



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGRO SILVO PASTORÍL

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**“EVALUACIÓN DEL HONGO NEMATÓFAGO *Pochonia*
chlamydosporia, EN EL CONTROL DEL NEMÁTODO DEL NUDO
Meloidogyne sp, EN EL CULTIVO DE SACHA INCHI *Plukenetia*
volubilis BAJO CONDICIONES DE VIVERO”**

PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

Bach. JORGE LUIS LEIVA PIEDRA

**TARAPOTO – PERÚ
2009**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGRO SILVO PASTORIL

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

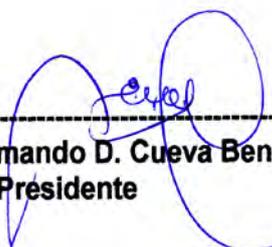
ÁREA DE MEJORAMIENTO Y PROTECCIÓN DE CULTIVOS

TESIS

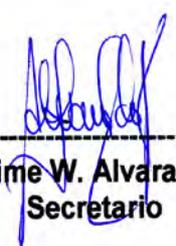
“EVALUACIÓN DEL HONGO NEMATÓFAGO *Pochonia*
chlamydosporia, EN EL CONTROL DEL NEMATODO DEL NUDO
Meloidogyne sp, EN EL CULTIVO DE SACHA INCHI *Plukenetia*
volubilis BAJO CONDICIONES DE VIVERO”

PRESENTADO POR:

Bach. JORGE LUIS LEIVA PIEDRA



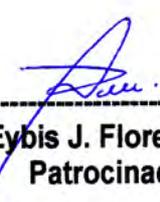
Ing. M.Sc. Armando D. Cueva Benavides
Presidente



Ing. Dr Jaime W. Alvarado Ramirez
Secretario



Ing. M.Sc. Guillermo Vásquez Ramirez
Miembro



Ing, Eybis J. Flores García
Patrocinador

DEDICATORIA

A mis padres: **CARLOS ORLANDO**

Y CARLOTA MAGDALENA, por

su sacrificio e incondicional apoyo

que me dieron, para culminar

con éxito este trabajo de tesis



A mis hermanos **ABELARDO, JOSE**

Y CESAR, quienes gracias a su apoyo

y comprensión que me dieron pude

lograr mis metas.

A mis tíos **MARIELENA, TITO Y JORGE**,

a mis Primos **EDUARDO Y MARIELENA**;

por su paciencia y apoyo que me dieron

A todos mis **AMIGOS** por su
apoyo y ayuda que me brindaron

durante el desarrollo de este
trabajo de tesis e hicieron que

cumpla con éxito mi objetivo.

AGRADECIMIENTO

A Dios por la fuerza y sabiduría que me dio cuando más la necesitaba, a mis Padres por todo su apoyo, comprensión, paciencia y ayuda; que tuvieron conmigo durante el desarrollo de mi tesis.

A mis hermanos quienes me apoyaron y me dieron motivos para seguir adelante, a la Universidad Nacional de San Martín por darme la oportunidad de estudiar en sus aulas y poder culminar mi carrera con éxito.

A mi Asesor por sus enseñanzas, ayuda y apoyo que me dio durante el desarrollo de mi tesis.

A mi Co Asesora y a los Profesionales del Laboratorio de Control Biológico – Entomopatógenos; de SENASA - Lima por sus enseñanzas, apoyo, ayuda y paciencia que me brindaron para poder realizar la parte de laboratorio.

A los Ingenieros del Instituto de Cultivos Tropicales (I.CT), por sus enseñanzas, ayuda y apoyo brindado, para culminar mi trabajo en vivero.

A mis Tíos y Primos quienes me acogieron y ayudaron cuando estaba en la ciudad de Lima y a todos mis amigos de Lima y Tarapoto que estuvieron a mi lado, me tuvieron paciencia me dieron su apoyo y ayudaron y para culminar con éxito mi trabajo de tesis.

ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	
II. OBJETIVOS	3
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. EL CULTIVO DE SACHA INCHI	4
3.1.1. Origen	4
3.1.2. Clasificación taxonómica	4
3.1.3. Morfología	5
3.1.4. Plagas	5
3.1.5. Cosecha y rendimiento	6
3.1.6. Susceptibilidad al nemátodo del nudo	7
3.2. LOS NEMÁTODOS FITOPATÓGENOS	7
3.2.1. Generalidades	7
3.2.2. Ciclo de vida	10
3.2.3. Biología	12
3.2.4. Síntomas Causados por los Nemátodos	14
3.2.5. Como afectan los nemátodos a las plantas	15
3.2.6. Interrelaciones entre los nemátodos y otros organismos benéficos y fitopatógenos	17
3.2.7. Clasificación de los nemátodos fitoparásitos	19
A. Nemátodos ectoparásitos sedentarios	19
B. Nemátodos ectoparásitos migratorios	19
C. Nemátodos endoparásitos migratorios	19
D. Nemátodos endoparásitos sedentarios	20
3.2.8.- Diseminación de los nemátodos	20

3.3. EL GÉNERO <i>Meloidogyne</i>	20
3.3.1. Historia	20
3.3.2. Características	22
3.3.3. Biología	24
A. Ciclo de vida preparasítico	27
B. Ciclo de vida parasítica	28
3.3.4. Especies del género <i>Meloidogyne</i>	32
A. La especie <i>M. incognita</i>	32
a. Importancia	32
b. Clasificación taxonómica	32
c. Morfología	33
➤ Hembras	33
- Modelos perineales	33
- Estiletos	34
- Morfología de la cabeza	34
➤ Machos	34
- Estiletos	34
- Morfología de la cabeza.	35
➤ Juveniles de segundo estadio	35
- Morfología de la cabeza	35
d. Razas	36
e. Sintomatología	36
f. Citogenética	40
g. Ecología	41
h. Métodos de control	44

➤ Diagnóstico	45
➤ Prevención	47
➤ Cultivos trampa	48
➤ Barbecho y cultivo en seco	49
➤ Rotación y cultivos protectores	49
➤ Sustancias químicas	50
➤ Sustancias biocidas	50
➤ Plantas resistentes	52
➤ Tratamiento térmico de la tierra	53
➤ Tratamiento de los vegetales con agua caliente	54
➤ Materia orgánica y recubrimientos vegetales	55
➤ Control biológico	56
3.4. LOS HONGOS NEMATÓFAGOS	58
3.3.1. Generalidades	58
3.3.2. Clasificación de los hongos Nematófagos	59
A. Hongos atrapadores de Nemátodos	59
B. Hongos endoparásitos	60
C. Hongos parásitos de huevos, hembras y quistes	61
D. Hongos productores de toxinas	61
3.3.3. <i>Pochonia Chlamidosporia</i>	62
A. Generalidades	62
B. Clasificación Taxonómica	62

C. Características	63
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	66
4.1. Materiales	66
4.2. Ubicación del campo experimental	66
4.2.1. Ubicación geográfica del vivero	66
4.3. Metodología	67
4.3.1. Diseño del experimento	67
4.3.2. Componentes en estudio	67
4.3.3. Tratamientos en estudio	68
4.3.4. Características del campo experimental	69
A. Diseño experimental	69
4.3.5. Diseño del área experimental	69
4.3.6. Fase de laboratorio	70
4.3.6.1. Producción del hongo nematófago	70
A. Siembra del hongo en placa	70
B. Siembra del hongo en medio líquido	70
C. Preparación del sustrato	71
D. Siembra del hongo al sustrato de arroz	72
E. Periodo de incubación	72
F. Pase a la sala de secado	73
G. Control de calidad	73
a. Concentración de conidias	74
b. Porcentaje de germinación	78

4.3.6. Identificación de <i>Meloidogyne sp.</i> mediante cortes	
perineales	79
4.3.7. Fase de vivero	82
4.3.7.1. Instalación del experimento	82
A. Esterilizado de la tierra agrícola y	
humus	82
B. Aplicación del hongo nematofago	82
a. Método 1 (En sustrato arroz)	82
b. Método 2 (En suspensión)	83
C. Obtención de masas de huevos de	
<i>Meloidogyne incognita</i>	86
D. Inoculación de las plantas de sachá	
inchi con los huevos de <i>M. incognita</i>	88
4.3.8. Parámetros a evaluar	89
A. Altura de planta	89
B. Número de nódulos	90
C. Peso radicular	91
D. Población de nematodos por 100 cc de suelo	91
E. Longitud y área radicular	93
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	95
5.1. Modelos perineales obtenidos	95
5.2. Primera evaluación a los 25 días después de la	
inoculación de los nematodos	96
5.3. segunda evaluación a los 25 días después de la	
inoculación de los nemátodos	102

VI.	DISCUSIONES	109
VII.	CONCLUSIONES	130
VIII.	RECOMENDACIONES	131
IX.	BIBLIOGRAFÍA	132
	ANEXO	



ÍNDICE DE FOTOS

Pág.

