

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA DE AGRONOMIA**

Evaluación de la capacidad de infestación de *Ditylenchus dipsaci* (Kühn 1857) y *Ditylenchus destructor* (Thorne 1945) en seis especies leguminosas cultivadas en maceta.

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

**ESTEBAN PATRICIO CÁRCAMO FRITZ**  
VALDIVIA - CHILE

2006

## **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

---

Roberto Carrillo Llorente

Ing. Agr. Ms. Sc. PhD.

Facultad de Ciencias Agrarias

---

**INSTITUTO DE PRODUCCIÓN Y SANIDAD VEGETAL**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, quienes con su incondicional apoyo e infinita paciencia permitieron que tan ansiada meta fuese finalmente cumplida.

A la incansable colaboración de la profesora Laura Böhm, quien me perfiló y aconsejó en mis últimos años como estudiante en la Universidad.

Al personal del laboratorio de fitopatología quien manifestó en todo momento una muy buena disposición y entrega durante el transcurso de la investigación.

A mi prima Sandra, Alejandro T., Mauricio Ll. y al “Doc” (Angel C.) quienes dieron su valioso apoyo durante el transcurso de este trabajo.

*Dedicada a mis padres y  
hermanos.*

## INDICE DE MATERIAS

<b>Capítulo</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2</b>	<b>REVISIÓN BIBLIOGRAFICA</b>	3
2.1	Nemátodos	3
2.1.1	Características generales de los nemátodos fitoparásitos	4
2.1.2	Ciclo de vida de los nemátodos fitoparásitos	5
2.1.3	Distribución en el suelo de nemátodos fitoparásitos	5
2.2	Género <i>Ditylenchus</i>	6
2.2.1	Clasificación taxonómica del género <i>Ditylenchus</i>	7
2.2.2	<i>Ditylenchus dipsaci</i>	8
2.2.2.1	Características morfológicas de <i>D. dipsaci</i>	8
2.2.2.2	Biología y parasitismo de <i>D. dipsaci</i>	9
2.2.2.3	Distribución y hospederos de <i>D. dipsaci</i>	11
2.2.2.4	Daño y efectos del ataque sobre los cultivos	12
2.2.2.5	Prevención y control	13
2.2.3	<i>Ditylenchus destructor</i>	14
2.2.3.1	Características morfológicas de <i>D. destructor</i>	14
2.2.3.2	Distribución geográfica	15
2.2.3.3	Hospederos	16
2.2.3.4	Biología	16
2.2.3.5	Control	17
<b>3</b>	<b>MATERIAL Y METODO</b>	18
3.1	Material	18
3.1.1	Ubicación del ensayo	18

<b>Capítulo</b>		<b>Página</b>
3.1.2	Sustrato	18
3.1.3	Especies vegetales	20
3.1.4	Macetas	20
3.1.5	Equipos	20
3.1.6	Otros materiales	20
3.1.7	Lavado y desinfección de materiales	20
3.2	Método	20
3.2.1	Preparación de la semilla	20
3.2.1.1	Análisis nematológico de la semilla	21
3.2.1.2	Porcentaje de germinación	21
3.2.2	Preparación de los sustratos	22
3.2.3.	Siembra	22
3.2.4	Riego	22
3.2.5	Control de Temperatura	23
3.2.6	Duración del ensayo	23
3.3	Evaluaciones	23
3.3.1	Evaluación de las plantas	23
3.3.2	Evaluación al suelo	24
3.3.3	Tasa de multiplicación de los nemátodos (T.M.N)	24
3.4	Extracción de nemátodos por sistema Baermann modificado	25
3.5	Diseño experimental	26
3.6	Análisis de los datos obtenidos	26
<b>4</b>	<b>PRESENTACIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>27</b>
4.1	Características de desarrollo de las plantas	27
4.1.1	Altura de plantas a 45 días desde siembra	27
4.1.2	Altura de plantas a 90 días desde siembra	28
4.1.3	Número de hojas por planta a 45 días desde siembra	29
4.1.4	Números de hojas por planta a 90 días desde siembra	30
4.1.5	Peso aéreo de plantas a 45 días desde siembra	31

<b>Capítulo</b>		<b>Página</b>
4.1.6	Peso aéreo de plantas a 90 días desde siembra	31
4.1.7	Peso radical de plantas a 45 días desde siembra	32
4.1.8	Peso radical de plantas a 90 días desde siembra	33
4.1.9	Longitud de raíces a 45 días desde siembra	34
4.1.10	Longitud de raíces a 90 días desde siembra	35
4.2	Evaluaciones nematológicas de plantas y suelo	35
4.2.1	Número de <i>D. dipsaci</i> y <i>D. destructor</i> en plantas y suelo a 45 días desde siembra	36
4.2.1.1	Distribución de nemátodos en las plantas a los 45 días desde siembra	37
4.2.1.2	Tasa de multiplicación de los nemátodos (T.M.N) a 45 días desde siembra	40
4.2.2	Número de <i>D. dipsaci</i> y <i>D. destructor</i> en plantas y suelo a 90 días desde siembra	41
4.2.2.1	Distribución de los nemátodos en las plantas a los 90 días desde siembra	42
4.2.2.2	Tasa de multiplicación de los nemátodos (T.M.N) a los 90 días desde siembra	44
4.3	Sintomatología de plantas en macetas infestadas	45
<b>5</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>46</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>58</b>
<b>7</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>59</b>
	<b>SUMMARY</b>	<b>61</b>
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>63</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>74</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Plantas de trébol blanco desarrolladas en sustratos infestados con <i>D. dipsaci</i> y <i>D. destructor</i>	28
2	Distribución porcentual de los individuos de <i>D. dipsaci</i> recuperados por planta después de 45 días desde la siembra	38
3	Distribución porcentual de los individuos de <i>D. destructor</i> recuperados por planta después de 45 días desde siembra	39
4	Tasa de multiplicación de nemátodos del género <i>Ditylenchus</i> en seis especies leguminosas a los 45 días desde la siembra	40
5	Aporte porcentual recuperación de <i>D. dipsaci</i> por sección de planta a los 90 días desde siembra	43
6	Aporte porcentual recuperación de <i>D. destructor</i> por sección de planta a los 90 días desde siembra	44
7	Tasa de multiplicación de nemátodos del género <i>Ditylenchus</i> en seis especies leguminosas a los 90 días desde la siembra	45
8	Distorsión de tallos en plantas de alfalfa infestadas con <i>D. dipsaci</i> y <i>D. destructor</i>	50
9	Necrosis marginal en hojas de haba infestadas con <i>D. destructor</i> a los 40 días desde siembra	51

**INDICE DE CUADROS**

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Características diferenciales entre <i>D. dipsaci</i> y <i>D. destructor</i>	15
2	Análisis químico de los suelos utilizados en el ensayo	19
3	Porcentaje de germinación de las semillas utilizadas en el ensayo	21
4	Diseño del ensayo	26
5	Efecto de los tratamientos en la altura (cm) de plantas después de 45 días desde siembra	28
6	Efecto de los tratamientos en la altura (cm) de plantas después de 90 días desde siembra	29
7	Efecto de los tratamientos en el número de hojas de plantas después de 45 días desde siembra	30
8	Efecto de los tratamientos en el número de hojas de plantas después de 90 días desde siembra	30
9	Efecto de los tratamientos en el peso fresco aéreo (g) de plantas después de 45 días desde siembra	31
10	Efecto de los tratamientos en el peso fresco aéreo (g) de plantas después de 90 días desde siembra	32
11	Efecto de los tratamientos en el peso fresco radical (g) de plantas después de 45 días desde siembra	33
12	Efecto de los tratamientos en el peso fresco radical (g) de plantas después de 90 días desde siembra	33
13	Efecto de los tratamientos en la longitud radical (cm) de plantas después de 45 días desde siembra	34
14	Efecto de los tratamientos en la longitud radical (cm) de plantas después de 90 días desde siembra	35

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
15	Número total de nemátodos recuperados por tratamiento (planta y suelo) a 45 días desde siembra	36
16	Número de individuos <i>D. dipsaci</i> recuperados por sección de tejido vegetal a los 45 días desde siembra	37
17	Número de individuos <i>D. destructor</i> recuperados por sección de tejido vegetal a los 45 días desde siembra	39
18	Número total de nemátodos recuperados por tratamiento (planta y suelo) a 90 días desde siembra	41
19	Número de individuos <i>D. dipsaci</i> recuperados por sección desde las plantas a los 90 días desde la siembra	42
20	Número de individuos <i>D. destructor</i> recuperados por sección desde las plantas a los 90 días desde la siembra	44

**INDICE DE ANEXOS**

<b>Anexo</b>		<b>Página</b>
1	Temperaturas máximas y mínimas registradas a lo largo del ensayo	75

## 1 INTRODUCCIÓN

Es conocido que todas las especies vegetales cultivadas son afectadas directa o indirectamente por distintos factores bióticos y abióticos que disminuyen su potencial rendimiento y rentabilidad de las cosechas.

Estimaciones de literatura señalan que las pérdidas a nivel mundial en los cultivos a causa de factores bióticos alcanzan cerca de 42% de la producción mundial y tal cifra pudiera acercarse al 70% en caso de que no se utilicen medidas físicas, biológicas o químicas para proteger los cultivos de tales agentes.

Dentro de los factores bióticos que afectan a los cultivos se destacan los microorganismos como son hongos, bacterias y nemátodos, entre otros.

Entre los nemátodos fitoparásitos uno de los géneros de mayor importancia a nivel mundial es *Ditylenchus* cuyas especies parasitan y causan grave daño a un amplio número de especies vegetales.

Dentro del género *Ditylenchus* destacan dos especies de importancia agrícola: *Ditylenchus dipsaci* (Kühn 1857) y *Ditylenchus destructor* (Thorne, 1945). El primero es conocido como “nemátodo del bulbo y del tallo” siendo sus principales hospederos especies de bulbosas y también numerosas especies leguminosas; por su parte, *D. destructor* es comúnmente conocido como “nemátodo de la pudrición de la papa” y se encuentra frecuentemente asociado a especies Solanaceas y algunas ornamentales.

Si bien ambos nemátodos parasitan diversas especies vegetales, el rango de hospederos de *D. dipsaci* es mayor, llegando a triplicar en número la cantidad de hospederos que presenta *D. destructor*.

Durante los últimos años en el sur de Chile se ha detectado la presencia de *D. destructor* en cultivo de papas lo que ha causado preocupación entre los productores de la X Región, mas aún cuando se conoce que éste comparte hospederos en común con *D. dipsaci* lo que dificulta establecer una rotación adecuada para el control de ambos nemátodos.

Existe en la literatura escasa información de ensayos con *D. destructor* en especies leguminosas puesto que a éste nemátodo se le asocia principalmente a papa, maní y algunas especies ornamentales. Lo anterior hace necesario investigar el comportamiento del nemátodo en algunas especies leguminosas y si es posible llegar a establecer hospederos hasta ahora no conocidos para el nemátodo lo cual sería de suma importancia al momento de establecer medidas fitosanitarias.

Se plantea como hipótesis de este ensayo que tanto *D. dipsaci* como *D. destructor* son capaces de infestar desde un suelo a las especies leguminosas *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*, *Pisum sativum*, *Medicago sativa*, *Trifolium repens* y *Trifolium pratense*.

El objetivo general del presente ensayo fue conocer la capacidad de infestación de *D. dipsaci* y *D. destructor*, a partir de un suelo naturalmente infestado en seis especies leguminosas: poroto, haba, arveja, alfalfa, trébol blanco y trébol rosado.

Los objetivos específicos fueron:

- τ Determinar el grado de infestación y la distribución de ambos nemátodos en las seis especies leguminosas, cultivadas en suelo naturalmente infestado, así como también determinar la tasa de multiplicación de ambos nemátodos en las mismas seis especies.
- τ Evaluar el efecto de ambos nemátodos en el desarrollo de las plantas cultivadas en macetas con suelo naturalmente infestado.
- τ Describir la sintomatología provocada por *D. dipsaci* y *D. destructor* en las distintas especies vegetales evaluadas.

## 2 REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1 Nemátodos

Los nemátodos forman parte del Phylum Nematoda y corresponden a un grupo bien definido dentro de los invertebrados. Estos se encuentran en todos los sistemas acuícolas y terrestres, viviendo en aguas saladas y dulces, así como también en el suelo alimentándose de animales, microorganismos o de plantas (CHRISTIE, 1974 y SOUTHEY, 1978).

INGHAM y JENSEN (1999) mencionan que la palabra nemátodo deriva de “nematoide” (como un hilo) y es uno de las denominaciones comunes que se aplican a estos organismos, así como también son utilizados los términos gusanos redondos, gusanos filamentosos, anguílulas, etc.

Complementariamente, HIRSCHMANN (1960) y AGRIOS (1996) coinciden en que los nemátodos son un grupo excesivamente variable de animales, que se han adaptado a un gran número de ecosistemas. Los nemátodos que habitan el suelo se alimentan de residuos orgánicos, microorganismos y plantas, causando en estas últimas graves daños, especialmente a especies cultivadas. Por ejemplo, según MILANO y McINTYRE (2001), en los Estados Unidos las pérdidas en los cultivos causadas por los nemátodos están cercanas a los \$4,0 billones por año, siendo alfalfa la especie más severamente atacada por *D. dipsaci*.

Desde un punto de vista ecológico, algunas especies de nemátodos regulan las poblaciones microbianas mediante la depredación, mientras que otros son saprófitos y un amplio número de géneros son parásitos de plantas. De hecho, sirven como enlace en la cadena alimenticia entre el mundo microbiano y organismos más complejos. No obstante lo anterior, igualmente son parasitados por otros organismos del suelo, como por ejemplo otros nemátodos, y son consumidos como parte de la cadena alimenticia del suelo, regulando éstas poblaciones (SASSER, 1989).

HIRSCHMANN (1960) afirma que si bien todas las especies de nemátodos muestran variaciones morfológicas en cuanto a su estructura interna como externa, existen aspectos básicos en su anatomía que son comunes a la mayoría de ellos.

**2.1.1 Características generales de los nemátodos fitoparásitos.** Los nemátodos son organismos tubulares que se mueven en el agua y se alimentan de células vivas. La mayoría de las especies que viven en el suelo son de pequeño tamaño entre 0,2 a 2 mm de longitud (DROPKIN, 1980).

Gran parte de los nemátodos fitoparásitos son de cuerpo elongado, presentan extremos aguzados o fusiformes y en algunas especies endoparásitas de raíces las hembras son globosas o alimonadas (GOODEY, 1965). En forma complementaria JONES (1965), SASSER (1989) y AGRIOS (1996) mencionan que poseen simetría bilateral, el cuerpo, que no presenta segmentos corporales, es incoloro y semicircular en la sección transversal; además presentan en la sección anterior una estructura de punción llamada estilete la cual semeja una aguja hueca el que utilizan para alimentarse de las células vivas de una planta hospedante. Esta estructura está presente en la cavidad bucal y está conectada por un lumen hueco al esófago, utilizando para ello un sistema de bombeo similar al de una jeringa hipodérmica (JANSSEN, 1994).

El cuerpo del nemátodo está recubierto por una cutícula, la que puede ser lisa o presentar distintos tipos de marcas cuticulares como son: estrías transversales y longitudinales (SASSER, 1989). Dicha cutícula es producida por la hipodermis que se extiende en la cavidad del cuerpo a manera de cuatro cordones que separan bandas longitudinales de músculos, los que permiten el movimiento ondulatorio de los nemátodos (DROPKIN, 1980).

HIRSCHMANN (1960) afirma que los nemátodos son generalmente dioicos existiendo machos y hembras por separado. Estos pueden ser fácilmente reconocidos porque el macho presenta aparatos copulatorios como son: espículas, papilas genitales y otros accesorios. Además, el mismo autor junto a CHRISTIE (1974) y DROPKIN (1980), mencionan que en la mayor parte de las especies el macho es mas pequeño en tamaño que la hembra.

**2.1.2 Ciclo de vida de los nemátodos fitoparásitos.** En el ciclo de vida de todos los nemátodos fitoparásitos existe el estado de huevo, cuatro estados juveniles y el adulto (HOOPER, 1972).

DROPKIN (1980) y SASSER (1989) afirman que el inicio del ciclo comienza una vez que las hembras depositan huevos que se convierten en pequeñas larvas o juveniles, las que durante el crecimiento y desarrollo sufren un total de cuatro mudas, de las cuales la primera de ellas ocurre dentro del huevo, dando paso al segundo estado juvenil el cual emerge del huevo y es el estado infectivo del nemátodo.

Una vez que el nemátodo comienza a alimentarse del tejido de un hospedero favorable ocurren la segunda, tercera y cuarta muda dando de esta forma paso al tercer y cuarto estado juvenil y finalmente al adulto (TAYLOR, 1971 y DROPKIN, 1980).

Según AGRIOS (1996), después de la última muda los nemátodos se diferencian externamente en hembras y machos. La hembra puede producir huevos fértiles una vez que ha sido fecundada por un macho o también, como es en el caso de muchas especies, en ausencia de machos ya sea partenogénicamente o bien produce esperma por sí misma (hermafroditismo), dando de esta forma inicio al ciclo nuevamente.

En cuanto a la duración del ciclo TAYLOR (1971) y DROPKIN (1980) concuerdan en que en la mayoría de las especies fitoparásitas el tiempo que transcurre desde la formación del huevo hasta el estado de hembra productora de huevos puede fluctuar de tres a cuatro semanas, aunque si las condiciones no son óptimas es posible que éste periodo se extienda a más del doble.

**2.1.3 Distribución en el suelo de nemátodos fitoparásitos.** Según NORTON (1978), la mayor cantidad de nemátodos fitoparásitos se concentra principalmente entre los 15 a 20 cm de profundidad.

Lo anterior es confirmado por TAYLOR (1971) y AGRIOS (1996), quienes afirman que ello se debe a que a esa profundidad se encuentra la mayor concentración de raíces de las plantas. Así mismo NORTON (1978) y SASSER (1989) explican que la mayor cantidad de nemátodos en la zona radicular se debe a la atracción que ejercen sobre estos organismos las secreciones liberadas por las raíces. En forma complementaria SASSER (1989) afirma que el número mayor de nemátodos en esa

zona estaría dada porque la reproducción de éstos es mayor en aquellos sectores donde el alimento es más abundante; tal afirmación es confirmada por TAYLOR (1971) quien dice que la reproducción de los nemátodos sería óptima cuando existan raíces de plantas susceptibles que sirvan de alimento y además cuando la temperatura y la humedad del suelo favorezcan la actividad del nemátodo.

Existen nemátodos fitoparásitos que tienen cierta preferencia por una o varias especies de plantas y cuando éstas están ausentes las poblaciones de estos patógenos se reducen significativamente, lo que podría ser clave al momento de controlar dichas poblaciones del suelo (GUIÑEZ 1981).

Por otra parte, a medida que se aminora el crecimiento de las raíces o bien no se encuentra un hospedero adecuado, disminuye la población de nemátodos y la reproducción cesa cuando ya no existen más raíces vivas, o bien cuando la temperatura del suelo desciende por debajo de la temperatura mínima necesaria para esa población (TAYLOR, 1971 y NORTON, 1978).

