	12901,8	13,98	0,0028
Error	11071,4	12	922,619		
Total	23973,2	13			

Prueba de Tukey >0,05%

LAS OTRAS TABLAS DE ANEXOS DE AJO Y CHALOTA NO ESTAN, PORQUE NO HUBO DESARROLLO DE LAS PLANTAS.