• Foto 1: Modelos perineales de <i>Meloidogyne incognita</i>	33
• Fotos 2 y 3: Siembra de la cepa en medio P.D.A	70
• Fotos 4, 5, 6: Siembra del hongo en medio liquido	71
• Foto 7: Incubación del hongo	73
• Foto 8: Producto final	73
• Foto 9 : Toma de muestra	74
• Foto 10: Pesado de la muestra	74
• Foto 11: Lavado del hongo	75
• Foto 12: Toma de 1 ml de suspensión	75
• Fotos 13 y 14: Observación de la muestra	76
• Foto 15: Pesado del agente biológico	82
• Foto 16: Aplicación del hongo al sustrato	83
• Foto 17: Incorporación del hongo al sustrato	83
• Foto 18: Obtención de la suspensión	84
• Foto 19: Medición de la suspensión	84
• Foto 20: Dosificación al sustrato	85
• Foto 21: Homogenizado del agente biológico en el sustrato	85
• Foto 22: Llenado de la bolsa almaciguera con el sustrato	85
• Foto 23: Lavado y secado de las raíces noduladas	86
• Foto 24: Cortado de las raíces	87
• Foto 25: Licuado de las raíces	87
• Fotos 26 y 27: Colado de las raíces procesadas	87

• Foto 28: Huevo viable	88
• Foto 29: Obtención de la alícuota	89
• Fotos 30 y 31: Inoculación de los huevos a las plántulas	89
• Foto 32: Altura de Planta	90
• Foto 33: Índice de nodulación	90
• Foto 34: Peso radicular	91
• Foto 35: Instalación de las bandejas	92
• Foto 36: Colado de las bandejas	92
• Foto 37: Extracción de los nemátodos	93
• Foto 38: Observación de los nemátodos	93
• Foto 39: Conteo de los nemátodos	93
• Foto 40: Medición del área y longitud radicular	94
• Fotos 41, 42, 43, 44: Modelos perineales obtenidos	95

ÍNDICE DE CUADROS

Pág.

- Cuadro 01 (Susceptibilidad al nematodo del nudo) 7
- Cuadro 02 (Escala de evaluación de *Meloidogyne sp*) 47
- Cuadro 03 (Datos climáticos) 67
- Cuadro 04 (ANVA de Peso radicular – I Evaluación) 96
- Cuadro 05 (ANVA de Altura de planta – I Evaluación) 97
- Cuadro 06 (ANVA de Índice de nodulación – I Evaluación) 98
- Cuadro 07 (ANVA de Longitud radicular – I Evaluación) 99
- Cuadro 08 (ANVA de Área Radicular – I Evaluación) 100
- Cuadro 09 (ANVA de Población de *Rhabditido sp.*
– I Evaluación). 101
- Cuadro 10 (ANVA de Peso radicular – II Evaluación) 102
- Cuadro 11 (ANVA de Altura de planta – I Evaluación) 103
- Cuadro 12 (ANVA de Índice de nodulación – I Evaluación) 104
- Cuadro 13 (ANVA de Longitud radicular – I Evaluación) 105
- Cuadro 14 (ANVA de Área Radicular – I Evaluación) 106
- Cuadro 15 (ANVA de Población de *Rhabditido sp.*
– II Evaluación). 107

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Pág.

- Gráfico 01 (Modelos perineales). 81
- Gráfico 02 (Duncan de Peso Radicular – I Evaluación). 96
- Gráfico 03 (Duncan de Altura de planta – I Evaluación). 97
- Gráfico 04 (Duncan de Índice de Nodulación – I Evaluación) 98
- Gráfico 05 (Duncan de Longitud radicular – I Evaluación). 99
- Gráfico 06 (Duncan de Área radicular – I Evaluación). 100
- Gráfico 07 (Duncan de Población de *Rhabditido sp.*
– I Evaluación). 101
- Gráfico 08 (Duncan de Peso Radicular – II Evaluación). 102
- Gráfico 09 (Duncan de Altura de planta – II Evaluación). 103
- Gráfico 10 (Duncan de Índice de Nodulación – II Evaluación) 104
- Gráfico 11 (Duncan de Longitud radicular – II Evaluación). 105
- Gráfico 12 (Duncan de Área radicular – II Evaluación). 106
- Gráfico 13 (Duncan de Población de *Rhabditido sp.*
– II Evaluación). 107
- Gráfico 14 (Porcentaje de Control de *P. chlamydosporia*
– I Evaluación). 108
- Gráfico 14 (Porcentaje de Control de *P. chlamydosporia*
– II Evaluación). 108

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de ***Plukenetia volubilis* L.**, conocido como maní del monte (Sacha Inchi), viene introduciéndose al mundo de la economía agrícola, por que sus valores alimenticios y medicinales tienen un gran potencial en carbohidratos y aceite insaturados del tipo Omega.