En cuanto a su diseminación, su pequeño tamaño y carencia de extremidades, hacen prácticamente imposible que puedan desplazarse a grandes distancias por si mismos. Sin embargo, existe una variedad de mecanismos que les permiten trasladarse para establecerse en nuevas áreas; entre estas se cuentan: movimiento de material vegetal infectado, movimiento de tierra con maquinaria agrícola, irrigación, agua de drenaje, etc. (SASSER 1989 y MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999).

## **2.2 Género *Ditylenchus*.**

Según SASSER (1989), mundialmente se reconoce que los 10 géneros más importantes de nemátodos fitoparásitos son : *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Heterodera*, *Ditylenchus*, *Globodera*, *Tylenchus*, *Xiphinema*, *Radopholus*, *Rotylenchus* y *Helicotylenchus*.

El género *Ditylenchus* comprende cerca de 80 especies conocidas y se encuentra distribuido a nivel mundial parasitando más de 500 especies de plantas mono y dicotiledóneas (MAGUNACELAYA y DAGNINO 1999). En el género destacan *D. dipsaci* (Kühn, 1857) Filipjev, *D. destructor* (Thorne, 1945) y *D. angustus* (Buller, 1913) especies que tienen gran importancia económica como parásitos de plantas superiores (PLOWRIGHT *et al.*, 2002).

Las especies pertenecientes a este género son, en general, de difícil identificación (BARRACLOUGH y BLACKIT, 1962), puesto que además de ser similares en cuanto a su morfología, presentan una considerable variación intraespecífica (WENDT *et al.*, 1993 y PLOWRIGHT *et al.*, 2002).

Según los mismos autores, *Ditylenchus* es un género polífago y capaz de causar graves daños al parasitar tejidos aéreos tales como: tallos, pecíolos, hojas, vainas y semillas. GOODEY (1965) agrega que algunas de sus especies también atacan partes subterráneas como: estolones, tubérculos, rizomas y raíces.

HIRSCHMANN (1960) y ESCUER (1998) indican que el género *Ditylenchus* se caracteriza por tener la cutícula delgada y finamente estriada, un estilete delicado que varía entre 7 a 11  $\mu\text{m}$ , con un cono de 1/3 de la longitud del estilete y con nódulos bien desarrollados en la base de éste. En forma complementaria MAI y LYON (1975) agregan que el plano lateral del nemátodo posee cuatro a seis líneas, la región labial es plana e inestriada, con deiridios presentes aunque los fasmidios son excesivamente diminutos.

En complemento a las características antes mencionadas, HIRSCHMANN (1960), agrega que la hembra posee un único ovario con una corta ramificación uterina, y que tanto el macho como la hembra tienen el extremo posterior elongado y conoide.

En cuanto a las especies más importantes del género en los climas templados, MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999) mencionan a *D. dipsaci* y *D. destructor*; el nemátodo del tallo y bulbos y el nemátodo de la pudrición de la papa, respectivamente.

**2.2.1 Clasificación taxonómica del género *Ditylenchus*.** Según JONES (1965) y DROPKIN (1980), la clasificación taxonómica del género *Ditylenchus* es la siguiente:

PHYLUM	Nematoda
Clase	Secernentea
Orden	Tylenchida
Sub-orden	Tylenchina
Superfamilia	Tylenchoidea

Familia	Tylenchidae
Género	<i>Ditylenchus</i>

**2.2.2 *Ditylenchus dipsaci*.** Esta especie fue descrita por primera vez en el año 1857 por Kühn, quien basó su descripción sobre muestras obtenidas de flores de cardo, *Dipsacus fullonum* L. (HIRSCHMANN, 1960 y CHRISTIE, 1974)

WINSLOW (1960) señala que este nemátodo es un fitoparásito conocido y ampliamente distribuido en climas húmedos y fríos. Además, el mismo autor afirma que prevalece en suelos pesados o arcillosos, aún cuando existan diversidades de preferencias dentro de razas. Por ejemplo, Seinhorst (1956) citado por WINSLOW (1960) mostró que en Holanda, un cultivo de cebollas fue más severamente atacado en aquellas áreas donde el contenido de arcilla era superior al 30%; en dicha área la densidad poblacional alcanzaba 50 nemátodos / 500 g de suelo, en cambio en suelos livianos o arenosos el número se redujo a niveles por bajo los 10 nemátodos / 500 g de suelo.

Al igual que MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999), HOOPER y SOUTHEY (1978) y TENENTE (1996) coinciden en que *D. dipsaci* ataca sobre 450 especies de plantas y que es muy problemático en la mayoría de las regiones templadas del mundo, no siendo importante en regiones tropicales. Tanto COOK *et al.* (1992), como TENENTE (1996) afirman que *D. dipsaci* es uno de los nemátodos parásitos más destructivos de plantas, especialmente en regiones templadas.

Según GRECO y MORENO (1994) y BAICHEVA *et al.* (1998), el gran interés por *D. dipsaci* en las investigaciones es resultado de su importancia como endoparásito de plantas así como su amplia distribución en una variada gama de hospederos en los cuales causa graves pérdidas. Por ejemplo en Chile, según INSUNZA y VALENZUELA (1995) es importante por su daño en cultivos como ajo, cebolla y alfalfa; reportándose en las zonas productoras de ajo pérdidas que van desde el 30 a 80%.

**2.2.2.1 Características morfológicas de *D. dipsaci*.** Esta especie presenta un cuerpo filiforme, aguzado en los extremos cuya longitud varía entre 1 – 1,3 mm al estado adulto, siendo siempre el macho más delgado que la hembra (HOOPER, 1983).

THORNE (1961) afirma que el cuerpo en ésta especie presenta una cutícula marcada por finas estriaciones transversales, posee deiridios usualmente cercanos a la base del cuello y fasmidios solamente visibles desde una vista dorsal o ventral.

En complemento a lo anterior HIRSCHMANN (1960), HOOPER (1972) y TACCONI y AMBROGIONI (1990) agregan que la región labial es plana e inestriada y sólo sobresale ligeramente del contorno del cuerpo, la cabeza es moderadamente desarrollada y se encuentra bien esclerotizada; en la cavidad bucal se ubica un estilete de longitud mayor o igual a  $10\mu$ , el cual posee fuertes nódulos basales, unidos a los músculos involucrados en el movimiento del estilete durante el proceso de alimentación del nemátodo.

Según TACCONI y AMBROGIONI (1990), la principal característica morfológica es que presenta cuatro líneas o bandas en el plano lateral, las que juegan un rol clave durante el reconocimiento de especies dentro del género. Además HIRSCHMANN (1960), agrega que el extremo posterior en ambos sexos es conoide y elongado con una terminación en punta.

Finalmente PLOWRIGHT *et al.* (2002) mencionan que todos los estados, tanto machos y las hembras, son vermiformes.

2.2.2.2 Biología y parasitismo de *D. dipsaci*. Tanto HOOPER (1983) como TACCONI y AMBROGIONI (1990) concuerdan en que *D. dipsaci* es una especie bisexual, endoparásita y migratoria que parasita órganos epigeos e hipogeos como: tallos, flores, semillas, bulbos, raíces, etc.

Según Yuksel 1960 citado por HOOPER (1983), la hembra deposita en el tejido de la planta hospedera entre 207-498 huevos, los cuales tienen una vida promedio entre 45 y 73 días.

El mismo autor, señala que la duración del ciclo de vida en plantas de cebolla a  $15^{\circ}$  C tiene un rango de 19 a 23 días. THORNE (1961) afirma que bajo esas condiciones y a través de la estación de crecimiento de un hospedero favorable pueden ser encontrados individuos en todos los estados de desarrollo, pero que el

número de generaciones variará de acuerdo a la succulencia de los tejidos, condiciones de temperatura y humedad así como también de las prácticas agronómicas.

WINSLOW (1960), HOOPER (1972) y TENENTE (1996), afirman que dentro de las características que destacan a *D. dipsaci* es el poseer la capacidad de sobrevivir en condiciones extremas de sequía por muchos años, especialmente como cuarto estado juvenil, en los tejidos de sus hospederos.

Prueba de lo anterior es el reporte de Fielding 1951 citado por HOOPER y SOUTHEY (1978) quien reactivó especímenes en dormancia durante 20 años desde *Hypochoeris radicata* L. Tal estado es conocido por anhidrobiosis y se caracteriza por la formación de agregaciones de nemátodos, conocidas como “ovillos”, ubicados justo bajo o sobre la superficie de tejidos altamente infectados (WINSLOW, 1960, THORNE, 1961, HOOPER, 1972 y TENENTE, 1996).

En cuanto al parasitismo, éste comienza cuando emerge el segundo estado juvenil desde el huevo, el cual tiene la capacidad de infectar los tejidos de un hospedero susceptible (THORNE, 1961).

GOODEY (1965) y HOOPER (1983) sostienen que éste parásito una vez que infecta a una planta hospedera vive en los espacios intercelulares del tejido parenquimático de tallos, hojas y ocasionalmente flores, lo que muchas veces ocasiona la disolución o colapso de la lamela media y disgregación celular.

De acuerdo a MOUNTAIN (1960), WALLACE (1973) y PERRY y WRIGHT (1998), *D. dipsaci* inyecta a las células de sus hospederos enzimas del tipo pectinasas que ayudarían a disolver la lamela media de la pared celular, lo que provocaría una separación de las células del tejido infectado

Prueba de lo anterior es el trabajo de Tracey 1958 citado por MOUNTAIN (1960) en el cual se extrajo de plantas infectadas con *D. dipsaci* una cantidad significativamente más alta de pectinasas en comparación con las plantas controles. Así, Riedel y Mai 1971 citados por WALLACE (1973) sugieren que los distintos síntomas producidos sobre diferentes hospederos pueden ser causados por enzimas pectolíticas asociadas con la población de nemátodos involucrada en la infestación.

Otro mecanismo utilizado en el parasitismo es mencionado por DROPKIN (1980) quien señala que *D. dipsaci* posee enzimas que de alguna manera inactivarían la función de reguladores del crecimiento en una fase tardía de la infestación, lo que provocaría una inhibición en el desarrollo internodal lo que llevaría a un marcado enanismo de la planta infectada.

2.2.2.3 Distribución y hospederos de *D. dipsaci*. Según HOOPER (1972) y EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (EPPO) (2005), el nemátodo ha sido encontrado en la mayor parte de Europa incluyendo Rusia, regiones mediterráneas de Argelia, Grecia, Italia, Portugal, Sicilia y España, además de causar problemas a algunos cultivos del norte y sur del continente Americano, Hawai, India y Japón.

TACCONI y AMBROGIONI (1990) señalan que *D. dipsaci* comprende cerca de 20 razas biológicas las que tienen distinta preferencia por los hospederos. Thorne 1961 citado por TENENTE (1996) y MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999) afirma que éstas son morfológicamente idénticas y sólo difieren en su preferencia por distintos hospederos.

Por otra parte TENENTE (1996) afirma que poblaciones locales pueden recombinarse y así dar origen a individuos que varían en su patogenicidad y rango de hospederos con lo que se incrementa aún mas la complejidad en el control del nemátodo.

Según HOOPER (1972), SKIPP y GAYNOR (1987) y TACCONI y AMBROGIONI (1990) entre los hospederos de mayor importancia se encuentran: cebollas, ajos, zanahoria, arvejas, habas, papas, frutillas, remolacha, betarraga, avena, alfalfa, trébol blanco, trébol rosado, porotos, gladiolos, maíz, porro, espinacas, tabaco, tulipanes apio, girasol; etc.

2.2.2.4 Daño y efectos del ataque sobre los cultivos. Los nemátodos parásitos son un importante factor limitante en la producción de praderas y forrajes de leguminosas en la mayor parte del mundo. Existe una vasta literatura sobre la importancia económica de los nemátodos fitoparásitos atacando cultivos de alfalfa, trébol rosado y trébol blanco (GRECO y DI VITO, 1987).

A su vez HAGUE (1980), indica que el daño más importante a especies leguminosas es causado por *D. dipsaci*. En forma adicional, WILLIAMS (1984) señala que bastan unos pocos individuos del nemátodo del bulbo y del tallo para causar un daño considerable a los cultivos de leguminosas.

Según FRAME *et al.* (1998), los síntomas característicos de *D. dipsaci* sobre los cultivos de especies leguminosas se traducen en un mal desarrollo o atrofia, distorsión y desecación externa de follaje bajando de esta manera la persistencia y producción de éstas.

En cuanto al daño a alfalfa ERIKSSON (1972) afirma que éstas se traducen en plantas o brotes atrofiadas y distorsionadas además de presentar yemas, vástago y base de los tallos deformados, abultados o hinchados. Brown, 1957 citado por el mismo autor señala que si la inflorescencia llegara a ser infectada por el nemátodo, éste podría ser propagado por la semilla.

Visualmente los síntomas comienzan como focos localizados de plantas amarillentas, los cuales corresponden a zonas de desarrollo discreto, pero que con el pasar de los años éstas van abordando zonas más amplias del cultivo en las que se aprecia un pobre crecimiento en comparación con las zonas no infectadas (HAGUE, 1980 y LATORRE 1992). ERIKSSON (1972) junto a HAGUE (1980) mencionan que consecuencia de lo anterior el efecto se traduce en una baja considerable en el rendimiento del cultivo.

Por su parte la infestación en plantas de trébol, se caracterizan por exhibir espacios internodales cortos y muy característico es la textura esponjosa y abultada de los brotes o tallos los cuales son desprendidos fácilmente de las raíces (ERIKSSON, 1972). THORNE (1961) agrega que la infestación provoca deformación de yemas, mal

desarrollo o atrofia de los tallos y cuando ésta es más severa provocaría la pérdida total de las hojas, lo que ocasionaría la muerte de la planta.

Los efectos en haba, según HOOPER (1983) y APABLAZA (2005), serían: tejidos abultados y distorsionados y en casos en donde la infestación es severa se puede ver necrosis de hojas o pecíolos y distorsión de tallos.

2.2.2.5 Prevención y control. NORTON (1978) menciona que dentro de los métodos de control de *D. dipsaci* se reconoce que la resistencia de plantas, el uso de productos químicos, prácticas de fertilidad de suelos y rotación de cultivos, entre otras; todas éstas son medidas capaces de minimizar el efecto de los nemátodos aunque no siempre resulta económicamente factible para una determinada área y es por ello que la prevención juega un rol muy importante en el manejo de los nemátodos.

SIKORA y GRECO (1990) agregan que debido a la capacidad de *D. dipsaci* de atacar y afectar yemas florales, deben tomarse medidas para prevenir y evitar la transmisión y distribución a través de la semilla, hacia sitios no infectados con el nemátodo.

Según HOOPER (1983), las semillas pueden ser fácilmente chequeadas de la presencia de *D. dipsaci*, por ejemplo remojándolas en agua durante toda una noche a razón de 150 g de semilla por 0,5 – 1 L agua.

*D. dipsaci* presenta características que hacen que su control sea bastante dificultoso, estas incluyen la presencia de un estado pre-adulto en anhidrobiosis, habilidad para reproducirse rápida y repetidamente en el mismo hospedero, comenzando de esta manera a incrementarse rápidamente su población (Kostuk, 1965, citado por TENENTE, 1996).

Dentro de los métodos más importantes de control, ROMAN (1978) destaca métodos físicos (como son el uso de calor, electricidad, radiación), métodos biológicos (hongos, protozoarios, nemátodos depredadores, insectos, virus, bacterias) y métodos agronómicos (rotaciones de cultivo, barbechos, cultivos trampa y/o plantas antagónicas, uso de abono orgánico, inundación).

Según TENENTE (1996), en condiciones de campo, el amplio rango de hospederos limita la validez de una rotación de cultivo como un método de control.

Existen diversas referencias acerca un adecuado intervalo de tiempo entre cultivos hospederos los cuales varían de 2 a 9 años. Aún si el intervalo de tiempo es cumplido entre los cultivos, el gran número de especies de malezas hospederas de *D. dipsaci* es numeroso lo cual favorece el mantener las poblaciones de nemátodos en el suelo por largos períodos (TENENTE, 1996).

En relación a los métodos químicos WILLIAMS (1984) señala que desafortunadamente las prácticas de control contra los nemátodos son complicadas puesto que a pesar que existan pesticidas que reducen la población de nemátodos, éstos también matan especies benéficas como lo son lombrices de tierra; es por eso que los nematicidas no serían apropiados para ser usados continuamente sobre el suelo cultivado.

En complemento a las medidas anteriores se menciona el uso de variedades resistentes y en general método de control integrado (WINSLOW, 1960 y HOOPER, 1983).

**2.2.3 *Ditylenchus destructor*** . Goodey 1960 citado por SOUTHEY (1978) hace mención a que *D. destructor* fue por primera vez descrito como especie por Thorne en el año 1945 puesto que con anterioridad era considerado como una raza de *D. dipsaci*. Lo mismo es afirmado por distintos autores como FAULKNER y DARLING (1961); HOOPER (1973) y TACCONI y AMBROGIONI (1990).

2.2.3.1 Características morfológicas de *D. destructor*. En sus características generales *D. destructor* es similar a *D. dipsaci*. Al momento de hacer el reconocimiento entre ambas especies destacan algunas diferencias morfológicas claves como son número de líneas laterales y la forma del extremo terminal.

En el Cuadro 1 se mencionan las principales diferencias que hacen posible el reconocimiento de una especie y otra.

**CUADRO 1 Características diferenciales entre *D. dipsaci* y *D. destructor*.**

Especie	Órganos que infecta	Terminación de la cola	Líneas laterales (Nº)
<i>D. dipsaci</i>	Hojas, tallos y flores	Puntiaguda	4
<i>D. destructor</i>	Órganos subterráneos	Redondeada	6

Fuente: adaptado de SOUTHEY, (1978).

En relación a las características morfológicas *D. destructor* presenta un tamaño que varía entre 0.63-1.35 mm para el macho y entre 0.69-1.89 mm para la hembra (AMBROGIONI y TACCONI, 1996 y Hooper citado por ESCUER, 1998), produciéndose considerables variaciones morfométricas en los adultos de acuerdo a su hospedante y/o edad (COMITÉ DE SANIDAD VEGETAL DEL CONO SUR, COSAVE 2003).

Visto desde el plano lateral, la cutícula de *D. destructor* posee seis estrías las cuales se reducen a dos en la zona del cuello y cola (THORNE, 1961). Su estilete varía entre 10-12µm. La cola en ambos sexos cónica, curvada ventralmente con la terminación redondeada (ESCUER, 1998) y en las hembras el saco post-vulval se extiende tres cuartos de distancia del ano (HOOPER, 1973, AMBROGIONI y TACCONI, 1996 y COSAVE, 2003).