A este cultivo afectan muchos factores de la producción, entre ellos tenemos conocidas a las enfermedades que son causadas por ***Fusarium oxysporum*** que causa marchitez en la planta con interacción del nemátodo del nudo ***Meloidogyne sp*** que causa agallas. Ambos se aprovechan de las raíces impidiendo el normal funcionamiento fisiológico de las raíces y el transporte de agua, afectando los procesos fotosintéticos, de respiración y transpiración de la planta disminuyendo la producción agrícola reduciendo el rendimiento del cultivo.

Existen varios métodos de control de nemátodos en otros cultivos, que pueden ser aplicados en el cultivo del Sacha Inchi, y que hasta el momento no se cuenta con trabajos realizados sobre manejo específico en Sacha Inchi.

La utilización de agentes biológicos como los hongos nematófagos y nematicidas ha demostrado ser uno de los métodos de control más eficientes debido a su bajo costo, preservación e inocuidad del medio ambiente, por su fácil adaptación al medio en que es utilizado y por ende su elevada residualidad.

Frente a esta realidad, se propuso realizar el presente estudio a fin de encontrar una alternativa de control biológico con el uso de un hongo Nematófago ***p. chlamydosporia*** sobre el nemátodo del nudo ***Meloidogyne sp*** que es el principal problema que esta afectando al cultivo de Sacha Inchi y contribuir a dar una solución a esta plaga que viene aquejando a este cultivo, ocasionando grandes pérdidas económicas a los productores de Sacha Inchi en nuestra región.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General.

- Evaluar y determinar el efecto de *Pochonia chlamydosporia* en el control del nemátodo del nudo *Meloidogyne sp* en el cultivo de Sacha Inchi, bajo condiciones de vivero.

2.2. Objetivos Específicos.

- Determinar la dosis de *Pochonia chlamydosporia* sobre el nemátodo del nudo *Meloidogyne sp*, en el cultivo de sachá inchi
- Determinar el modo de aplicación de *Pochonia chlamydospora* en el suelo.
- Evaluar el porcentaje de control de *Pochonia chlamydosporia* sobre *Meloidogyne sp*.
- Identificar la especie del nemátodo del Género de *Meloidogyne* en el Cultivo de Sacha Inchi

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. EL CULTIVO DE SACHA INCHI

3.1.1. Origen

En el Perú, se le ha encontrado en Madre de Dios, Huánuco, Oxapampa, San Martín, Rodríguez de Mendoza, Cuenca del Ucayali (Pucallpa, Contamana y Requena), en Putumayo y alrededores de Iquitos y Caballococha. Soukup (1970), indica la ingesta de hojas crudas o cocidas por los pobladores nativos de la Amazonía, particularmente los huitotos.

En San Martín se le encuentra a lo largo de la Cuenca del Huallaga hasta Yurimaguas, en el Alto Mayo, Bajo Mayo, Sub Cuenca del Cumbaza y en áreas del sector Lamas-Shanusí (**Arévalo, 1995**).

3.1.2. Taxonomía

La clasificación botánica de la planta es la siguiente:

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Plukenetia*

Especie: *volubilis* Linneo

La especie *Plukenetia volubilis* L. es conocida de acuerdo al idioma o lugar con los siguientes nombres: Sacha inchi, Sacha inchic, Sacha maní, Maní del monte (**Ayala, 1990**).

3.1.3. Morfología

Es una planta voluble semileñosa y perenne que alcanza una altura de 2 m. aproximadamente. Sus hojas son alternas, acorazonadas, puntiagudas de 10 a 12 cm. de largo y de 8 a 10 cm. de ancho, con peciolo de 2 a 6 cm. de largo. Las nervaduras nacen en la base de la hoja, orientándose la nervadura central hacia el ápice. Por lo general, los bordes son dentados (Valles, 1990).

3.1.4. Plagas

Se ha observado ataques tempranos de "Nemátodo del nudo" (*Meloidogyne* sp), en suelos ácidos, alcalinos, franco arenosos con más del 70% de arena, arcillosos con más del 50% de arcilla y contenido medio de materia orgánica.

Análisis de muestras de suelo y raíces de "sacha inchi" de la Estación Experimental "El Porvenir", realizados en los laboratorios de la Sede Central La Molina - INIA, reportan la presencia de dos géneros de nemátodos: *Meloidogyne* y *Aphelenchus* con poblaciones de 217 y 14 nemátodos/100 g. de suelo respectivamente. Esto indica una alta población de *Meloidogyne*, confirmándolo como una plaga de importancia.

Las plantas atacadas por nemátodos se atrofian y presentan entrenudos cortos, hojas pequeñas, luego se vuelven cloróticas. Asimismo, estos parásitos ingresan a las raíces produciendo heridas

por donde fácilmente penetran los hongos (*Fusarium* sp, *Macrophomina* sp), dañando los tejidos y produciendo la pudrición total de las raíces, causando finalmente la muerte de las plantas. Las plantas enfermas muestran primero un amarillamiento, luego una severa defoliación **(Arévalo, 1995)**.

3.1.5. Cosecha y rendimiento

El sachá Inchi, comienza a dar flores a los 6 meses. La cosecha se inicia a los 10 meses de la siembra, produciendo 1000 kilos por hectárea el primer año; con un buen manejo, el cultivo llega a producir 3.5 toneladas por hectárea a partir del tercer año. Según la extensión del cultivo, la cosecha debe hacerse cada semana ó 15 días, cuando los frutos se tornan marrón oscuro o negro cenizo, se desprenden fácilmente, recoger los frutos, secarlos al sol para que se abran y salgan las semillas, evitando que caigan al suelo **(Agroindustrias Amazónicas, 2002)**.

3.1.6. Susceptibilidad al Nemátodo del Nudo *Meloidogyne sp*

Cuadro 1: Accesiones de Sacha Inchi del INIA – San Martín y su susceptibilidad al nemátodo del nudo (*Meloidogyne incognita*).

ACCESIÓN	SUCEPTIBILIDAD a <i>Meloidogyne incognita</i>
PER000395	Alta a muy Alta
PER000396	Baja a Intermedia
PER000409	Alta
PER000415	Alta a muy Alta
PER000416	Intermedia a Alta
PER000397	Intermedia a muy Alta
PER000420	Baja a Intermedia
PER000394	Intermedia a Alta
PER000406	Alta a muy Alta

FUENTE: (INIA – 2008)

3.2. LOS NEMÁTODOS FITOPATÓGENOS.

3.2.1. Generalidades

Los nemátodos son los microorganismos multicelulares más abundantes del mundo y están presentes en toda región y ambiente, aproximadamente 7 000 millones por Ha. Podemos encontrar nemátodos en bosques, desiertos, y en regiones tropicales y subtropicales, medios acuáticos y casi cualquier nivel del mar (**Torres, 2003; Arguello y Rueda, 2007**). Muchos de ellos son parásitos de plantas, animales y personas, y son los causantes de algunas enfermedades graves (**Arguello y Rueda, 2007**).

Probablemente los nemátodos que atacan cultivos agrícolas son las plagas menos conocidas por los medianos y pequeños productores debido a que son animales microscópicos que generalmente atacan raíces (**Arguello y Rueda, 2007; Agrios, 1995**). Además, los

síntomas foliares de las plantas afectadas pueden confundirse con aquellos causados por stress hídrico, deficiencias de nutrientes o problemas físicos del suelo **(Arguello y Rueda, 2007)**.

Los nemátodos fitopatógenos son organismos pequeños de 300 a 1000 μm , siendo algunos mayores de 2 - 4 mm de longitud por 15 a 35 μm , de ancho; generalmente tienen forma de anguila y en corte transversal se ven redondas, presentan cuerpos lisos no segmentados y carecen de patas u otros apéndices. Sin embargo, las hembras de algunas especies se hinchan en la madurez y adquieren la forma de una pera o de cuerpos esferoides **(Agrios, 1995; Arguello y Rueda, 2007)**.

A pesar de que los nemátodos fitoparásitos son animales más grandes que otros microorganismos que también causan enfermedades en plantas como bacterias y hongos **(Arguello y Rueda, 2007)**.

Las especies fitoparásitas se alimentan de las células de las plantas al extraer su contenido por medio de un estilete. Muchos de ellos son parásitos de plantas, en raíces, en tallos, en hojas, en semillas, en bulbos y en rizomas **(Cave, 1995)**.

El cuerpo de un nemátodo es más o menos transparente. Está cubierto por una cutícula incolora que a menudo presenta estrías u

otros detalles. Está cutícula presenta la muda cuando pasan a través de sus etapas larvarias sucesivas. Dicha cutícula se produce por la hipodermis, la cual consta de células vivas y se extiende en la cavidad del cuerpo a manera de 4 cordones que separan 4 bandas de músculos longitudinales. Estos músculos permiten que pueda moverse. En la boca y a lo largo del tracto digestivo y de las estructuras reproductoras hay otros músculos especializados **(Agris, 1995)**.