2.2.3.2 Distribución geográfica. *D. destructor* ha sido reportado principalmente en zonas templadas como son las áreas localizadas en Norte América, muchas partes de Europa y especialmente en la ex Unión Soviética (HOOPER, 1973). Además, TACCONI y AMBROGIONI (1990) y EPPO (2005) hacen referencia de la presencia de *D. destructor* en África, Asia, Australia, Sud América: Ecuador, Perú y recientemente

de acuerdo al Servicio Agrícola y Ganadero<sup>1</sup> se encuentra presente en Chile a partir de 1998.

2.2.3.3 Hospederos. *D. destructor* es considerado un parásito polífago capaz de infestar cerca de 90 especies de plantas que abarcan una amplia gama de familias botánicas, siendo la papa el principal hospedero HOOPER (1973) ,CHILE, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO, SAG (1994).

Entre la gran diversidad de hospederos destacan: ajo, alfalfa, apio, calabaza, cebada, dalias, girasol, lúpulo, maíz, menta, trébol rosado, zanahoria; etc. (FAULKNER y DARLING, 1961, TACCONI y AMBROGIONI, 1990, MacGUIDWIN y SLACK, 1991; MacGUIDWIN *et al.*, 1992 y ESCUER, 1998). En forma complementaria a estos hospederos, SELMARE *et al.* (1991) señala que éste nemátodo es el más importante en las semillas de maní registrándose grandes pérdidas en Sudáfrica.

2.2.3.4 Biología. *D. destructor* es un endoparásito migratorio que infesta mayoritariamente las partes subterráneas de las plantas como son tubérculos, estolones, rizomas, pero también puede invadir partes aéreas y causar enanismo, arrollamiento y decoloración de las hojas (ESCUER, 1998).

Según HOOPER (1973) *D. destructor*, frente a condiciones de extrema sequía, no puede formar estructuras de resistencia (“ovillos nematológicos”). Para sobrevivir se alimenta de hongos y malezas, de las cuales *Menta arvensis* L y *Sonchus arvensis* L son importantes como reservorio del nemátodo (SOUTHEY, 1978). Además ESCUER (1998) menciona que *D. destructor* en ausencia de plantas es capaz de desarrollarse y reproducirse en al menos 70 especies de hongos como por ejemplo en algunas especies de *Agaricus*, *Penicillium* y *Botrytis*.

---

<sup>1</sup>HENRIQUEZ, E. 2003. Ing. Agrónomo. Santiago, Servicio Agrícola y Ganadero. Comunicación Personal.

2.2.3.5 Control de *D. destructor*. En general *D. destructor* es de mínima importancia como peste en papas en la región Europea y Mediterránea (EPPO), siendo recientemente detectado como un problema grave en todas las zonas productoras de maní en Sudáfrica (HOOPER, 1973 y EPPO, 2005)

Según EPPO (2005), *D. destructor* causa problemas cuando la temperatura fluctúa entre los 15 y 20° C y a una humedad relativa de 90%.

En cuanto al control, el mismo autor menciona el uso de nematicidas aplicados al suelo como una forma eficaz de controlar al nemátodo, aunque no recomendada por el alto costo involucrado y consecuencias sobre el resto de los organismos benéficos del suelo.

Al igual que para el control de *D. dipsaci*, se citan el establecimiento de rotaciones de cultivos con especies no hospederas y el uso de semilla o material propagativo libre del patógeno (HOOPER, 1973, TACCONI y AMBROGIONI, 1990 y EPPO, 2005).

### 3 MATERIAL Y METODO

#### 3.1 Material.

A continuación se describirá el material utilizado en esta investigación.

**3.1.1 Ubicación del ensayo.** El ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Nematología del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, durante los meses de Noviembre de 2003 a Junio del 2004.

**3.1.2 Sustrato.** Como sustrato se utilizó a suelos infestados con los nemátodos *D. dipsaci*, *D. destructor* y suelo sin infestación; lo cual dependió de cada uno de los tratamientos.

Para el caso de *D. destructor*, y debido a la ausencia del nemátodo en la zona de Valdivia, el suelo fue proporcionado por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) de la XI Región, el cual lo obtuvo de un suelo cultivado con papa e infestado con el nemátodo en la temporada 2003-2004 en los alrededores de Coyhaique, sector Chacras Chile Chico.

En el caso de *D. dipsaci* el suelo se obtuvo de un cultivo de ajo infestado con el nemátodo y establecido en la misma temporada en la Estación Experimental Santa Rosa.

El suelo para los tratamientos testigo también fue obtenido de la Estación Experimental Santa Rosa, en un potrero sin cultivar y aledaño al anterior. Como el cultivo de ajo había sido fertilizado en el momento de la plantación con 150 kg de nitrógeno, 300 kg de  $P_2O_5$  y 200 kg de  $K_2O$  esta misma dosis se aplicó al suelo testigo.

El análisis químico del suelo de la Estación Experimental Santa Rosa y el proveniente de Coyhaique se muestra en el Cuadro 2.

**CUADRO 2** Análisis químico de los suelos utilizados en el ensayo.<sup>2</sup>

	T1 ( <i>D. dipsaci</i> )	T2 ( <i>D. destructor</i> )
pH H <sub>2</sub> O	5,36	6,36
pH KCl	4,83	5,91
Ct (%)	6,61	3,24
Nt (%)	0,50	0,25
C/N	13,3	13,2
P Olsen (ppm)	96,0	20,2
Al (ppm)	1630	57
Na (ppm)	159	76
K (ppm)	152	359
Ca (ppm)	443	3490
Mg(ppm)	62	479
Fe (ppm)	196	176
Mn (ppm)	52	168
Cu (ppm)	5,4	2,4
Zn (ppm)	3,0	2,6
B (ppm)	0,9	0,9
S (ppm)		
Al-KCl (ppm)	30	6
Na meq/100g	0,69	0,33
Ca meq/100g	2,22	17,45
Mg meq/100g	0,51	3,94
Suma de Bases meq/100g	3,81	22,64
Saturación Aluminio (%)	8,11	0,27

<sup>2</sup> Laboratorio de Nutrición y Suelos Forestales. 2003. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales.

**3.1.3 Especies vegetales.** Se utilizó semilla comercial de: alfalfa (*Medicago sativa* L. cv. WL320HQ), poroto (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Apolo), haba corriente (*Vicia faba* L), arveja (*Pisum sativum* L. cv. Siete semanas), trébol rosado (*Trifolium pratense* L. cv. Quiñequeli) y trébol blanco (*Trifolium repens* L. cv. Huia).

**3.1.4 Macetas.** El ensayo se realizó en macetas, para lo cual se utilizaron un total de 144 contenedores plásticos de 17 cm largo por 5 cm diámetro basal y 9 cm diámetro superior los cuales fueron llenados con aproximadamente 250 cc de suelo.

**3.1.5 Equipos.** Tanto para el procesamiento de las muestras como para el establecimiento del ensayo se utilizaron: balanza electrónica, cámara fotográfica digital, microscopio, lupa estereoscópica y refrigerador.

**3.1.6 Otros materiales.** Durante el ensayo se usó material fungible como: agujas enmangadas, alcohol desnaturalizado 95°, algodón hidrófilo, baldes y bandejas plásticas, bisturís, bolsas de papel y polietileno, cinta adhesiva, coladores, embudos corrientes y embudo de Baermann, gradillas, lápices marcadores, papel absorbente, palas jardineras, pisceta, placas Petri, portaobjetos y cubreobjetos, regla, sifón aforador, tamices nematológicos de 120, 270 325 y 500 mech/pul<sup>2</sup>, termómetro de máxima y de mínima, tijeras y tubos de ensayo, entre los más importantes.

**3.1.7 Lavado y desinfección de materiales.** Todos los implementos involucrados en la investigación, especialmente las macetas, fueron lavados y desinfectados con agua y detergente para finalmente hacer un lavado con hipoclorito de sodio al 5% y posteriormente hacer un enjuague con agua corriente.

## **3.2 Método.**

El ensayo consistió en sembrar cada una las especies vegetales en suelo infestado y sin infestar con las dos especies de nemátodos a estudiar (*D. dipsaci* y *D. destructor*).

**3.2.1 Preparación de la semilla.** Las semillas fueron desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio (Clorox 5%) al 5.25% durante 5 min y posteriormente se

enjuagaron con agua corriente, absorbiendo el exceso de humedad con papel filtro estéril.

3.2.1.1 Análisis nematológico de la semilla. Previo a la siembra y para comprobar la ausencia de nemátodos, para cada especie se obtuvieron al azar una vez desinfectadas, tres muestras de 5 a 10 semillas cada una, las cuales se procesaron en el laboratorio siguiendo la metodología propuesta por STIRLING *et al.* (2002). Esta consistió básicamente en mantener por seis días la semilla inmersa en agua corriente en un vaso de precipitado a temperatura ambiente; cada 48 horas se recuperó el agua del vaso a través de un set de tamices (100, 270 y 500 mallas/pulgada). El residuo de los dos últimos tamices se recolectó con ayuda de una pisceta en una placa Petri para realizar las observaciones bajo la lupa; por su parte, las semillas se volvieron a sumergir en agua para repetir el procedimiento por dos veces más.

En el ensayo se utilizaron solamente semillas que no se encontraban infectadas con *Ditylenchus spp.*

3.2.1.2 Porcentaje de germinación. Este fue determinado en el Laboratorio de semillas, dependiente de la Facultad de Ciencias Agrarias. Para ello se tomó de cada una de las especies 50 a 100 semillas al azar, las que se colocaron en el germinador bajo condiciones de humedad y temperatura controladas. Al cabo de 15-20 días se procedió a contabilizar el número de semillas germinadas para de esa manera establecer el porcentaje de germinación, el cual se detalla en el Cuadro 3

**CUADRO 3 Porcentaje de germinación de las semillas utilizadas en el ensayo**

<b>Especie</b>	<b>Porcentaje de germinación</b>
Poroto cv. Apolo	96%
Haba corriente	95%
Alfalfa cv. WL320HQ	97%
Arveja cv. Siete semanas	92%
Trébol blanco cv. Huia	94%
Trébol rosado cv. Quiñequeli	95%

**3.2.2 Preparación de los sustratos.** Considerando que los dos suelos utilizados en el ensayo presentaban infestación natural y con un número variable de individuos de *Ditylenchus* en cada uno, se hizo necesario homogenizar la densidad poblacional de *D. dipsaci* a la de *D. destructor*, puesto que en el caso de éste último no existía inóculo disponible.

Para realizar la homogenización de los sustratos en cuanto a la carga de nemátodos se procedió a determinar la concentración inicial a la cual estaban sometidos tales sustratos por medio del método de Baermann el cual permitió conocer la concentración de nemátodos contenidos en 50 gramos de suelo.

El suelo utilizado en los tratamientos con *D. destructor* tuvo una densidad poblacional de 2600 individuos/ 250 g de suelo, por lo que la densidad poblacional original de *D. dipsaci* se homogenizó a la anterior, inoculando al suelo 2 cc de suspensión/ maceta (900 individuos), extraídos por método Baermann a partir de bulbos de ajo infectados, a los 1700 individuos/250 g de suelo iniciales del sustrato lo que permitió obtener una densidad final de 2600 individuos de *D. dipsaci* por 250 g de suelo.

Cabe destacar que a pesar de los procedimientos anteriormente descritos los suelos utilizados no fueron similares entre sí en cuanto a su constitución puesto que debido a las condiciones del ensayo no se pudo contar con un solo suelo en cuestión debido a la carencia de inóculo del nemátodo *D. destructor*. Lo anterior conllevó a considerar un cierto grado de error experimental dentro del ensayo el cual pudo de cierto modo sobre o subestimar el efecto de los nemátodos en las características del desarrollo de planta medidos en la investigación.

**3.2.3 Siembra.** Todas las especies se sembraron en la misma fecha en igualdad de condiciones.

**3.2.4 Riego.** Una vez sembradas las macetas éstas se regaron con agua corriente tres veces por semana por medio de una pisceta. Posteriormente y una vez que las plántulas emergieron la frecuencia de riego fue según necesidades de cada especie.

**3.2.5 Control de temperatura.** La medición de temperatura se hizo diariamente con un termómetro de máxima y de mínima. El horario de medición fue aproximadamente a las 16:00 hr (Anexo 1).

**3.2.6 Duración del ensayo.** El ensayo tuvo una duración estimada de 200 días los cuales consideraron la fecha desde la fase de preparación de los materiales hasta el término de los análisis nematológicos a las plantas y sustratos.

Las cosechas de plantas se realizaron a los 45 y 90 días desde la siembra de las especies.

### **3.3 Evaluaciones**

El ensayo consistió en evaluar y caracterizar el desarrollo de la infestación por parte de los nemátodos en las plantas así como también evaluar el desarrollo de cada una de las especies vegetales y síntomas provocados en las plantas que se desarrollaron en el suelo infestado con las especies de nemátodos involucrados en la investigación.

Las evaluaciones nematológicas a las plantas y al suelo, indicadas en los puntos siguientes permitieron establecer el comportamiento de cada especie de nemátodo en las plantas en estudio.

**3.3.1 Evaluación de las plantas.** Para cada una de las fechas se cosechó el 50% de las macetas, (cuatro repeticiones por tratamiento), las cuales se voltearon sobre una bandeja separando las plantas del suelo.

Una vez extraídas las plantas, cada una de ellas se seccionó en raíz, tallo y hojas, evaluándose parámetros de cada planta en la maceta.

Los características de desarrollo de las plantas analizados en cada una de las etapas del estudio fueron las siguientes:

- Altura de plantas.
- Número de hojas.
- Peso fresco aéreo.
- Peso fresco radical.
- Longitud radical.

La altura se determinó una vez que las plantas fueron extraídas de las macetas y se consideró la distancia en cm que hubo entre el sector en donde comienzan las raíces hasta el extremo apical. Dicho valor fue medido mediante una regla.

El número de hojas consideró el número total de hojas formadas que tenía la planta al momento de las evaluaciones.

Para los análisis de peso de tejidos (aéreo y radical), se consideró solamente peso fresco puesto que al mismo tejido se le utilizó para el análisis nematológico. De ésta forma el peso aéreo consideró los tallos y/o estolones junto con las hojas. La determinación del peso aéreo fue mediante balanza electrónica de precisión.

Finalmente, previo a un lavado y secado de las raíces recuperadas, se procedió a pesar éstas con una balanza electrónica de precisión. El largo de raíz al igual que la altura se midió con regla.

Paralelamente se fue caracterizando la manifestación de síntomas en cada una de las especies vegetales evaluadas.

Una vez registrados los parámetros anteriores, en las plantas de cada maceta se determinó el número de nemátodos por sección (tallo, hojas y raíces) a través de un análisis nematológico por el método de Baermann, determinándose con ello la caracterización de la infestación y distribución de los nemátodos dentro de la planta.

**3.3.2 Evaluación al suelo.** El suelo de cada maceta fue sometido a un análisis nematológico (método Baermann) para establecer el número de *D. dipsaci* o *D. destructor* presentes. Este análisis se realizó en base a 50 g de suelo por maceta o repetición y se realizó a los 45 y 90 días desde la siembra.

**3.3.3 Tasa de multiplicación de los nemátodos (T.M.N).** Con los resultados obtenidos en los puntos anteriores se calculó a los 45 y 90 días la tasa de multiplicación del nemátodo (T.M.N), lo que entregó información acerca de la reproducción de cada uno de los nemátodos en las especies evaluadas.

Para realizar tal calculo se consideró la población inicial de nemátodos al comienzo del estudio y la población final en cada una de las fechas, la cual consideró la población recuperada de nemátodos en las plantas y el suelo, así:

$$TMN=(Pf/Pi)$$

donde:

-Pf= nemátodos en las plantas + nemátodos en el suelo.

-Pi= 2600 individuos.

### **3.4 Extracción de nemátodos por sistema Baermann modificado**

Esta técnica utiliza escaso material de laboratorio y permite la extracción solo de estados móviles de nemátodos tanto del suelo como de las plantas.

Consistió en colocar una cantidad determinada de tejido vegetal trozado sobre un tamiz de malla gruesa, recubierto con una capa de papel facial y dispuesto sobre tres o cuatro soportes de 0.5 cm sobre un platillo o placa Petri. Un vez preparado el material se debe incorporar con una pisceta agua por el borde de la placa en cantidad suficiente como para cubrir levemente la muestra. Esta se mantuvo a temperatura ambiente no superior a 18<sup>0</sup> C por 48 horas, transcurridas las cuales se levantó el tamiz con la muestra y el agua de la placa se recuperó en un tubo de ensayos de 100cc aforados en los 10cc basales.

El tubo con la suspensión se dejó reposar por otras 24 horas en refrigeración para permitir la decantación de todo el material en suspensión, especialmente los nemátodos. Luego utilizando un sifón aforador se extrajo el agua contenida sobre los 10 cc en el tubo. El remanente se homogenizó inyectando aire con una pipeta y se extrajo una alícuota de 0.5 cc la que una vez dispuesta en portaobjetos de recuento se revisó al microscopio.

Con los resultados obtenidos en el ensayo se logró determinar la capacidad de infectar las plantas de cada especie, cuantificando su tasa de reproducción en el sector aéreo y radical.

La misma técnica se utilizó para determinar la población final de nemátodos en el suelo de cada maceta; para ello se procesaron 50 g de suelo de cada maceta o repetición.

### 3.5 Diseño experimental

El diseño experimental a aplicar fue completamente al azar considerando un total de 18 tratamientos. Cada tratamiento tuvo un total de 8 repeticiones, de las cuales el 50% se cosecho a los 45 días y el resto a los 90 días desde la siembra. El diseño del ensayo se aprecia en el Cuadro 4.

**Cuadro 4** Diseño del ensayo.

Especie	Repeticiones (número de macetas)		
	<i>Testigo</i>	<i>D. dipsaci</i>	<i>D. destructor</i>
Trébol blanco	8	8	8
Trébol rosado	8	8	8
Alfalfa	8	8	8
Poroto	8	8	8
Arveja	8	8	8
Haba	8	8	8

### 3.6 Análisis de los datos obtenidos.

Los datos obtenidos en las evaluaciones cuantificables; altura, número de hojas, peso aéreo, peso radical y largo de raíz fueron sometidos a análisis estadístico (ANDEVA) y aquellos en que se registraron diferencias significativas fueron analizados por el test de rango múltiple de Duncan con un 5 % de significancia.

Los valores de altura, número de hojas, peso aéreo, peso radical y largo radical de las especies leguminosas estudiadas y detectadas en alguna de las fechas de evaluación y tratamientos, fueron transformados por medio de  $\log(x)$  y  $1/X$ , para luego analizarlos estadísticamente mediante análisis de varianza y prueba de medias de Duncan, al 95 o 99%, cuando fue necesario.

## 4 PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

A continuación se presentarán y analizarán los resultados obtenidos en relación al efecto de los tratamientos en las plantas, para luego analizar la infestación de ambas especies de nemátodos en éstas.

### 4.1 Características de desarrollo de las plantas

El registro de las características de desarrollo de las plantas se hizo en dos etapas, la primera consideró un tiempo de 45 días desde el momento de la siembra y la segunda 90 días.