La cavidad del cuerpo contiene un líquido a través del cual se efectúa la circulación y respiración. El sistema digestivo es un tubo hueco que se extiende desde la boca, pasando por el esófago hasta el intestino, el recto y el ano. A menudo, seis labios rodean a la boca. Todos los nemátodos fitoparásitos poseen un estilete hueco o lanza que utilizan para perforar las células vegetales **(Agris, 1995)**.

Los sistemas reproductores están bien desarrollados. Los nemátodos hembras tienen de uno a dos ovarios seguidos por un oviducto y un útero que termina en una vulva. La estructura reproductora del macho es semejante a la de la hembra pero hay un testículo, una vesícula seminal y termina en un orificio común con el intestino. En el macho hay también un par de espículas copulatorias sobresalientes. La reproducción se efectúa por medio de huevecillos y puede ser sexual, hermafrodita o partenogénica. En muchas especies faltan los individuos machos **(Agris, 1995)**.

Los nemátodos, organismos pluricelulares microscópicos, causan grandes pérdidas en muchos cultivos en nuestro país, desde hortalizas hasta frutales, además de cultivos industriales, ornamentales y forestales, por lo que el conocimiento de sus características biológicas, como del ataque hacia los cultivos debe ser comprendido para poder luchar eficientemente contra esta plaga, la cual muchas veces pasa desapercibida o no es considerada con la debida importancia **(Torres, 2003)**.

Estos organismos están provistos de todos los sistemas orgánicos presentes en los animales superiores, pero no cuentan con los sistemas circulatorio y respiratorio. Por lo general, los nemátodos tienen los sexos separados y la fecundación es interna, el huevo está protegido por una cubierta de quitina y da origen a una larva o juvenil que muda cuatro veces la cutícula hasta convertirse en adulto **(Torres, 2003)**.

3.2.2. Ciclos de vida.

El ciclo de vida de la mayoría de los nemátodos fitoparásitos es, por lo general, bastante semejante. Las hembras adultas producen huevecillos que se incuban y se desarrollan en larvas **(Arguello y Lastres, 2007; Agrios, 1995)**. Cuya apariencia y estructura es comúnmente similar a la de los nemátodos adultos. Las larvas aumentan de tamaño y cada etapa larvaria concluye mediante una muda. Todos los nemátodos tiene cuatro etapas larvarias y la primera

muda a menudo se produce en el huevecillo, cada etapa larvaria esta precedida por una muda. Después de la última muda, se diferencian en hembras y machos adultos. La hembra puede entonces producir huevecillos fértiles una vez que se ha apareado con un macho o, en ausencia de machos partenogenéticamente, o bien produce esperma por sí misma (**Arguello y Rueda, 2007, Agrios, 1995**).

El ciclo de vida comprendido desde la etapa de huevecillo a otra igual puede concluir al cabo de 3 a 4 semanas bajo condiciones ambientales óptimas, en especial la temperatura, pero tardará más tiempo en concluir en temperaturas frías. En algunas especies de nemátodos la primera o segunda etapa no puede infectar a las plantas y sus funciones metabólicas se realizan a expensas de la energía almacenada en el huevecillo. Sin embargo, cuando se forman las etapas infectivas, deben alimentarse de un hospedante susceptible o de lo contrario sufren inanición y mueren. La ausencia de hospedantes apropiados ocasiona la muerte de todos los individuos de ciertas especies de nemátodos al cabo de unos cuantos meses, pero en otras especies las etapas larvarias pueden desecarse y permanecer en reposo, o bien los huevecillos pueden permanecer en reposo en el suelo durante años (**Agrios, 1995**).

Las hembras de algunos géneros de nemátodos parásitos de plantas como ***Meloidogyne*, *Rotylenchulus*, *Tylenchulus*, *Ditylenchus*** y

Globodera se hinchan al llegar a la madurez y adoptan forma de pera, riñón o de esfera (**Lastres, 2007**).

3.2.3. Biología.

No hay suelo que no tenga nemátodos, aunque para producir daños su número tiene que ser elevado y las especies de plantas tienen que ser sensibles a ellos (**Infojardin, 2008**).

Los nemátodos se distribuyen en el suelo muy lentamente bajo su propia capacidad. La distancia total que recorren probablemente no excede de un metro por estación. Se mueven con mayor rapidez en el suelo cuando los poros de éste están llenos de una película delgada (de unos micrómetros) de agua cuando el suelo se encuentra inundado. Sin embargo, además de su movimiento propio, se distribuyen con gran facilidad a través de todo lo que se mueve y pueda llevar partículas del suelo (**Agrios, 1995**).