Cabe señalar que a pesar de las diferencias detectadas entre los tratamientos en las distintas características medidas de las plantas hay que recordar que éstas diferencias pudieran igualmente haber sido, en parte, resultado de la utilización de distintos sustratos para cada uno de los tratamientos y por lo tanto no siempre atribuibles a la infestación de los nemátodos. Lo anterior hace que los presentes resultados sean sólo aproximaciones de posibles efectos en las plantas debido a la presencia de los nemátodos.

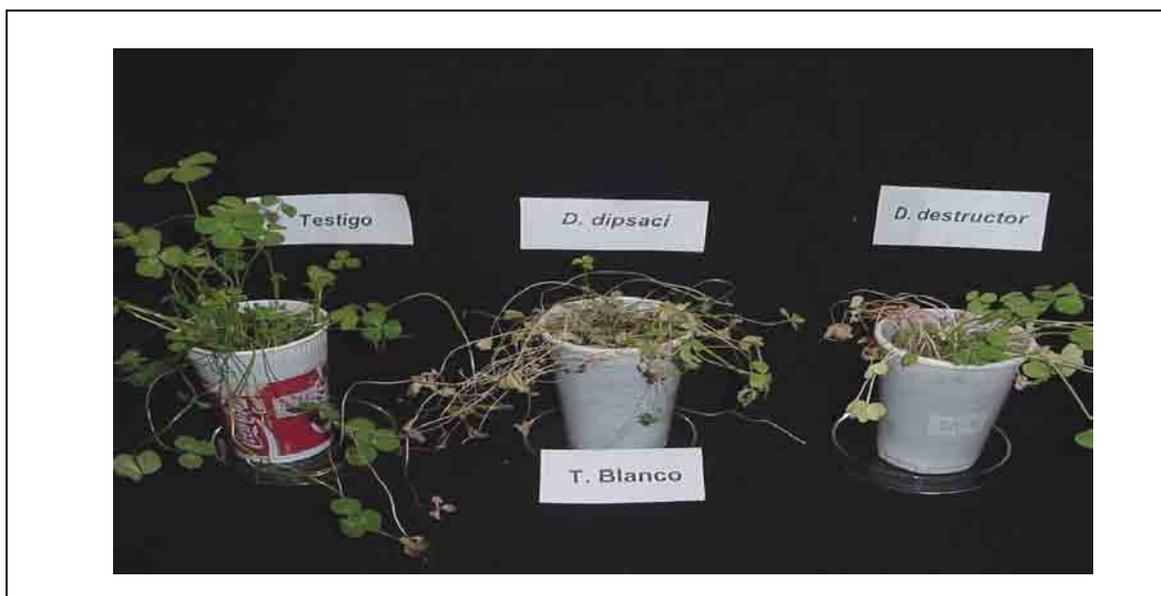
**4.1.1 Altura de plantas a 45 días desde siembra.** En esta primera medición no se detectó un efecto detrimental de los tratamientos con suelo infestado con las especies del género *Ditylenchus*; por el contrario, en el Cuadro 5 destaca que en algunos casos las plantas de tratamientos en suelo infestado desarrollaron mayor altura. Un ejemplo de lo anterior fue lo que sucedió con las plantas de alfalfa que en presencia de *D. destructor* alcanzaron una altura 27,63 cm mientras el testigo solo 13,69 cm y las plantas de trébol blanco cuando crecieron en suelo infestado con *D. dipsaci* alcanzaron los 20,17 cm y el testigo 11,13cm.

**CUADRO 5 Efecto de los tratamientos en la altura (cm) de plantas después de 45 días desde siembra.**

Planta	Testigo (T <sub>0</sub> )	<i>D. dipsaci</i> (T <sub>1</sub> )	<i>D. destructor</i> (T <sub>2</sub> )
Poroto	54,25 a*	33,50 a	42,04 a
Haba	51,44 a	57,50 a	50,88 a
Alfalfa	13,69 b	12,81 b	27,63 a
Arveja	22,56 a	29,67 a	26,20 a
Trébol blanco	11,13 b	20,17 a	10,73 b
Trébol rosado	11,48 a	20,38 a	17,47 a

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.2 Altura de plantas a 90 días desde siembra.** En el Cuadro 6 se observa que a esta fecha las plantas de poroto, haba, arveja y trébol blanco desarrolladas en los sustratos infestados disminuyeron en forma significativa en altura, manifestando como sintomatología un marcado enanismo de las plantas, efecto que se aprecia en la Figura 1 en el caso de trébol blanco.



**FIGURA 1 Plantas de trébol blanco desarrolladas en sustratos infestados con *D. dipsaci* y *D. destructor*.**

En poroto ambos nemátodos afectaron la altura de las plantas sin notar una diferencia entre ellos. Las plantas de haba se vieron afectadas significativamente frente a la presencia de *D.dipsaci* cuya altura promedio fue de 39,5 cm comparado con los 67,0 cm de las plantas testigo mientras que frente a la presencia de *D. destructor* no se detectó efecto. Por su parte las plantas de arveja mostraron un efecto significativo de altura frente a la presencia de *D. destructor* con un valor promedio de 16,29 cm; finalmente las plantas de trébol blanco se vieron igualmente afectadas por ambos nemátodos con valores de 11,17 y 10,08 cm para *D. dipsaci* y *D. destructor* respectivamente no evidenciando diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

Para el caso de alfalfa y trébol rosado no existieron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 6).

**Cuadro 6 Efecto de los tratamientos en la altura (cm) de plantas después de 90 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (T<sub>0</sub>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (T<sub>1</sub>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (T<sub>2</sub>)</b>
Poroto	61,83 a*	48,27 b	52,27 b
Haba	67,00 a	39,50 b	56,75 ab
Alfalfa	22,38 a	19,81 a	26,60 a
Arveja	32,50 a	36,50 a	16,29 b
Trébol blanco	26,58 a	11,17 b	10,08 b
Trébol rosado	20,25 a	16,46 a	15,63 a

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.3 Número de hojas por planta a 45 días desde siembra.** Los sustratos infestados con ambas especies de nemátodos provocaron una disminución significativa en el número promedio de hojas por planta solamente en poroto, especie en que se obtuvieron 4,00 y 3,79 hojas para *D. dipsaci* y *D. destructor* respectivamente, en comparación a las 7,0 hojas del testigo. El resto de las especies no se presentaron diferencias estadísticas, aún cuando la tendencia de los tratamientos infestados con los nemátodos fue a un mayor número de hojas. (Cuadro 7).

**CUADRO 7 Efecto de los tratamientos en el número de hojas de plantas después de 45 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (T<sub>0</sub>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (T<sub>1</sub>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (T<sub>2</sub>)</b>
Poroto	7,75 a*	4,00 b	3,79 b
Haba	7,94 a	10,0 a	8,63 a
Alfalfa	6,38 a	7,00 a	10,38 a
Arveja	8,58 a	9,83 a	9,92 a
Trébol blanco	6,25 a	9,42 a	10,23 a
Trébol rosado	4,12 a	5,04 a	4,77 a

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.4 Número de hojas por planta a 90 días desde siembra.** Nuevamente las plantas de poroto que crecieron sobre suelo infestado mostraron un efecto significativo en este parámetro, con un promedio de 4,08 y 5,21 hojas con *D. dipsaci* y *D. destructor* respectivamente, mientras que el testigo alcanzó a 10,04 hojas.

Destaca que además, en esta fecha el trébol blanco se vio igualmente afectado en forma significativa por ambos nemátodos no existiendo diferencia entre ellos (8,25 y 6,42 hojas con *D. dipsaci* y *D. destructor*).

Para el resto de las especies no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Cuadro 8).

**CUADRO 8 Efecto de los tratamientos en el número de hojas de plantas después de 90 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (T<sub>0</sub>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (T<sub>1</sub>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (T<sub>2</sub>)</b>
Poroto	10,04 a*	4,08 b	5,21 b
Haba	18,50 a	8,75 a	13,50 a
Alfalfa	26,50 a	26,00 a	28,23 a
Arveja	14,25 a	12,00 a	12,25 a
Trébol blanco	16,25 a	8,25 b	6,42 b
Trébol rosado	9,75 a	7,83 a	6,75 a

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.5 Peso aéreo de plantas a 45 días desde siembra.** En éste muestreo el peso aéreo, evaluado como peso fresco por planta desarrollada sobre los sustratos infestado con nemátodos, no se afectó en forma significativa, exceptuando poroto; en cuyo caso el peso fresco alcanzó a 3.80 g con *D. dipsaci* y 3.89 g con *D. destructor* no existiendo diferencias significativas entre ambos tratamientos pero sí con el testigo que alcanzó 6,09 g.

Destaca además lo que sucedió con el caso de las plantas de haba y arveja en que el testigo obtuvo los menores pesos.

Para el resto de las especies no existieron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 9).

**CUADRO 9 Efecto de los tratamientos en el peso fresco aéreo (g) de plantas después de 45 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (T<sub>0</sub>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (T<sub>1</sub>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (T<sub>2</sub>)</b>
Poroto	6,09 a*	3,80 b	3,89 b
Haba	6,54 b	10,5 a	12,16 a
Alfalfa	0,53 a	0,29 a	0,89 a
Arveja	0,87 b	3,15 a	2,29 ab
Trébol blanco	0,11 a	0,49 a	0,43 a
Trébol rosado	0,06 a	0,70 a	0,67 a

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.6 Peso aéreo de plantas a 90 días desde siembra.** En este período las macetas testigo obtuvieron siempre el valor mas alto, siendo este significativamente superior a los otros tratamientos con nemátodo, con la excepción de alfalfa, en que no existió diferencia significativa entre los tratamientos, y arveja en que existió diferencia significativa con respecto a las plantas que crecieron en el sustrato infestado con *D. destructor* (Cuadro 10).

Del mismo Cuadro se desprende que *D. dipsaci* ( T<sub>1</sub> ) y *D. destructor* ( T<sub>2</sub> ) afectaron significativamente el peso aéreo en poroto, haba, trébol blanco y trébol rosado; a lo anterior se suma que *D. destructor* provocó el mismo efecto además en arveja. Se destaca que entre ambos nemátodos solamente existieron diferencias

significativas en poroto y arveja (Cuadro 10). Cabe destacar que en el primero de éstos casos ambos nemátodos afectaron el peso aéreo de las plantas, pero *D. dipsaci* lo hizo en mayor medida respecto a *D. destructor*.

**Cuadro 10 Efecto de los tratamientos en el peso fresco aéreo (g) de plantas después de 90 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (T<sub>0</sub>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (T<sub>1</sub>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (T<sub>2</sub>)</b>
Poroto	7,56 a*	3,32 c	4,85 b
Haba	7,05 a	3,50 b	3,40 b
Alfalfa	1,45 a	1,35 a	1,46 a
Arveja	0,99 a	0,78 a	0,30 b
Trébol blanco	3,06 a	0,45 b	0,31 b
Trébol rosado	1,82 a	0,56 b	0,59 b

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.7 Peso radical de plantas a 45 días desde siembra.** De acuerdo a los resultados presentados en el Cuadro 11 en esta fecha el tratamiento desarrollado en suelo en presencia de *D. destructor* influyó en forma significativa con respecto al testigo en el peso fresco radical de poroto. Para la misma especie vegetal *D. dipsaci* no mostró un efecto sobre el peso radical de las plantas (Cuadro 11).

Destaca en el mismo Cuadro 11 lo ocurrido con trébol rosado donde las plantas testigo mostraron el menor valor en este parámetro (0,03 g ) mientras que las plantas que se desarrollaron en sustrato infestado con *D. dipsaci* obtuvieron el mayor valor de peso radical (0,26 g. ).

Con el resto de las plantas en estudio no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

**Cuadro 11 Efecto de los tratamientos en el peso fresco radical (g) de plantas después de 45 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (T<sub>0</sub>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (T<sub>1</sub>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (T<sub>2</sub>)</b>
Poroto	2,12 a*	1,56 ab	1,00 b
Haba	3,93 a	3,93 a	6,25 a
Alfalfa	0,09 a	0,09 a	0,52 a
Arveja	0,48 a	0,89 a	0,99 a
Trébol blanco	0,06 a	0,32 a	0,13 a
Trébol rosado	0,03 b	0,26 a	0,15 ab

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.8 Peso radical de plantas a 90 días desde siembra.** Al igual que en los demás parámetros registrados en esta segunda fecha de medición, las plantas desarrolladas en suelo infestado con *Ditylenchus* se vieron afectadas en forma diferente dependiendo de la especie del nemátodo que haya estado presente (Cuadro 12). Así *D. dipsaci* no afectó en forma significativa a ninguna especie, mientras que *D. destructor* sí lo hizo en poroto, arveja, trébol blanco y trébol rosado.

En el resto de las especies vegetales (haba y alfalfa), no existieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

**Cuadro 12 Efecto de los tratamientos en el peso fresco radical (g) de plantas después de 90 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (T<sub>0</sub>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (T<sub>1</sub>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (T<sub>2</sub>)</b>
Poroto	2,33 a*	1,83 a	1,04 b
Haba	1,69 a	1,98 a	0,93 a
Alfalfa	1,01 a	0,77 a	1,51 a
Arveja	0,28 a	0,22 ab	0,07 b
Trébol blanco	0,99 a	0,67 a	0,18 b
Trébol rosado	1,12 a	0,66 ab	0,26 b

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.9 Longitud de raíces a 45 días desde siembra.** Las plantas desarrolladas en suelo infestado con ambas especies de nemátodos del género *Ditylenchus* no disminuyó en forma significativa la longitud radical de las especies vegetales en estudio; por el contrario, en algunos casos la presencia de nemátodos en el suelo provocó un incremento en este parámetro. Así por ejemplo, el largo radical de las plantas de poroto creciendo en sustrato infestado con *D. dipsaci* obtuvieron la mayor longitud de raíces (17,26 cm) en comparación con el testigo (12,38 cm), lo mismo sucedió con las plantas de trébol blanco en que nuevamente éstas obtuvieron una mayor longitud radical con *D. dipsaci* (10,81 cm) (Cuadro 13).

En el mismo Cuadro se puede apreciar que en los casos mencionados no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y *D. destructor*. ( $T_0$  y  $T_2$ ).

Por su parte las plantas de trébol rosado también obtuvieron la mayor longitud con *D. dipsaci* (12,09 cm.) con respecto al testigo (5,40 cm.).

Finalmente, en las plantas de haba la mayor longitud radical se obtuvo cuando el nemátodo presente fue *D. destructor* (24,13 cm.) en cuyo caso existió diferencia significativa con el testigo (10,81 cm.) pero no con *D. dipsaci* (16,13 cm.).

Finalmente para éste parámetro en las especies de alfalfa y arveja no existieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. (Cuadro 13).

**Cuadro 13 Efecto de los tratamientos en la longitud radical (cm) de plantas después de 45 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (<math>T_0</math>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (<math>T_1</math>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (<math>T_2</math>)</b>
Poroto	12,38 b*	17,26 a	11,65 b
Haba	10,81 b	16,13 ab	24,13 a
Alfalfa	7,56 a	10,10 a	11,31 a
Arveja	11,67 a	14,67 a	13,98 a
Trébol blanco	6,38 b	10,81 a	5,48 b
Trébol rosado	5,40 b	12,09 a	9,22 ab

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan,  $p < 0,05$ .

**4.1.10 Longitud de raíces a 90 días desde siembra.** A diferencia de lo ocurrido en la medición de 45 días, a los 90 días la longitud radical de las plantas de poroto, arveja y trébol blanco se vio disminuida en forma significativa sólo ante la presencia de *D. destructor*. Así, la longitud radical en presencia de *D. destructor* fue de 7,58 cm en poroto, de 6,21 cm en arveja y 5,33 cm en trébol blanco. Por su parte, las plantas que crecieron en sustrato infestado con *D. dipsaci* no mostraron ningún efecto en su longitud radical (Cuadro 14).

Del mismo Cuadro se desprende que con respecto a el resto de las especies vegetales evaluadas no existió diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

**Cuadro 14 Efecto de los tratamientos en la longitud radical (cm) de plantas después de 90 días desde siembra.**

<b>Especie</b>	<b>Testigo (T<sub>0</sub>)</b>	<b><i>D. dipsaci</i> (T<sub>1</sub>)</b>	<b><i>D. destructor</i> (T<sub>2</sub>)</b>
Poroto	13,08 a*	11,61 ab	7,58 b
Haba	7,58 a	7,00 a	8,38 a
Alfalfa	5,19 a	10,88 a	10,76 a
Arveja	13,25 a	17,75 a	6,21 b
Trébol blanco	11,94 a	9,06 ab	5,33 b
Trébol rosado	11,19 a	11,25 a	9,38 a

\*Letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según Duncan, p < 0,05.

## **4.2 Evaluaciones nematológicas de plantas y suelo.**

Cabe recordar que para este ensayo se utilizó suelo naturalmente infestado con una concentración inicial de 2600 individuos *D. dipsaci* y *D. destructor* por maceta según el tratamiento.

Luego de evaluar los parámetros de desarrollo de las plantas se realizaron análisis nematológicos a éstas y al suelo de las macetas, resultados que se muestran a continuación.

**4.2.1 Número de *D. dipsaci* y *D. destructor* en plantas y suelo a 45 días desde siembra.** En el Cuadro 15 se aprecia que, en general, el número total de nemátodos recuperados por maceta, no logró superar la densidad poblacional inicial presente en éstas, con excepción del tratamiento poroto en suelo infestado con *D. dipsaci* donde el número total de individuos recuperados, incluyendo suelo y plantas, fue similar a la concentración inicial de inoculación (2600 individuos /maceta)

En el mismo Cuadro se aprecia que en todos los tratamientos el mayor número de individuos se recuperó desde el suelo de las macetas, mientras que el número de individuos recuperados desde las plantas representó sólo una fracción del total. En general, *D. dipsaci* se presentó en mayor número de individuos en el suelo con respecto a *D. destructor*.

**CUADRO 15 Número total de nemátodos recuperados por tratamiento (planta y suelo) a 45 días desde siembra.**

Especie	<i>D. dipsaci</i>		<i>D. destructor</i>	
	planta	suelo	planta	suelo
Poroto	150*	2450	50	900
Haba	135	1825	150	225
Alfalfa	125	1325	10	300
Arveja	55	700	70	325
Trébol blanco	160	400	50	300
Trébol rosado	50	225	45	300

\*Valores promedio en base a cuatro repeticiones

Cuando se compara el número de nemátodos presentes en las plantas destaca que en todas las especies hubo una mayor infestación de *D. dipsaci*, con excepción de las plantas de haba y arveja en cuyo caso se recuperaron 150 y 70 individuos de *D. destructor* respectivamente; esto podría explicar una cierta diferencia entre los nemátodos frente a las especies evaluadas (Cuadro 15).

Al comparar la infestación de cada nemátodo en las diferentes especies vegetales destaca que *D. dipsaci* se encontró en mayor cantidad en plantas de trébol blanco (160 ind. /planta) mientras que en trébol rosado (50 ind./planta) cuantitativamente fue menor. Por su parte *D. destructor* estuvo presente en mayor

cantidad en las plantas de haba (150 ind./planta) mientras que el menor conteo fue en las plantas de alfalfa (10 ind./planta).