Se desarrollan y viven mejor en suelos arenosos, con calor y riego abundante. Son muy sensibles a la sequía o a la falta de cultivo. Requieren para vivir lugares muy húmedos. Un suelo sin vegetación o sin riego por un año o más, reduciría significativamente la población inicial (**Infojardin, 2008**).

La mayoría de los nemátodos fitopatógenos viven parte de su vida en el suelo, alimentándose superficialmente de las raíces y tallos

subterráneos de las plantas, pero aún en el caso de los nemátodos sedentarios especializados, los huevecillos, las etapas larvianas preparásitas y los machos se encuentran en el suelo durante toda su vida o gran parte de ella. La temperatura, humedad y aireación del suelo afectan a la supervivencia y al movimiento de los nemátodos en el suelo **(Agrios, 1995)**.

Encontrándose con mayor abundancia en la capa de suelo comprendida entre los 0 y 15 cm de profundidad, aunque cabe mencionar que su distribución en los suelos cultivados irregular y es mayor en torno a raíces de las plantas susceptibles, a las que en ocasiones siguen hasta profundidades considerables (de 30 a 150 cm o más) **(Agrios, 1995)**.

La mayor concentración de nemátodos en la región radical de la planta hospedante se debe principalmente a su más rápida reproducción cuando el alimento es abundante y también a la atracción que tienen por las sustancias liberadas en la rizósfera. A esto debe añadirse el denominado efecto del factor de incubación de las sustancias que se originan en la raíz y se difunden en los alrededores del suelo estimulando notablemente la incubación de los huevecillos de ciertas especies. Sin embargo, la mayoría de los huevos se incuban libremente en el agua en ausencia de cualquier estímulo especial **(Agrios, 1995)**.

3.2.4. Síntomas causados por los nemátodos.

Existen varios centenares de especies de nemátodos que se alimentan de plantas vivas mediante una estructura llamada estilete, con el cual perforan las células vegetales y las succionan causando enfermedades que reducen el rendimiento de los cultivos **(Lastres, 2007)**.

Los nemátodos que infectan a las plantas producen síntomas tanto en las raíces como en los órganos aéreos de las plantas. Los síntomas de la raíz aparecen en forma de nudos, agallas o lesiones en ella, ramificación excesiva de la raíz, puntas dañadas de esta última y pudriciones de la raíz cuando las infecciones van acompañadas por bacterias y hongos saprófitos o fitopatógenos **(Agrios, 1995)**.

Estos síntomas con frecuencia van acompañados por síntomas no característicos en los órganos aéreos de las plantas y que aparecen principalmente en forma de un menor crecimiento, síntomas de deficiencias en nutrientes como el amarillamiento del follaje, el marchitamiento excesivo en tiempo cálido o seco, una menor producción de las plantas y una baja calidad de sus productos **(Agrios, 1995)**.

3.2.5. Como afectan los nemátodos a las plantas.

Los nemátodos dañan a las plantas sólo ligeramente mediante los daños mecánicos directos que producen en ellas en el momento de

alimentarse. Parece ser que la mayoría de los daños son ocasionados por una secreción de saliva que el nemátodo inyecta en la planta mientras se alimenta de ella. Algunas especies se alimentan con gran rapidez; perforan la pared celular, inyectan saliva en la célula, succionan parte de los contenidos de esta última y se mueven en el interior de ella al cabo de unos cuantos segundos **(Agrios, 1995)**.

Sin embargo, otras especies se alimentan con menor rapidez y pueden permanecer en el mismo punto de entrada a la célula durante varias horas o días. Estos nemátodos así como las hembras de las especies que se establecen permanentemente en o sobre las raíces, inyectan saliva en forma intermitente mientras se están alimentando **(Agrios, 1995)**.

El proceso de alimentación hace que las células vegetales afectadas reaccionen causando muerte o el debilitamiento de las yemas y puntas de la raíz, la formación de lesiones y degradación de los tejidos, hinchamientos y agallas de varias clases y tallos y follaje retorcidos y deformados. Algunos de estos síntomas se deben a la disolución de los tejidos infectados por las enzimas del nemátodo, las cuales con o sin la ayuda de metabolitos tóxicos producen la muerte de las células y la desintegración de los tejidos. Otros se deben al alargamiento anormal de las células (Hipertrofia), al cese de la división celular o a la estimulación de ella se efectúa en una forma controlada, dando como

resultado la formación de agallas o de una gran cantidad de raíces laterales en o cerca de los puntos de infección **(Agris, 1995)**.