4.2.1.1 Distribución de nemátodos en las plantas a los 45 días desde siembra. Cuando se evalúa el número de nemátodos recuperados por sección del tejido vegetal se aprecia que en esta fecha de evaluación y para ambas especies de nemátodos la mayor proporción de individuos se recuperó desde la zona de raíces de la mayoría de las especies vegetales (Cuadro 16).

*D. dipsaci*, además de la zona radical, el tallo y/o estolones también fue un sector en el que se encontró nemátodos aunque en ésta última sección el número de individuos fue considerablemente menor en relación con las raíces.

Una excepción a lo anterior la constituyó las plantas de trébol rosado, en donde cantidad de nemátodos recuperada desde el sector radical (20 individuos) fue menor a la recuperada desde los estolones (30 individuos).

A esta fecha la particularidad la constituyó trébol blanco ya que fue la única especie en la que aparte de encontrar nemátodos en la zona de raíces (110) y estolones (45) también se hizo en las hojas (5).

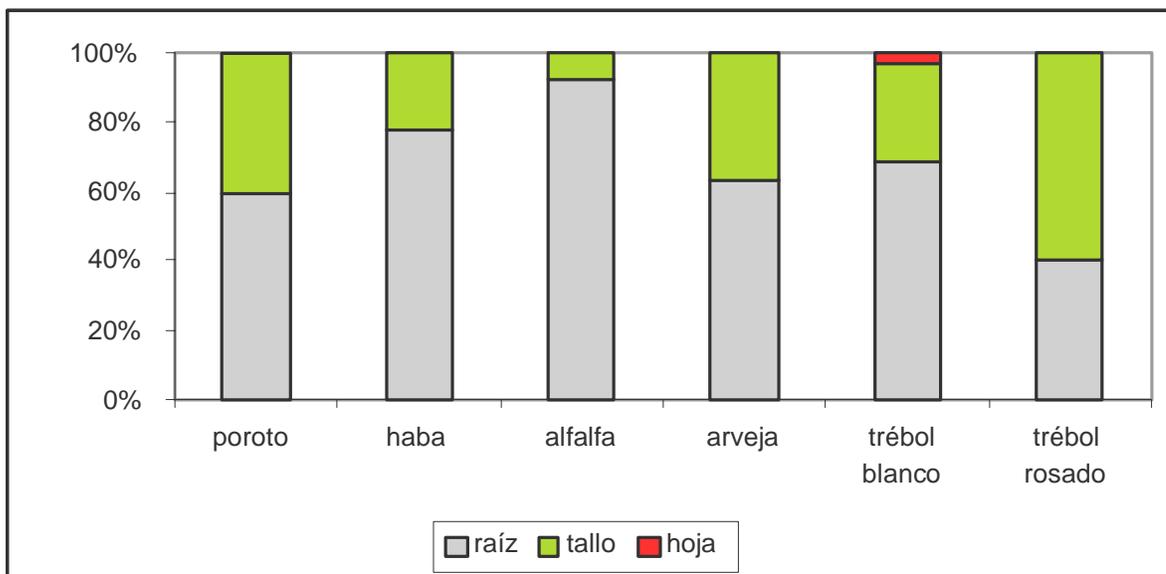
Por su parte, en las plantas de arveja y trébol rosado la detección de nemátodos fue cuantitativamente menor en relación con las demás especies evaluadas en el estudio (Cuadro 16)

**CUADRO 16** Número de individuos *D. dipsaci* recuperados por sección de tejido vegetal a los 45 días desde siembra.

Especie	Sección		
	Raíz	Tallo	Hojas
Poroto	90*	60	0
Haba	105	30	0
Alfalfa	115	10	0
Arveja	35	20	0
Trébol blanco	110	45	5
Trébol rosado	20	30	0

\*Valores promedio en base a cuatro repeticiones.

Cuando se presenta la información como distribución porcentual en plantas (Figura 2) se puede apreciar con mayor claridad que la mayor proporción de nemátodos se concentró en la zona radical de la mayoría de las especies vegetales con excepción de trébol rosado que como se mencionó con anterioridad la mayor recuperación se obtuvo en la zona de los estolones (sector aéreo).



**FIGURA 2** Distribución porcentual de los individuos de *D. dipsaci* recuperados por planta después de 45 días desde siembra

En lo referente a las plantas que crecieron sobre suelo infestado con *D. destructor* se vio que el número de individuos detectados fue menor cuando se compara con la cantidad de individuos recuperados de *D. dipsaci*. Pese a lo anterior y cuando se observa el Cuadro 17 se aprecia que la distribución de *D. destructor* abarcó más allá del sistema radical de las plantas. Así los casos más representativos lo constituyeron las plantas de haba y trébol blanco, especies en las que, además de detectarse nemátodos en el sistema radical (125 y 25 nemátodos respectivamente), se detectó también en tallo / estolones (20 en ambas especies) y hojas de las plantas (5 en ambas especies vegetales).

Por su parte en las plantas de alfalfa se encontraron nemátodos sólo a los tallos (sector aéreo) no encontrando presencia de individuos en ninguna otra sección (Cuadro 17).

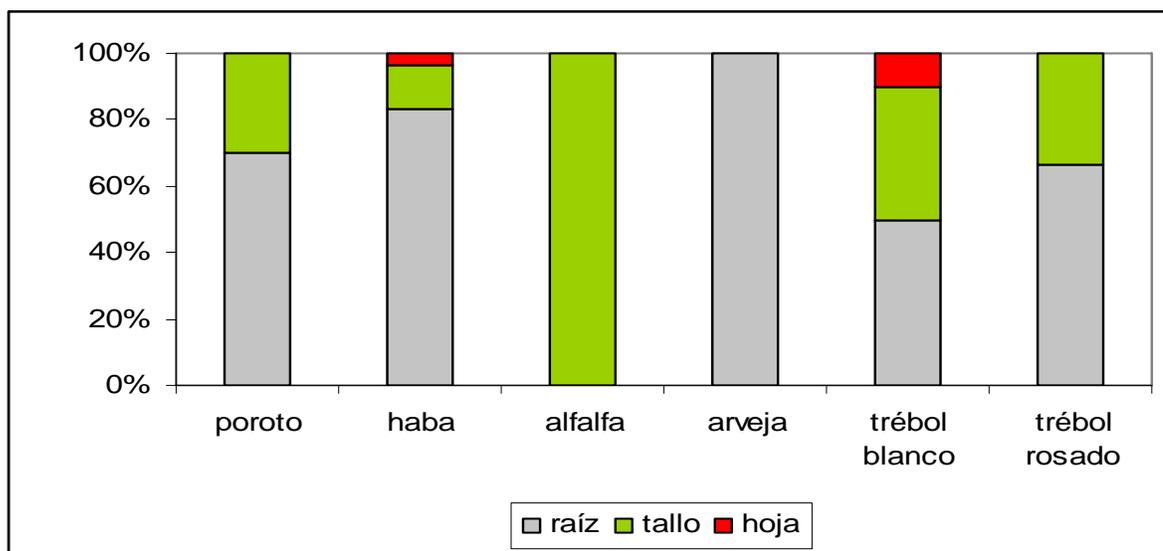
Del mismo Cuadro se puede apreciar que en las plantas de poroto y trébol rosado la distribución estuvo concentrada en raíces y tallos / estolones en forma un tanto más homogénea, mientras que en las plantas de arveja el nemátodo estuvo presente sólo en el sector radical (Cuadro 17).

**CUADRO 17 Número de individuos *D. destructor* recuperados por sección de tejido vegetal a los 45 días desde siembra**

Especies	Sección de la planta*		
	Raíz	Tallo	Hojas
Porotos	35*	15	0
Habas	125	20	5
Alfalfa	0	10	0
Arveja	70	0	0
Trébol blanco	25	20	5
Trébol rosado	30	15	0

\*Valores promedio en base a cuatro repeticiones.

Con objeto de apreciar de mejor la distribución del nemátodo en los cultivos se graficó el aporte porcentual del número de nemátodos detectados por cada sección en la planta, el cual se aprecia en la Figura 3.



**FIGURA 3 Distribución porcentual de los individuos de *D. destructor* recuperados por planta después de 45 días desde siembra**

Los resultados obtenidos permiten deducir que existió mayor poder de infestación de *D. dipsaci*, puesto que se recuperó un mayor número de individuos en las especies evaluadas.

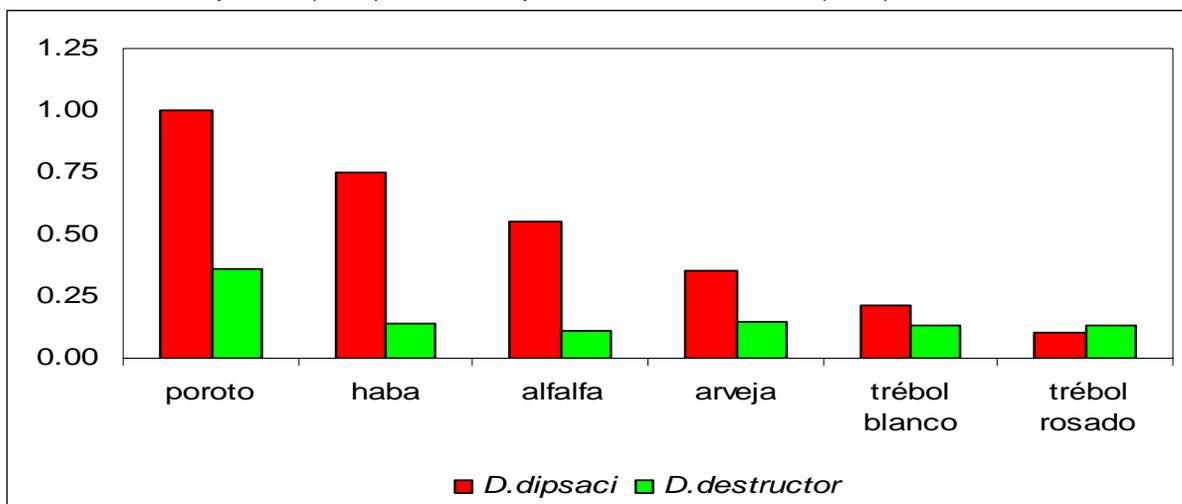
4.2.1.2 Tasa de multiplicación de los nemátodos (T.M.N) a 45 días desde siembra. Con el objeto de conocer el grado de reproducción de ambos nemátodos se graficó la tasa al a cual se multiplicaron cada uno de ellos en las macetas especies vegetales evaluadas.

La Figura 4 muestra la tasa de reproducción de *D. dipsaci* y *D. destructor* en cada una de las especies vegetales.

En la misma figura destaca que *D. dipsaci* obtuvo las mayores tasas de reproducción en la mayoría de las especies vegetales evaluadas con respecto a su par *D. destructor*. La excepción a lo anterior fue con trébol rosado en cuyo caso la tasa de multiplicación del nemátodo *D. destructor* fue de 0,13 mientras que la tasa de multiplicación de *D. dipsaci* fue de 0,10. No obstante lo anterior en ningún tratamiento la tasa de multiplicación fue mayor a 1,0.

Para *D. dipsaci* en la especie que se detectó la mayor tasa de multiplicación fue en poroto (1,0) seguido de haba (0,75), mientras que la menor tasa fue detectada en trébol rosado (0,1).

En el caso de *D. destructor*, la mayor tasa de multiplicación del nemátodo fue encontrada en poroto (0,36) mientras que la menor en alfalfa (0,11).



**FIGURA 4: Tasa de multiplicación de nemátodos del género Ditylenchus en seis especies leguminosas a los 45 días desde la siembra.**

**4.2.2 Número de *D. dipsaci* y *D. destructor* en plantas y suelo a 90 días desde siembra.** El Cuadro 18 ilustra las cantidades promedio de nemátodos encontrados en la planta y suelo de cada uno de los cultivos a los 90 días.

Al hacer una comparación con la primera evaluación a los 45 días, se puede apreciar una considerable disminución en la cantidad de nemátodos encontrados en cada uno de las especies vegetales tanto para *D. dipsaci* como para *D. destructor*.

A pesar de tal baja en el recuento de nemátodos, los efectos en cuanto a sintomatología en la mayoría de las especies fueron más importantes haciendo notar de esta manera que existió un efecto sobre las plantas aún en bajas densidades poblacionales. La prueba de ello fue que el mayor efecto de los nemátodos se hizo notar en mayor medida a los 90 días después de la siembra de las especies evaluadas.

**Cuadro 18 Número total de nemátodos recuperados por tratamiento (planta y suelo) a 90 días desde siembra.**

Especie	<i>D. dipsaci</i>		<i>D. destructor</i>	
	Planta	Suelo	Planta	Suelo
Poroto	160*	250	70	125
Haba	50	425	40	125
Alfalfa	35	100	10	150
Arveja	30	325	45	25
Trébol blanco	50	25	5	75
Trébol rosado	30	70	5	125

\*Valores en base a cuatro repeticiones

El Cuadro 18 se desprende que *D. dipsaci* predominó numéricamente en todas las muestras de tejido vegetal de todos los tratamientos, lo cual puede estar demostrando una mayor persistencia de este nemátodo en las especies leguminosas en estudio. De igual forma el número de nemátodos encontrados en el suelo experimentó la misma tendencia a excepción de alfalfa y trébol rosado en los cuales cuantitativamente el número de individuos recuperados de *D. destructor* fue mayor comparado con *D. dipsaci*.

4.2.2.1 Distribución de los nemátodos en las plantas a los 90 días desde siembra. En el caso de las macetas infestadas con *D. dipsaci* se constató que hubo una clara migración hacia el sector aéreo de la planta ya que además de las raíces, en el tallo y/o estolones y hojas de las plantas también se detectaron nemátodos, (la excepción la constituyeron alfalfa y trébol rosado, en los que sólo se pesquiso en raíces y tallos). Tal comportamiento estaría siendo explicado por su condición de nemátodo endoparásito migratorio (AGRIOS, 1996), y de acuerdo a sus características, para ésta segunda evaluación, estaría afectando principalmente el sector aéreo de las especies evaluadas en éste ensayo.

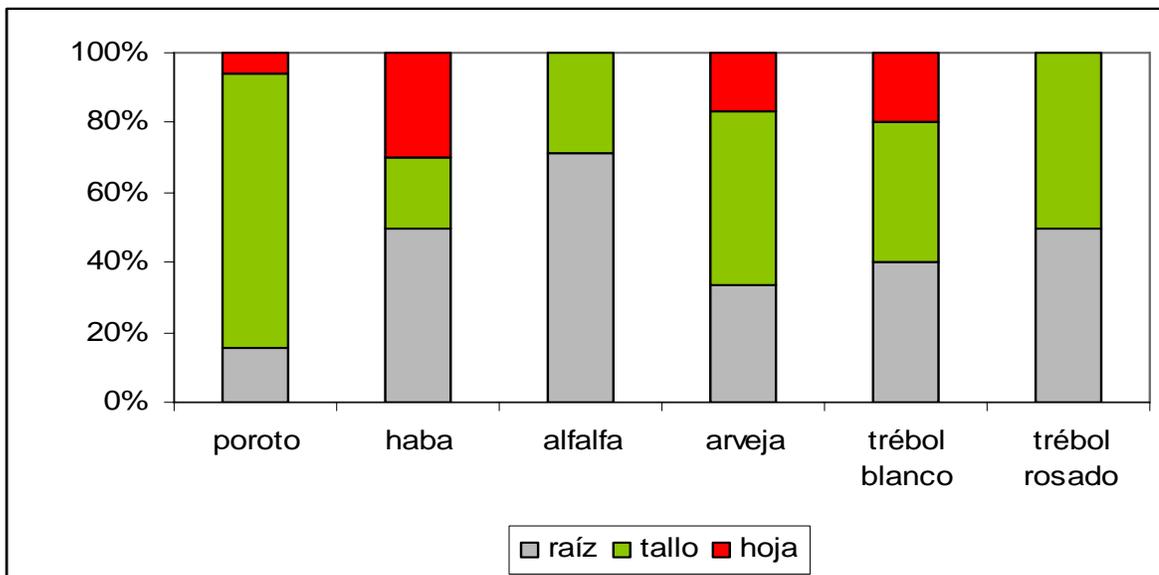
**Cuadro 19 Número de individuos *D. dipsaci* recuperados por sección desde las plantas a los 90 días desde la siembra**

Especies	Sección de la planta *		
	Raíz	Tallo	Hojas
Porotos	25*	125	10
Habas	25	10	15
Alfalfa	25	10	0
Arveja	10	15	5
Trébol blanco	20	20	10
Trébol rosado	15	15	0

\*Número promedio en base a cuatro repeticiones.

Del Cuadro 19 se aprecia que de las especies evaluadas, alfalfa fue la que concentró la mayor población en el sector radical (25 individuos) en comparación al sector aéreo (10 individuos). Por su parte en trébol rosado, el número de individuos detectados fue similar tanto para el sector aéreo como radical (10 individuos). Para el resto de las especies evaluadas el nemátodo se detectó mayormente en el sector aéreo de las plantas.

La información anterior se puede apreciar de mejor manera en la Figura 5, la cual muestra la distribución de *D. dipsaci* en cada una de las especies involucradas en el ensayo.



**FIGURA 5** Aporte porcentual recuperación de *D. dipsaci* por sección de planta a los 90 días desde siembra.

En lo que respecta a las plantas infectadas con *D. destructor*, y con respecto a la primera fecha de evaluaciones, se encontró igualmente una baja en la población aunque ésta vez fue mucho más severa que en el caso de *Ditylenchus dipsaci* analizado anteriormente. La excepción a lo anterior la constituyó poroto en la cual se incrementó la población de individuos (Cuadro 20).

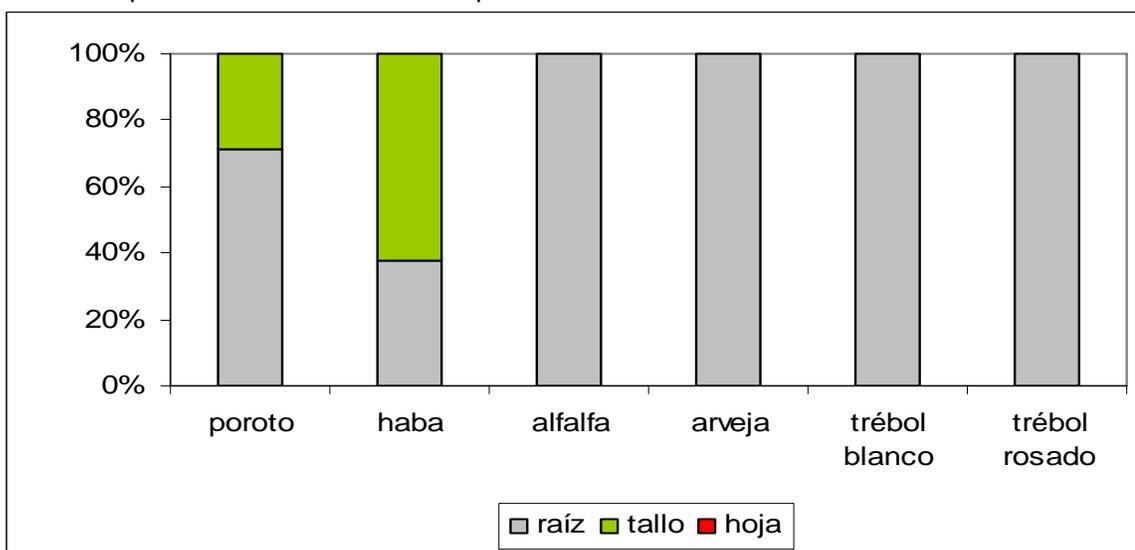
En el mismo Cuadro se puede apreciar que en ésta segunda evaluación no se detectaron nemátodos en las hojas por lo que sólo fueron encontrados en tallos y raíces como lo fue en el caso de haba y poroto y sólo en raíces como lo fue en arveja y alfalfa. Por su parte en trébol blanco y trébol rosado se pesquisó la menor cantidad de individuos (5 individuos).

De las especies evaluadas, haba fue en la que la cantidad de individuos detectados fue mayor en el sector aéreo. Para el resto el sector radical concentró las mayores poblaciones del nemátodo. Lo anterior se aprecia de mejor forma en la Figura 6.

**Cuadro 20** Número de individuos *D. destructor* recuperados por sección desde las plantas a los 90 días desde la siembra

Especies	Sección		
	Raíz	Tallo	Hojas
Porotos	50*	20	0
Habas	15	25	0
Alfalfa	10	0	0
Arveja	45	0	0
Trébol blanco	5	0	0
Trébol rosado	5	0	0

\*Valores promedio en base a cuatro repeticiones



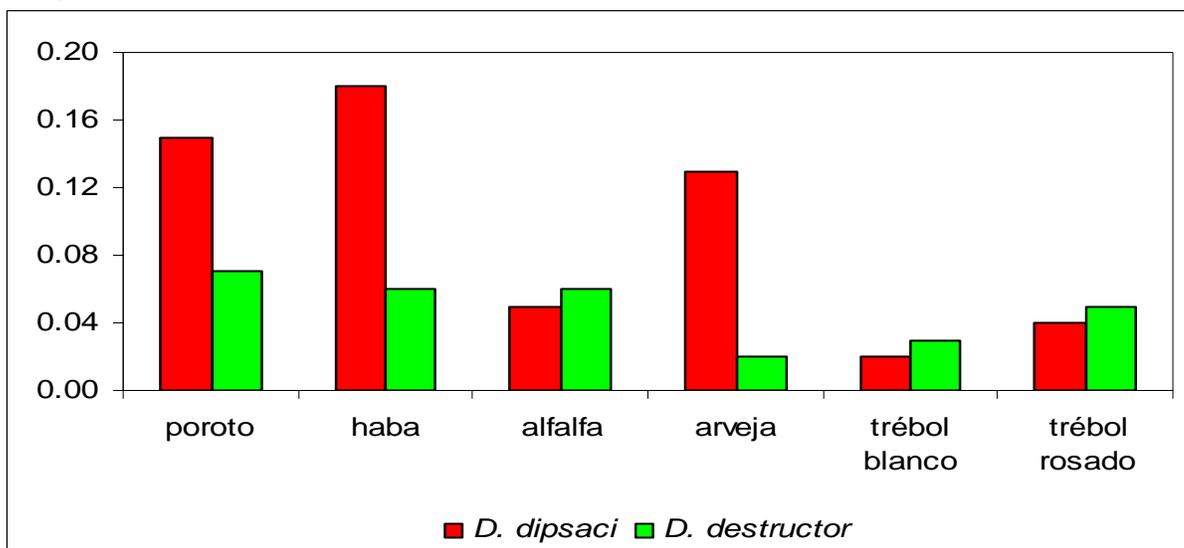
**FIGURA 6** Aporte porcentual recuperación de *D. destructor* por sección de planta a los 90 días desde siembra.

4.2.2.2 Tasa de multiplicación de los nemátodos (T.M.N) a los 90 días desde siembra. A esta fecha la tasa de multiplicación de ambos nemátodos decayó a valores muy bajos siendo en todos los casos inferior en comparación a la primera fecha de las evaluaciones.

De la Figura 7 destaca que ésta vez *D. destructor* obtuvo mayor tasa de multiplicación en relación a *D. dipsaci* en trébol rosado, alfalfa y trébol blanco.

Para el caso de *D. dipsaci* la mayor tasa de multiplicación fué observada en haba seguida por poroto en cuyos casos los valores fueron de 0,18 y 0,15

respectivamente, mientras que *D. destructor* obtuvo las mayores tasas en poroto (0,07) seguida por haba y alfalfa (0,06 en ambas especies).



**FIGURA 7** Tasa de multiplicación de nemátodos del género *Ditylenchus* en seis especies leguminosas a los 90 días desde la siembra.

#### 4.3 Sintomatología de plantas en macetas infestadas.

Durante al transcurso de la investigación se registraron todos aquellos síntomas de las plantas de las especies que le hicieran parecer anormal o alejarse de lo que fuese una planta sana (testigos).

Se pudo apreciar que los síntomas causados por la presencia de los nemátodos en las plantas fueron en general de similares características no evidenciándose un síntoma propio provocado por un nemátodo u otro.

Por otra parte se pudo constatar en general que los síntomas evidenciados en las plantas infestadas por los nemátodos fueron en su mayor parte los mismos a los 45 y 90 días, sin embargo la severidad de los mismos fue mayor a los 90 días post-siembra que a los 45 días.

Los síntomas notados a los 45 días en las plantas que se desarrollaron sobre sustrato infestado fueron clorosis y corrugamiento de hojas, distorsión de tallos y/o estolones y necrosis del borde de las hojas.

Por su parte a los 90 días la sintomatología notada en las plantas fue la misma que se detecto en la primera evaluación además de un enanismo en las plantas.

## 5 DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó el comportamiento de *D. dipsaci* y *D. destructor* en poroto, haba, arveja, trébol blanco y trébol rosado sembradas en macetas con suelo naturalmente infestado con cada especie de nemátodo.

De acuerdo a los resultados obtenidos y a las condiciones en que se realizó el ensayo se estableció que en ninguno de los tratamientos infestados se recuperó un número total de individuos mayor a la utilizada al inicio del ensayo (Cuadros 15 y 18) , lo que estaría indicando que las especies se habrían comportado como pobres hospederos puesto que las tasas de multiplicación de ambos nemátodos fue menor a 1,0.

En cuanto a los parámetros de desarrollo medidos en las plantas, el suelo infestado con los nemátodos tuvo un efecto más evidente en las plantas a los 90 días desde la siembra que a los 45 días. Sin embargo, el número de nemátodos recuperado desde las macetas fue comparativamente superior a los 45 días post siembra; no existiendo entonces una directa relación entre los efectos en las plantas y el número de nemátodos recuperado o bien evidenciando un efecto acumulativo en el tiempo de la presencia de los nemátodos en las plantas que se hizo notar mayormente a los 90 días post - siembra.

Lo anterior no es un caso aislado puesto que GOODEY y HOOPER (1962), en un ensayo en el que se inoculó *D. dipsaci* en alfalfa detectó que el número de nemátodos que habían infestado a la planta era menos del 1% de la concentración utilizada.

Por otra parte normalmente el número de individuos que logran penetrar una planta desde un suelo infestado es sólo una pequeña fracción del total de individuos que están presentes en éste (SASSER, 1989). En complemento a lo anterior ELGUIN *et al.* (1975) mencionan que así como el nivel de inoculo, el método de aplicación de éste también influye en la penetración de *D. dipsaci*. PLOWRIGHT *et al.*(2002) señalan que el mejor método de inoculación es aquel en que los nemátodos se disponen directamente sobre la semilla pregerminada. Igualmente DE WEALE *et al.*

(1991) afirman que las bajas tasas de infestación de las plantas que han sido reportadas como hospederas puede deberse a las diferencias en los métodos de inoculación utilizados.

Igualmente para el caso de *D. destructor*, BASSON *et al.* (1990) realizaron ensayos para determinar la tasa de infestación en raíces de tréboles y tomate y tampoco encontraron grandes poblaciones del nemátodo e incluso en algunos casos fue incapaz de penetrar las raíces de las plantas.

MacGUIDWIN y SLACK (1991) también encontraron niveles de *D. destructor* en avena, trébol rosado, alfalfa, entre otras muy por debajo de la concentración inicial al momento de las evaluaciones, declinando incluso a cero nemátodo por 100 cm<sup>3</sup> de suelo en alfalfa. Lo mismo observaron BASSON *et al.* (1990) al evaluar líneas de trigo, girasol, lupino, poroto, soya, alfalfa y arveja que al momento de hacer recuento de nemátodos en el sistema radical de todas las especies se obtuvo un número menor de individuos que el utilizado para la inoculación.

Por otro lado los resultados de la primera evaluación podrían suponer lo indicado por NICO *et al.* (2002) que en una primera instancia la relación huésped-parásito fue incompatible puesto que los nemátodos no se reprodujeron en forma considerable sobre el huésped.

En el presente ensayo en todas las especies vegetales evaluadas hubo infestación por parte de ambos nemátodos, puesto que al menos una pequeña proporción de la concentración inicial logró penetrar la planta. Prueba de lo anterior fue la recuperación de nemátodos en los tejidos de éstas (raíces, tallos y/o estolones y hojas) (Cuadros 16, 17, 19 y 20). Estos mismos resultados están acordes a la experiencia realizada por GRIFFIN (1975) quién inoculó 20 *D. dipsaci* sobre especies supuestamente no hospederas e igualmente detectó nemátodos en un número menor al inoculado a partir de las plantas.

Lo anterior indicaría que al menos las condiciones de laboratorio durante el ensayo permitieron la invasión de los nemátodos a las plantas. Las condiciones que afectan la invasión a las plantas según GRIFFIN (1980) son la temperatura, humedad y sobrevivencia del nemátodo. Además de las condiciones anteriores Seinhorst (1956) citado por WALLACE (1962) menciona a la textura de suelo como factor que influye sobre una exitosa invasión, afirmando que en suelos pesados de textura arcillosa la

infestación de las plantas por parte de nemátodos se ve favorecida, lo mismo es afirmado por MIYAGAWA y LEAR (1970) y NOMBELA *et al.* (1985).

En cuanto a la temperatura, ésta ha sido considerada por muchos uno de los factores más importantes en el comportamiento, desarrollo y sobrevivencia de los nemátodos situación a la que las especies de *Ditylenchus* no son ajenas. Baker 1959 y Biengefors 1951 citados por GRIFFIN (1968) descubrieron que la movilidad de *D. dipsaci* se ve favorecida con un rango de temperatura de 15-20°C; asimismo la sobrevivencia del nemátodo es adversamente afectada cuando se expone a temperaturas que exceden los 32°C (GRIFFITH *et al.*, 1999); mientras que para *D. destructor* la temperatura óptima para su desarrollo es de 28°C (DE WEALE y WILKEN 1990).

En forma complementaria GRIFFITH *et al.* (1999) afirman que temperaturas bajo 5° C y sobre 20° C afectarán la invasión de *D. dipsaci* a las plántulas de trébol blanco. Lo anterior es importante puesto que durante el transcurso del ensayo la temperatura superó en promedio los 20° C lo que influiría en el desarrollo de la infestación del nemátodo a las plantas y probablemente afectó en el bajo número recuperado de nemátodos en trébol blanco y resto de las especies evaluadas (Anexo 1).

Cuando se analiza el comportamiento de los individuos que penetraron efectivamente a la planta, se pudo apreciar que en la mayoría de las especies evaluadas los nemátodos estuvieron concentrados en el sector radical de las plantas, lo cual podría ser esperado puesto que los nemátodos se encontraban en el suelo y el primer punto posible de entrada que tendrían como opción es la zona radical o la zona que está inmediatamente en contacto con el suelo infestado. Además SASSER (1989), menciona que los nemátodos fitoparásitos se encuentran cerca o en el sector radical de las plantas porque son parásitos obligados y sólo podrán reproducirse cuando se les permita el acceso a vivir de los tejidos de un huésped apropiado.

Sin embargo lo anterior, en el caso de *D. dipsaci* una importante proporción del total de nemátodos que penetró la planta migró rápidamente al sector aéreo de éstas (Figura 2), mientras que en el caso de *D. destructor* una mayor proporción del total de nemátodos recuperados permaneció en el sector radical de las plantas (Figura 3). Las excepciones de *D. destructor* las constituyeron los tratamientos de alfalfa y trébol

blanco en los que la mayor recuperación de individuos fue desde el sector aéreo de las plantas.

Tal comportamiento de los nemátodos estaría avalado por su condición de endoparásitos migratorios los cuales al ingresar dentro de los tejidos migran dentro de la planta infestando otras zonas (DROPKIN 1980, SIKORA y GRECO 1990, DE WEALE *et al.*, 1989).

En cuanto a los tratamientos trébol blanco-*D. dipsaci*; haba-*D. destructor* y trébol blanco- *D. destructor* fueron los únicos que a los 45 días postsiembra se recuperaron nemátodos de todos los tejidos de las plantas analizadas (Cuadros 16 y 17). Los mismos resultados se dieron en una investigación realizada por PALO (1962) en el que plantas de alfalfa al mes de transcurrido el ensayo presentaron infestación de *D. dipsaci* en las raíces, tallos y hojas. Tal comportamiento encontrado en los tratamientos antes mencionados podrían ser explicados por una mayor afinidad de los nemátodos con las especies vegetales aludidas.

En cuanto a la tasa de reproducción observada, se pudo apreciar que ambos nemátodos no lograron una exitosa reproducción puesto que en ninguna de las especies vegetales evaluadas se recuperó un número de individuos superior que los presentes al inicio del ensayo, registrándose siempre T.M.N. no superiores a la unidad. Quizás uno de los factores que determinó tal comportamiento fue que los nemátodos se encontraban en el suelo y no fueron inoculados directamente sobre los tejidos de la planta además del corto tiempo de interacción entre planta y nemátodo como pudieran ser los primeros 45 días de este ensayo (PLOWRIGHT *et al.*, 2002 y GUIÑEZ, 1982).

En cuanto a los parámetros de desarrollo medidos y evaluados en éste ensayo, se pudo apreciar que a los 45 días post-siembra no hubo efecto por parte de los nemátodos en prácticamente ninguna de las especies evaluadas, aunque igualmente se evidenciaron síntomas en las plantas como son clorosis, necrosis en el borde de hojas y distorsiones de tallo. Este último síntoma fue característico en las especies alfalfa, haba y trébol blanco, mientras que necrosis en el borde de hoja fue característico en la especie haba (Figura 8 y 9). Tales síntomas causados a éstas especies leguminosas concuerdan con los mencionados por GRIFFIN (1968), HAGUE (1980) y GRIFFITH *et al.* (1999).

En cuanto a los efectos sobre las características evaluadas la excepción la constituyeron las plantas de poroto quienes frente a *D. dipsaci* mostraron un efecto sobre el número de hojas y peso aéreo de las plantas, mientras que cuando crecieron sobre suelo infestado con *D. destructor* manifestaron efectos además sobre el peso de raíces.



**FIGURA 8** Distorsión de tallos en plantas de alfalfa infestadas con *D. dipsaci* y *D. destructor*

Quizás una de las causas de la inexistencia de un efecto negativo sobre las características de desarrollo de plantas medidas es que haya sucedido lo que afirma Goodey 1948 citado por BLAKE (1962) en el sentido que, en fases tempranas de infestación, los tejidos infestados por *Ditylenchus* liberan auxinas las que causarían un alargamiento y/o crecimiento celular, lo que se traduciría entre otras cosas en un mayor desarrollo de la planta atacada, lo cual respaldaría los resultados de ésta primera evaluación.

Otra posible causa que podría explicar tales resultados es el corto tiempo de interacción planta-nemátodo el cual no permitió presenciar un efecto significativo sobre las plantas (GUIÑEZ, 1982). Lo anterior queda demostrado en un trabajo en que se inoculó 0,6 individuos por gramo de suelo al momento de realizar la siembra de trébol blanco en cuyas plantas solo se mostró un efecto significativo en la disminución del

peso aéreo luego de transcurridas las primeras 22 semanas desde la inoculación (CHAPMAN, 1964).



**Figura 9 Necrosis marginal en hojas de haba infestadas con *D. destructor* a los 40 días desde siembra.**

Por otra parte el peso fresco de raíces de plantas de trébol rosado y arveja en suelo sin infestar fue menor. Estos resultados podrían respaldarse en la investigación realizada por SASSER (1987) en trébol blanco quien afirma que la infestación de endoparásitos en trébol blanco en las primeras fases de crecimiento de la planta provocaría un efecto de poda lo que revertiría en un mayor peso radical de las plantas infestadas con nemátodos v/s plantas sanas. Tal fenómeno según BÖHM *et al.* (1997) al citar a Wallace 1971 se debería a que el efecto de poda provocado en las raíces de la planta sería un mecanismo de defensa por parte de éstas frente al ataque de los nemátodos, ya que al emitir un mayor número de raíces secundarias podría absorber de mejor manera los nutrientes y agua del suelo y con ello aumentar su desarrollo.

YATES (1987) señala que el mayor incremento en el desarrollo inicial de las plantas es provocado por la mayor proliferación de raíces (efecto de poda) lo cual proveería de alimento adicional al nemátodo por lo que no se vería afectado significativamente el desarrollo de la planta en un período de tiempo breve como pudieron ser los primeros 45 días del presente ensayo.

En la misma línea de un incremento en el peso radical de las plantas después de ser infestadas con nemátodos, NORTON (1967) utilizando nemátodos del género *Heterodera* sobre trébol blanco obtuvo en uno de sus análisis que las plantas inoculadas con 100 huevos por maceta obtuvieron un peso seco radical significativamente mayor que las plantas no inoculadas. En el presente ensayo los mismos resultados se dieron en el caso de trébol rosado en donde las plantas libre de nemátodos obtuvieron el menor peso radical (Cuadro11).

Dentro del presente ensayo destaca lo que sucedió en la altura de plantas de alfalfa y trébol blanco. Para la primera de éstas especies la mayor altura se logró cuando las plantas crecieron sobre suelo infestado con *D. destructor*, mientras que para la segunda especie se logró con *D. dipsaci*. Tales resultados podrían ser causa entre otros factores al efecto de poda citado por SASSER (1987) o a la síntesis de auxinas en las primeras fases de crecimiento de las plantas lo que habría provocado un mayor crecimiento en altura de éstas especies así como también pudiera ser el efecto de los distintos sustratos utilizados en el ensayo.

Para el resto de las especies en cuanto a las características de desarrollo de plantas medidas, los nemátodos no provocaron un efecto negativo quizás debido al corto tiempo de interacción con las plantas. Similares resultados coincidieron en un estudio con plantas de alfalfa en las que no hubo incidencia en el rendimiento medido como peso seco de raíces por *D. dipsaci* en plántulas recientemente infestadas (TOMASEL y McINTYRE, 2001).

Al momento de realizar el segundo análisis a las plantas y suelo se constató una disminución pronunciada en el número de nemátodos recuperados con respecto a la primera evaluación. La única especie en la cual el número de nemátodos recuperados desde los tejidos fue comparativamente mayor que la primera evaluación fue poroto. Lo anterior pudiera sugerir alguna raza con una estrecha relación con la especie antes mencionada, puesto que se incrementó su número en los tejidos. Según MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999 las razas específicas para poroto serían raza alfalfa y tulipán. Sin embargo, hay que recordar que para el caso de *D. dipsaci* la población local de nemátodos provino de un cultivo de ajo.

Para el resto de las especies las bajas poblacionales tanto en planta como en el suelo pueden ser atribuidas a distintos factores, como por ejemplo: la densidad

poblacional al inicio del ensayo fue relativamente baja, las especies evaluadas no serían hospederos favorables ya que pueden presentar exudados que no son atractivos a los nemátodos, presencia de nemátodos predadores de fitoparásitos así como también microorganismos antagónicos a los nemátodos fitoparásitos como hongos nematófagos cuyo efecto se vería acentuado con el tiempo (ARROYO *et al.*,2004). En éste sentido, el mismo autor citando a Kerry 1984 cita al hongo *Phytophthora palmivora* como un buen controlador de nemátodos fitoparásitos. De igual manera DAVIS *et al.* (1994) mencionan que cambios en las densidades poblacionales de nemátodos ocurren cuando éstos se exponen a parasitismo y competencia así como también a cambios de temperatura y humedad del suelo, condiciones que en el caso de éste ensayo la temperatura pudo haber jugado un importante rol (Anexo 1).

Los resultados de ésta investigación están en concordancia con un estudio realizado por ZÚÑIGA (2005) quien en un trabajo con *D. dipsaci* sobre gramíneas y hortalizas detectó una pronunciada disminución de nemátodos recuperados a los 90 días respecto a los 60 días post-siembra de las especies, efecto dado principalmente por ser pobres hospederas.

Cuando se analiza y compara el comportamiento de ambos nemátodos destaca que *D. dipsaci* se recuperó de los tejidos de las plantas en mayor número que *D. destructor*, lo cual estaría denotando una cierta diferencia en cuanto a la persistencia del ataque a las especies evaluadas, lo cual estaría confirmando la gran importancia que se le atribuye a *D. dipsaci* en un gran número de especies leguminosas (SIKORA y GRECO 1990, MACGUIDWIN y SLACK, 1991 y GRIFFITH *et al.*,1999).

A pesar de un amplio número de trabajos de *D. dipsaci* sobre especies leguminosas, causa cierto grado de incertidumbre el bajo nivel de infestación detectado en las plantas y como se verá mas adelante el bajo efecto en características de desarrollo provocado sobre algunas especies en éste ensayo. En este sentido por ejemplo en las especies de trébol blanco, trébol rosado y alfalfa hubieron sólo casos aislados en que las características de desarrollo de las plantas se vieron afectadas. Lo anterior sería explicado por HOOPER y SOUTHEY (1978) y DROPKIN (1980) quienes afirman que los efectos del ataque de *D. dipsaci* sobre tréboles y alfalfa será mas significativo en la medida que sean atacadas por la raza específica del nemátodo. Quizá lo anterior explica el bajo impacto sobre dichas especies en el presente ensayo así como también la baja tasa de multiplicación alcanzada (Figura 7).

Lo anterior es válido más aún cuando para éste ensayo no se confirmó la raza del nemátodo utilizada y sólo se tenían que antecedentes que las infestaciones provenían de un suelo cultivado con ajo, para el caso de *D. dipsaci*, y con papa para el caso de *D. destructor*.

En complemento a lo anterior VEGA (1991) y TENENTE (1996) mencionan que se conoce que dentro de una misma población local de *D. dipsaci* pueden existir recombinaciones, las que darían como resultado en cada caso a individuos con características patotípicas propias lo que hace que la patogenidad de una especie en estudio sea muy variable de acuerdo a su origen geográfico, siendo en consecuencia necesario el estudio de poblaciones locales para determinar de ésta manera las especies vegetales hospederas del nemátodo.

En esta misma línea MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999) mencionan una serie de acontecimientos que se van suscitando en las plantas que no son hospederas de *D. dipsaci*, entre las cuales destaca aquella reacción en la cual hay penetración a las plantas pero muy poco desarrollo de los nemátodos, situación que según el autor se da en algunas variedades resistentes y que estaría en concordancia con los resultados de este ensayo.

Por otro lado, al igual que el análisis de la primera evaluación, no hay que restar importancia a las condiciones medioambientales las cuales según GRECO (1993) suprimirían la infestación y reproducción de los nemátodos cuando éstos son expuestos a temperatura ambiental demasiado altas (sobre 30° C) así como también a humedad relativa muy baja.

El bajo número de individuos *D. destructor* recuperado desde las plantas está apoyado en el trabajo realizado por MACGUIDWIN y SLACK (1991) quienes trabajando entre otras especies con alfalfa, trébol rosado y poroto igualmente encontraron un escaso número de nemátodos en los tejidos, lo cual podría estar indicando en éstas y las demás especies evaluadas en el presente ensayo que *D. destructor* tiene menor tendencia a atacar y desarrollarse en éstas leguminosas. Lo anterior es avalado en el hecho de que *D. dipsaci* se recuperó desde las plantas en mayor proporción que *D. destructor* en todas las especies evaluadas (Cuadro 18).

Cuando se analiza el comportamiento de los nemátodos dentro de la planta se pudo constatar que para el caso de *D. dipsaci* la mayor proporción de los individuos estuvo concentrada en el sector aéreo, mientras que *D. destructor* en el sector radical de las plantas (Figuras 5 y 6).

Lo anterior constituye el comportamiento normal de ambas especies de *Ditylenchus* en cuanto a su característica de infestar a las plantas, puesto que en general *D. dipsaci* se caracteriza por atacar sector aéreo de las plantas mientras que *D. destructor* lo hace principalmente al sector radical (DROPKIN 1980, DE WAELE *et al.*, 1990; SIKORA y GRECO 1990, FERRIS, 1999 y MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999). Sin embargo en el caso de *D. destructor* se han reportado trabajos en maní, especie en la cual se han pesquisado la mayor proporción de los nemátodos desde los tallos y semillas de la planta mientras que la menor parte desde las raíces (BASSON *et al.*, 1991 y VENTER *et al.*, 1991).

PALO (1962) afirma que la distribución de *D. dipsaci* dentro de la planta es debido a que éstos parásitos son llevados hacia el sector aéreo en forma pasiva durante el proceso de crecimiento de la planta.

Por otra parte en trabajos con *D. destructor* pero ésta vez en maní se registró individuos que migraron desde la semilla hacia el suelo debido cambios fisiológicos ocurridos en los tejidos a medida que la planta maduraba, sin embargo los nemátodos eran infectivos luego de pocas semanas (BASSON *et al.*, 1991).

Por otra parte en un ensayo con alfalfa en que se evaluó la presencia de *D. dipsaci* después de dos y tres meses después de la inoculación se encontró que el nemátodo estaba frecuentemente en la porción basal y siempre en la zona del ápice de las plantas (PALO, 1962).

En síntesis se puede afirmar que en general *D. destructor* mostró un bajo dinamismo dentro de las especies evaluadas ya que se recuperaron en mayor proporción desde el sector radical y en menor proporción desde los tallo y/o estolones de las plantas.

Los efectos de la infestación de ambas especies de *Ditylenchus* en las características de desarrollo se hizo más notorio a los 90 días post siembra en comparación a los 45 días en las especies evaluadas. Sin embargo, la excepción la constituyó alfalfa ya que la presencia de los nemátodos no afectó significativamente en

el desarrollo de las plantas. A pesar de lo anterior, no se debe olvidar que en la práctica y en el caso de leguminosas forrajeras se considera la práctica de talaje y corte de follaje lo que implica eliminar gran parte del sector aéreo de las plantas dejando de ésta manera que éstas reanuden su crecimiento a partir de los puntos de crecimiento y a expensas del sistema radical (KRAUSZ, 1995). Teniendo en cuenta lo anterior Werdojo *et al.*, 1963, citado por SEINHORST y SEN (1996) encontraron que en parcelas experimentales infestadas con 50 individuos del género *Heterodera* por gramo de suelo el trébol no evidenciaba daño en los primeros meses después de la siembra, sin embargo después de realizar uno o más cortes del follaje mostró una disminución en el rendimiento producto del ataque de los nemátodos. Lo mismo se comprueba en un ensayo en el que se evaluó la patogenicidad de *D. dipsaci* frente a distintos manejos de corte en alfalfa de donde resultó que el número de cortes influyó en el efecto del nemátodo sobre el crecimiento de las plantas (GRIFFIN, 1991).

Por su parte en el presente ensayo, el peso fresco de raíces en haba y alfalfa no se vio afectado por ninguno de los nemátodos. Un resultado similar se observó en maní en donde se advirtió en un ensayo que la presencia de *D. destructor* no afectó significativamente, entre otros parámetros, al peso de raíces (VENTER *et al.*, 1991).

Más allá de pretender dar un análisis de cada una de las características de desarrollo de las plantas, quizás lo más importante a destacar en éste segundo análisis (90 días post-siembra) es el hecho de que a pesar de que el número de individuos infestando las plantas fue comparativamente menor que a los 45 días, los efectos ocasionados fueron mucho más evidentes en cuanto al impacto de los nemátodos por sobre las características de desarrollo, así como también la manifestación de síntomas en las plantas. Tales resultados concuerdan con un ensayo llevado a cabo por WEBSTER (1967) quién encontró que la severidad del ataque de *D. dipsaci* no estaba directamente relacionado a la tasa de multiplicación del nemátodo, sino que más bien estaba influenciado entre otras cosas por el tiempo de infestación y el estado fenológico de la planta (Webster, 1967 y Seinhors 1967 citados por el WEBSTER , 1967). Algo similar observó Brown 1957 citado por PALO (1962), quién en un trabajo con flores reportó la sintomatología característica de *D. dipsaci*, pero no detectó ningún individuo en las inflorescencias.

En cuanto a los síntomas registrados en las plantas en su mayoría se trataron en general y para ambos nemátodos, de distorciones de tallos y hojas, clorosis y necrosis de las hojas así como también enanismo en las plantas. Cabe destacar que los síntomas antes mencionados fueron más claros a los 90 días desde la siembra, por lo que, para las condiciones del ensayo, no hubo una estrecha relación entre los síntomas y el número de nemátodos detectados en las plantas.

Lo anterior hace suponer que existió un efecto acumulativo en el tiempo por la acción temprana de los nemátodos en las plantas lo que provocó un impacto más significativo a los 90 días del ensayo.

## 6 CONCLUSIONES

Para las condiciones del presente ensayo se concluye lo siguiente:

Se acepta hipótesis del ensayo puesto que *D. dipsaci* como *D. destructor* lograron infestar a cada una de las especies evaluadas en el ensayo, así como también provocaron efectos significativos en algunos parámetros de desarrollo y síntomas en la mayoría de las especies.

Las especies vegetales evaluadas se comportaron como hospederos deficientes o desfavorables para ambas especies de nemátodos, ya que la tasa de multiplicación de éstos fue inferior a 1,0.

A los 45 días ambas especies de nemátodos se concentraron principalmente en el sector radical de las plantas, mientras que a los 90 días *D. dipsaci* se ubicó preferentemente en el sector aéreo y *D. destructor* el sector radical.

Los parámetros de desarrollo que se vieron afectados frente a la presencia de *D. dipsaci* fueron altura, peso aéreo mientras que frente a *D. destructor* fue altura, peso aéreo, peso radical y largo radical.

Las especies que mostraron mayor susceptibilidad a *D. dipsaci* fueron poroto, haba y trébol blanco, mientras que para *D. destructor* fueron arveja, poroto y haba.

La sintomatología mas frecuentemente manifestada fue: distorsión de hojas y tallos, encarrujamiento y necrosis de hojas, así como enanismo en plantas. Sin embargo tales efectos no se relacionaron en forma directa con el número de nemátodos presentes.

## 7 RESUMEN

La investigación tuvo por objetivo evaluar la capacidad de *D. dipsaci* y *D. destructor* para infestar a seis especies leguminosas: alfalfa (*Medicago sativa*, L), arveja (*Pisum sativum*, L), haba (*Vicia faba*, L), poroto (*Phaseolus vulgaris*, L), trébol blanco (*Trifolium repens*, L) y trébol rosado (*Trifolium pratense*, L).

Las especies fueron cultivadas en macetas conteniendo sustrato infestado con 2600 individuos/250 g de suelo. El suelo infestado con *D. dipsaci* se obtuvo de un cultivo de ajo infestado en la Estación Experimental Santa Rosa, mientras que para *D. destructor* provino de un suelo cultivado con papa establecido en Coyhaique (XI Región); para los tratamientos testigo el suelo fue obtenido también de la Estación Experimental Santa Rosa, en un potrero sin cultivar y aledaño al anterior. Las evaluaciones a las plantas y suelo se realizaron a los 45 y 90 días desde la siembra, separando en cada fecha el 50% de las macetas de cada tratamiento.

La concentración inicial de nemátodos en las macetas declinó progresivamente durante el transcurso del ensayo y una baja proporción de individuos infestó efectivamente las plantas, encontrándose en los tejidos a los 90 días el mayor número de *D. dipsaci* en poroto seguida de haba y trébol blanco, mientras que *D. destructor* se encontró cuantitativamente en mayor cantidad en poroto seguido de arveja. En la primera evaluación ambos nemátodos se distribuyeron en el sector aéreo y radical de las plantas, mientras que a los 90 días *D. dipsaci* prevaleció en el sector aéreo y *D. destructor* en el radical.

Los efectos en los parámetros de desarrollo y síntomas en las plantas se hicieron más evidentes a los 90 días afectando *D. dipsaci* principalmente altura de poroto, haba y trébol blanco y peso aéreo de las mismas tres especies además de trébol rosado, mientras que *D. destructor* afectó la altura de poroto, arveja y trébol blanco, peso aéreo de haba y arveja, peso radical de poroto y trébol blanco y largo de raíces de arveja.

La sintomatología provocada por ambos nemátodos a las plantas fue en general clorosis, distorsión de hojas y tallos y/o estolones, necrosis marginal de hojas y enanismo de las plantas.

A pesar de haberse detectado efectos y síntomas en las plantas de las leguminosas evaluadas, éstas se comportaron como hospederas deficientes para ambos nemátodos, ya que en ninguna de ellas se recuperó un número de individuos superior a la densidad poblacional inicial a la que fueron sometidos los tratamientos infestados, encontrándose a los 90 días tasas de multiplicación del nemátodo para el caso de *D. dipsaci* entre 0,02 y 0,18 y para *D. destructor* entre 0,02 y 0,07.

## SUMMARY

The objective of the research was to evaluate the capacity of *D. dipsaci* and *D. destructor* to infest six leguminous species: alfalfa (*Medicago sativa*, L), pea (*Pisum sativum*, L), broad bean (*Vicia faba*, L), bean (*Phaseolus vulgaris*, L), white clover (*Trifolium repens*, L) and red clover (*Trifolium pratense*, L).

The species were cultivated in pots containing infested substrate with 2600 individuals/250g of soil. The infested soil with *D. dipsaci* was obtained from an infested garlic culture at the Estación Experimental Santa Rosa, while for *D. destructor* it came from potato cultured soil located in Coyhaique (XI Region); for the control treatments the soil was also obtained at Estación Experimental Santa Rosa, at non cultivated place bordering the former one. The plant and soil evaluations were made 45 and 90 days after the sowing, using in each date 50% of the pots of each treatment.

The initial nematodes concentration in the pots decreased progressively during the course of the research, and only a low proportion of individuals effectively infested the plants, finding in plant tissue after 90 days the highest number of *D. dipsaci* in bean followed by broad bean and white clover, while *D. destructor* was found quantitatively in a higher amount in bean followed by pea. In the first evaluation both nematodes were distributed in the aerial and radical tissue of plants, while after 90 days *D. dipsaci* prevailed in the aerial tissue and *D. destructor* in roots. The effects in the development parameters and plant symptoms were more evident after 90 days affecting *D. dipsaci* mainly the height of bean, broad bean and white clover and the aerial weight of the same three species, besides red clover while *D. destructor* affected the height of bean, pea and white clover, the aerial weight of broad bean and pea, the radical weight of bean and white clover and the length of pea roots.

The symptomatology produced to the plants by both nematodes were in general chlorosis, distortion of the leaves and stems and/or stolons, marginal necrosis of the leaves and dwarfism of the plants.

In spite of having detected the effects and symptoms in the evaluated leguminous plants, these behaved as poor or deficient hosts for both nematodes since

none of them recovered a number of individuals higher to the initial population density to which the infested treatments were exposed, finding after 90 days multiplication rates for the nematode *D. dipsaci* between 0,02 and 0,18 and for the *D. destructor* between 0,02 and 0,07.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

- AGRIOS, G. 1996. Fitopatología. 2ª ed. México. Limusa. 838p.
- APABLAZA, R. 2005. Determinación de la presencia del nemátodo del bulbo y del tallo (*Ditylenchus disaci* (Kühn 1857) Filipjev, 1936) en semillas de haba (*Vicia faba* L.) comercializadas en Valdivia y efectos de la infestación en plantas. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 87p.
- ARROYO, C., MORA, J., SALAZAR, L. y QUESADA, M. 2004. Dinámica poblacional de nemátodos fitoparásitos en pejibaye (*Bactris gasipaes* K) para palmito. *Agronomía Mesoamericana* (Costa Rica) 15(1): 53-59.
- 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* (Bulgaria) 1: 3-7.
- BARRACLOUGH, R. y BLACKITH, R. 1962. Morphometric relationships in the genus *Ditylenchus*. *Nematologica* (Inglaterra) 8 : 51-58.
- BASSON, S. DE WEALE, D. y MEYER, J. 1990. An evaluation of crop plants as host for *Ditylenchus destructor* isolated from peanut. *Nematropica* (USA) 20 (1) : 23-29.
- BASSON, S. DE WAELE, D. y MEYER, A. 1991. population dynamics of *Ditylenchus destructor* on peanut. *Journal of Nematology* (USA) 23 (4): 485-490.

- BLAKE, C. 1962. The etiology of tulip-root disease in susceptible and in resistant varieties of oat infested by the stem nematode, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. *Annals Applied Biology* (Inglaterra) 50: 703-722.
- BÖMH, L., KRAUSZ, C. y GONZALEZ, S. 1997. Efecto del nemátodo quiste del trébol *Heterodera trifolii* Goffart en el desarrollo vegetativo de dos cultivares de trébol blanco. *AgroSur* (Chile) 25 (1):24-33.
- CHAPMAN, R. 1964. Effeect of clover cyst nematodes on growth of red and white clovers. *Phytopathology* (USA) 54 (4): 417-418.
- COOK, R. MIZEN, K PLOWRIGHT, R. y YORK, P. 1992. Observations on the incidence of plant parasitic nematodes in grassland in England and Wales. *Grass and Forage Science* (Inglaterra) 274-279.
- CHILE; SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO, SAG 1994. *Ditylenchus destructor*. Santiago, Folleto técnico N°10.
- CHRISTIE, J. R. 1974. *Nemátodos de los vegetales: su ecología y control*. México D.F. Limusa, 275p.
- COMITE DE SANIDAD VEGETAL DEL CONO SUR, COSAVE 2003. *Ditylenchus destructor* Thorne. Tylenchida: Anguinidae.(On line) <http://www.cosave.org.py/cosave0htm.>> (30 nov.2003)
- DAVIS, R. ,KANE, R. , WILKINSON, H y NOEL, G. 1994. Population fluctuations of three nematode genera in putting greens in Northern Illinois. *Journal of Nematology* (USA) 26 (4): 522-530.

- DE WAELE, D. JONES, B. BOLTON, C y VAN DEN BERG, E. 1989. *Ditylenchus destructor* in hulls and seeds of peanut. Journal of Nematology (USA) 21 (1): 10-15.
- DE WAELE, D. y WILKEN, R. 1990. Effect of temperature on the in vitro reproduction of *Ditylenchus destructor* isolated from groundnut. Revue Nématologie (Francia) 13 (2) 171-174.
- DE WAELE, D. WILKEN, R. y LINDEQUE, J. 1991. Response of potato cultivars to *Ditylenchus destructor* isolated from groundnut. Revue Nématologie (Francia) 14 (1): 123-126.
- DE WEALE, D., JORDAAN, E. y BASSON, S. 1990. Host status of seven weed species and their effects on *Ditylenchus destructor* infestation of peanut. Journal of Nematology (USA) 22(3): 292-296.
- DROPKIN, V. 1980. Introduction to Plant Nematology. Nueva York. Willey,. 293p.
- ELGIN, J. EVANS, D. y FAULKNER, L. 1975. Factors affecting the infection of alfalfa seedlings by *Ditylenchus dipsaci*. Journal of Nematology (USA) 7 (4): 380-383.
- EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION,  
EPPO 2005. *Ditylenchus destructor*. <[www.eppo.org/quarantine/nematodes/Ditylenchus\\_destructor/dityde\\_ds.pdf](http://www.eppo.org/quarantine/nematodes/Ditylenchus_destructor/dityde_ds.pdf)> (20 de Junio 2005).
- EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION,  
EPPO 2005 .*Ditylenchus dipsaci*. <[www.eppo.org/quarantine/nematodes/Ditylenchus\\_dipsaci/ditydi\\_ds.pdf](http://www.eppo.org/quarantine/nematodes/Ditylenchus_dipsaci/ditydi_ds.pdf)>. (20 de Junio 2005)
- ERIKSSON, K.B. 1972. Nematode diseases of pasture legumes and turf grasses. In: Webster, J.M. (ed.). Economic nematology.. Londres, Inglaterra. Academic Press. pp: 66 – 96.

- ESCUER, M. 1998. Nemátodos del genero *Ditylenchus* de interés fitopatológico. Boletín Sanidad Vegetal – Plagas (España) 24: 773-786.
- FAULKNER, L.R. y DARLING, H.M. 1961. Pathological histology, host, and culture of the potato rot nematode. Phytopathology (USA) 51: 778-786.
- FERRIS, H. 1999. *Ditylenchus destructor*. (On line). Departament of Nematology. University of California Davis <<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/taxadata/G042S2.htm>> (2 de Octubre 2004).
- FRAME, J., CHARLTON, J.F.L. y LAIDLAW, A.S. 1998. Temperate Forage Legumes. Londres. CAB International. 327p.
- GOODEY, J.B. 1965. *Ditylenchus* and *Angina*. In: Southey, J.F. (ed.). Plant nematology. Londres, Inglaterra. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. pp: 47 – 58.
- GOODEY, J. y HOOPER, D. 1962. Observations on the attack by *Ditylenchus dipsaci* on varieties of oats. Nematologica (USA) 8: 33-38.
- GRECO, N. y MORENO, I. 1994. Nemátodos fitopatógenos en cultivos hortícolas y su control. In: VII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Libro de resúmenes. Santiago, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile. pp: 149-154.
- GRECO, N. y DI VITO, M. 1987. The importance of plant parasitic nematodes in food legume production in the Mediterranean region. In: Saxena, M.C., Sikora, R.A. y Srivastava, J.P. (eds.). Nematodes parasitic to cereals and legumes in temperate semi-arid regions. Roma, Italia. International Center for Agricultural Research in the dry areas (ICARDA). pp: 28-45.

- GRIFFIN, G. 1975. Parasitism of nonhost cultivars by *Ditylenchus dipsaci*. Journal of Nematology (USA) 7 (3): 236-238.
- GRIFFIN, G. 1980. Interrrelationship of *Meloidogyne hapla* and *Ditylenchus dipsaci* on resistant and susceptible alfalfa. Journal of Nematology (USA) 12 (4): 287-293.
- GRIFFIN, G. 1968. The pathogenicity of *Ditylenchus dipsaci* to alfalfa and relationship of temperature to plant infection and susceptibility. Phytopathology (USA) 58 : 929-932 p.
- GRIFFIN, G. 1991. Relationship of *Ditylenchus dipsaci* and harvest practices to the persistence of alfalfa. Journal of Nematology (USA) 23 ( 3 ): 306-315.
- GRIFFITH, G. COOK, R. y MIZEN, K. 1999. Effects of temperature on stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) infestation of white clover (*Trifolium repens*) swards. Nematology (Holanda) 1 (4): 415-420.
- GRECO, N. 1993. Epidemiology and management of *Ditylenchus dipsaci* on vegetable crops in southern Italy. Nematropica (USA). 23 (2): 247-251.
- GUIÑEZ, A. 1982. Nemátodos en praderas de Chile. Investigación y Progreso Agropecuario. INIA La Platina (Chile) (9):29-33.
- GUIÑEZ, A. 1981. Fluctuación en la población de nemátodos mediante la rotación de cultivos. Agricultura Técnica (Chile) 41 (1): 57-59.
- HAGUE, N.G.M. 1980. Nematodes of legume crops. **In:** Summerfield, R.J. y Bunting, A.H. (eds.). Advances in legume science. Southampton. England. pp: 199-205.
- HIRSCHMANN, H. 1960. Gross morphology of nematodes. **In:** Sasser, J.N. y Jenkins, W.R. (eds.). Nematology: fundamentals and recent advances with emphasis

on plant parasitic and soil forms. Chapel Hill. University of North Carolina. pp: 125-129.

HIRSCHMANN, H. 1960. The genera *Tylenchus*, *Psilenchus*, *Ditylenchus*, *Angina*, *Tylenchorhynchus*, *Tetylenchus*, *Trophurus* and *Macrotrophurus*. In: Sasser y Jenkins (eds.). Nematology: Fundamentals and recent advances with emphasis on plant parasitic and soil forms. Chapel Hill. University of North Carolina press. pp: 171-180.

HOOPER, D.J. y SOUTHEY, J.F 1978. *Ditylenchus*, *Anguina* and related genera. In: Southey, J. F. (ed.). Plant Nematology. Londres, Inglaterra. Her Majesty's Stationery Office. .pp: 78-97.

HOOPER, D. J. 1983. Nematode pest of *Vicia faba* L. In: Hebblethwaite, P.D. (ed.). *Vicia faba*. Gran Bretaña. Scribe Design. pp: 347 – 370.

HOOPER, D.J. 1972. *Ditylenchus dipsaci*. C.I.H. Descriptions of plant parasitic Nematodes. Commonwealth Institute of Helminthology. St. Albans. Inglaterra. Set 1, Nº 14.

HOOPER, D.J. 1973. *Ditylenchus destructor*. C.I.H. Descriptions of plant parasitic Nematodes. Commonwealth Institute of Helminthology. St. Albans. Inglaterra. Set 2, Nº 21

INGHAM, R. y JENSEN, H. 1999. Nematodes. (On line). Oregon State University extension. <<http://plant-disease.orst.edu/articles.cfm>>. (2 Octubre 2003).

INSUNZA y VALENZUELA 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) Filipjev, the stem nematode. *Fundamental and Applied Nematology* (Holanda) 17(5): 469-473.
- JONES, F.G. 1965. Structure and classification of nematodes. **In:** Southey, J.F. (ed.). *Plant Nematology*. Londres, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. pp: 3 - 29.
- KRAUSZ, C. 1995. Comportamiento de ocho poblaciones de *Heterodera trifolii* Goffart en *Trifolium repens* L. y su efecto en el desarrollo vegetativo de la planta. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. 150p.
- LATORRE, B. 1992. Enfermedades de plantas cultivadas. 3ª ed. Santiago, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile. 628 p.
- MAGUNACELAYA, J.C. y DAGNINO, E. 1999. Nematología agrícola en Chile. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Serie Ciencias Agronómicas Nº 2. 282 p.
- MacGUIDWIN, A.E. y SLACK, S.A. 1991. Suitability of alfalfa, corn, oat, red clover, and snapbean as host for the potato rot nematode, *Ditylenchus destructor*. *Plant Disease* (USA) 75 (11) :1097-1102.
- MacGUIDWIN, A.E., WIXTED, D.J. y HUDELSON, B.D. 1992. Aboveground infection of snap bean by *Ditylenchus destructor*, the potato rot nematode. *Phytopathology* (USA) 51: 778-786.
- MAI, W.F y LYON, H.H. 1975. Pictorial key to genera of plant-parasitic nematodes. 4ª ed. Nueva York. Cornell University. 219 p.
- MILANO, M. y McINTYRE, G. 2001. Distribution and biology of *Ditylenchus dipsaci* and *Aphelenchoides ritzemabosi* in alfalfa grown in Colorado. *Nematropica* (USA) 31(1): 11-16.

- MIYAGAWA, S. y LEAR, B. 1970. Factors influencing survival of *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) in soil. *Journal of Nematology (USA)* 2 (2): 139-142.
- MOUNTAIN, W.B. 1960. Mechanisms involved in plant-nematode relationships. **In:** Sasser y Jenkins (eds.). *Nematology: fundamentals and recent advances with emphasis on plant parasitic and soil forms*. Chapel Hill. University of North Carolina. pp: 426-431.
- NICO, A. JIMENEZ, R. y CASTILLO, P. 2002. Nemátodos fitoparásitos en viveros de olivo en Andalucía. (On line) Consejo Superior de Investigación Científica. Instituto de Agricultura Sostenible. <[www.ias.CSIC.es/pcastillo/vidarural\\_159\\_52\\_57\\_2002.pdf](http://www.ias.CSIC.es/pcastillo/vidarural_159_52_57_2002.pdf)> (14 de Octubre 2005).
- NOMBELA, G. NAVAS, A. y BELLO, A. 1985. *Ditylenchus dipsaci* en los cultivos de leguminosas y cereales de la región central. *Boletín Servicio Plagas (España)* (11): 205-216 p.
- NORTON, D.C. 1967. Relationships of *Heterodera trifolii* to some forage legumes. *Phytopathology (USA)* 57 (12):1305-1308.
- NORTON, C. 1978. *Ecology of plant-parasitic nematodes*. Nueva York. Willey. 268p.
- PALO, A. V. 1962. Translocation and development of stem eelworm, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) in lucerne, *Medicago sativa* L. *Nematologica (Holanda)* 8 (7) 122-132 p.
- PERRY, R. y WRIGHT, D. 1998. *The Physiology and Biochemistry of Free Living and Plant Parasitic Nematodes*. Londres. Cabi Publishing. 438 p.
- PLOWRIGHT, R. CAUBEL, C. y MIZEN, K. 2002. *Ditylenchus* species. **In:** Starr, J.; Cook, R. y Bridge, J. (eds.). *Plant resistance to parasitic nematodes*. Sloug, England. Cab International. pp: 107-139.

- ROMAN, J. 1978. Fitonematología tropical. Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico. 256p.
- SASSER, J. N. 1987. A perspective on nematode problems worldwide. **In:** Saxena, M. C., Sikora, R. A. y Srivastava, J.P. (eds.). Nematodes parasitic to cereals and legumes in temperate semiarid regions. International Center for Agricultural Research in the Dry areas (ICARDA). pp: 13-27.
- SASSER, J.N. 1989. Plant – Parasitic Nematodes: The Farmer's Hidden Enemy. Raleigh, USA North Carolina State University. 115 p.
- SEINHORST, J.W. y SEN, A.K. 1996. The population density of *Heterodera trifolii* in pastures in the Netherlands and its importance for the growth of white clover. Netherlands Journal of Plant Pathology (Holanda) 72: 169-183.
- SELMARE, B., De WAELE, D.G.M.A. y MEYER, A.J. 1991. Population dynamics of *Ditylenchus destructor* on peanut. Journal of Nematology (Inglaterra) 23 (4) :485-490.
- SKIPP, R.A. y GAYNOR, D.L. 1987. Pest-nematodes. **In:** Baker, M.J. y Williams, W.M. (eds.). White clover. Aberystwyth. Gran Bretaña. Cambrian. pp: 493-512.
- SIKORA, A and GRECO, N. 1990. Nematode parasites of food legumes. **In:** Luc, M., Sikora, R.A., and Bridge, J. (eds.) Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Cambridge, Inglaterra. CAB International pp: 181-235.
- STIRLING, G. NICOL, J. y REAY, F. 2002. Advisory Services for Nematode Pests; Operation Guidelines. (On line) Australia, Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC). 119p.
- SOUTHEY, J. 1978. Plant Nematology. 3<sup>a</sup> ed. Londres, Her Majesty's Stationery Office. 440 p.

- TACCONI y AMBROGIONI. 1990. Nematodi da Quarantena: *Ditylenchus destructor*. Informatore Fitopatologico (Italia) 40 (3) : 49 – 52.
- TACCONI y AMBROGIONI. 1990. Nematodi da Quarantena: *Ditylenchus dipsaci*. Informatore Fitopatologico (Italia) 40 (4) : 35 – 38.
- TENENTE, R. (1996). Nematode problems of bulbs, with special reference to *Ditylenchus dipsaci*. Nematropica (USA) 26 (1): 91-99.
- THORNE, G. 1961. Principles of Nematology. Nueva York . McGraw-Hill 553p.
- TAYLOR, A.L. 1971. Introducción a la nematología vegetal aplicada. Roma, Italia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) 131 p.
- VENTER, C. De WEALE, D. y MEYER 1991. Retrospective and damage potential of *Ditylenchus destructor* on peanut. Journal of Nematology (USA) 23 (1): 12-19.
- WALLACE, H.R. 1962. Observations on the behaviour of *Ditylenchus dipsaci* in soil. Nematologica (Holanda) 8 (7) : 91-101.
- WALLACE, H.R. 1973. Nematode ecology and plant disease. Londres, Inglaterra. Arnold. 228 p.
- WEBSTER, J. 1967. The significance of biological races of *Ditylenchus dipsaci* and their hybrids. Annals of Applied Biology (Inglaterra) (59) : 77-83.
- WENDT, K. VRAIN, T. y WEBSTER, J. 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.
- WINSLOW, R.D. 1960. Some aspects of the ecology of free-living and plant-parasitic nematodes In: Sasser, J.N. y Jenkins, W.R. (eds.). Nematology: fundamentals

and recent advances with emphasis on plant parasitic and soil forms. Chapel Hill. North Carolina University . pp: 341-415.

WILLIAMS, R.D. 1984. Crop protection handbook-grass and clover swards. Suffolk, Inglaterra. Lavenham. 105p.

YATES, G.W. 1987. How plants affects nematodes. Advances in Ecological Research. (Nueva Zelanda) 17: 61-113.

ZÚÑIGA, D. 2005. Comportamiento de seis especies vegetales cultivadas en macetas con suelo infestado con *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 88 p.

**ANEXOS**

**ANEXO 1 Temperaturas máximas y mínimas registradas a lo largo del ensayo.**

<b>Fecha</b>	<b>T° máxima °C</b>	<b>T° mínima °C</b>	<b>Fecha</b>	<b>T° máxima °C</b>	<b>T° mínima °C</b>
<b>16/12/03</b>	33	17	<b>14/01/04</b>	31	21
<b>17/12/03</b>	34	18	<b>15/01/04</b>	37	21
<b>18/12/03</b>	32,5	21	<b>16/01/04</b>	37	20
<b>19/12/03</b>	32	24	<b>17/01/04</b>	36	22
<b>20/12/03</b>	32	17	<b>18/01/04</b>	32	19
<b>21/12/03</b>	28	15	<b>19/01/04</b>	31	20
<b>22/12/03</b>	29	17	<b>20/01/04</b>	36	26
<b>23/12/03</b>	27	18	<b>21/01/04</b>	35	24
<b>24/12/03</b>	33	16	<b>22/01/04</b>	30	19
<b>25/12/03</b>	31	17	<b>23/01/04</b>	30	19
<b>26/12/03</b>	32	17	<b>24/01/04</b>	22	20
<b>27/12/03</b>	29	16	<b>25/01/04</b>	32	20
<b>28/12/03</b>	31	19	<b>26/01/04</b>	34	19
<b>29/12/03</b>	29	17	<b>27/01/04</b>	33	21
<b>30/12/03</b>	32	18	<b>28/01/04</b>	28	21
<b>31/12/03</b>	31	19	<b>29/01/04</b>	30	26
<b>1/01/04</b>	37	21	<b>30/01/04</b>	34	17
<b>2/01/04</b>	38	20	<b>31/01/04</b>	40	17
<b>3/01/04</b>	26	16	<b>1/02/04</b>	29	19
<b>4/01/04</b>	28	18	<b>2/02/04</b>	34	18
<b>5/01/04</b>	29	20	<b>3/02/04</b>	33	18
<b>6/01/04</b>	36	20	<b>4/02/04</b>	35	18
<b>7/01/04</b>	36	19	<b>5/02/04</b>	39	21
<b>8/01/04</b>	29	21	<b>6/02/04</b>	32	17
<b>9/01/04</b>	22	17	<b>7/02/04</b>	29	17
<b>10/01/04</b>	34	19	<b>8/02/04</b>	31	18
<b>11/01/04</b>	37	19	<b>9/02/04</b>	33	18
<b>12/01/04</b>	30	16	<b>10/02/04</b>	31	19
<b>13/01/04</b>	27	16	<b>11/02/04</b>	32	18

Fecha	T° máxima °C	T° mínima °C	Fecha	T° máxima °C	T° mínima °C
12/02/04	31	19	26/02/04	36	20
13/02/04	29	20	27/02/04	34	21
14/02/04	31	18	28/02/04	28	17
15/02/04	39	17	29/02/04	29	17
16/02/04	35	18	1/03/04	31	16
17/02/04	29	17	2/03/04	31	16
18/02/04	30	18	3/03/04	29	19
19/02/04	37	19	4/03/04	32	19
20/02/04	34	20	5/03/04	31	18
21/02/04	41	21	6/03/04	33	19
22/02/04	35	20	7/03/04	27	20
23/02/04	34	21	8/03/04	38	17
24/02/04	35	20	9/03/04	33	18
25/02/04	34	19	10/03/04	35	18