Los síndromes de las enfermedades de las plantas producidas por los nemátodos son complejos. Las especies que se alimentan de la raíz posiblemente disminuyen la capacidad de las plantas de absorber agua y nutrientes disponibles del suelo y de esta manera producen síntomas de deficiencia de agua y nutrientes en los órganos aéreos de ellas como pérdida de vigor, reducción de largo de brotes, entrenudos cortos, hojas pequeñas, clorosis, reducción de la síntesis de hormonas como la citocinina, etc **(Agris, 1995; Martanez, 2005)**.

En algunos casos, sin embargo, son las interacciones bioquímicas entre la planta y el nemátodo las que afectan negativamente la fisiología total de las plantas y la función de los nemátodos de proporcionar los puntos de entrada para otros patógenos, a lo que se deben principalmente los daños que sufren las plantas; los daños mecánicos o la obtención del alimento de las plantas por los nemátodos es, en general, menos importante, pero puede adquirir importancia cuando las poblaciones de estos fitopatógenos son muy grandes **(Agris, 1995)**.

3.2.6. Interrelaciones entre los nemátodos y otros organismos benéficos y fitopatógenos.-

Aunque los nemátodos pueden causar enfermedades en las plantas por sí mismos, la mayoría de ellos vive y opera en el suelo donde constantemente están rodeados por hongos y bacterias, muchas de las cuales pueden también causar enfermedades en las plantas. En la mayoría de los casos se produce una asociación entre estos y algunos de los demás patógenos. Formando entonces parte de un complejo etiológico que da origen a un potencial patogénico combinado mucho mayor que la suma del daño que pueden producir los patógenos por separado **(Agrios, 1995)**.

Se conocen varias interacciones de la enfermedad hongos – nemátodos. La marchitez de varias plantas por *Fusarium sp* aumenta en severidad e incidencia cuando las plantas son infectadas también por los nemátodos lesionador, picador, reniforme, barrenador, del achaparramiento de las plantas o por el del nódulo de la raíz. Aunque parezca muy probable que los daños mecánicos que producen en las plantas sean un factor importante en la proporción de puntos de entrada para el hongo, la continuidad del efecto que tienen los nemátodos sobre la susceptibilidad del hospedante en las últimas etapas del desarrollo de la planta sugiere que los nemátodos pueden también inducir algún tipo de respuesta del hospedante que disminuye la resistencia natural de éste ante el hongo **(Agrios, 1995)**.

Debe tenerse también presente que, al menos en algunas de dichas interacciones, hay una masa de micelio mucho mayor en los tejidos infectados por nemátodos que en los tejidos libres de ellos en una misma planta y también que las poblaciones de nemátodos son mucho mayores en los tejidos infectados por hongos que en los tejidos libres de ellos en una planta enferma **(Agrios, 1995)**.

Los nemátodos fitoparásitos coexisten en la rizosfera con muchos otros organismos vivos; de los cuales muchos han sido aislados e identificados como sus enemigos naturales; que ejercen algún grado de control biológico natural en los agroecosistemas. Se ha observado que cuando se aplican enmiendas orgánicas, se reduce el daño causado por los nemátodos y esto puede ser consecuencia de que los productos de la descomposición de las enmiendas liberados en el suelo sean directamente tóxicos a los nemátodos, o bien, que el incremento de la población microbial y fauna del suelo por la adición de enmiendas estimule la actividad de parásitos y depredadores **(Cave, 1995)**.

Se han detectado más de 150 especies de hongos que pueden atacar a los nemátodos. Algunas especies han desarrollado un grado de especialización hacia los nemátodos; pero ecológicamente, son saprofitos del suelo y su asociación con los nemátodos es en gran medida oportunista (parásitos facultativos). En muchas ocasiones, se ha sugerido que los hongos oportunistas juegan un papel importante

en la regulación de las poblaciones de nemátodos pero, éstos por lo general, son incapaces de actuar en una forma directa y por lo tanto, es más probable que se comporten como una fuerza represiva general y no específica (**Cave, 1995**).

3.2.7. Clasificación de los nemátodos fitoparasitos.

Según su hábito alimenticio se clasifican:

A. Nemátodos ectoparásitos sedentarios. En este grupo están todos los que se alimentan únicamente de las células superficiales de las raíces en un mismo sitio. Las especies más comunes son: ***Criconema*** y ***Criconemoides*** (Nemátodo anillo), en cucurbitáceas.

B. Nemátodos ectoparásitos migratorios. También se alimentan de células superficiales pero se mueven en varios puntos de las raíces. En este grupo se encuentran los géneros ***Trichodorus***, ***Xiphinema*** y ***Belonolaimus***.

C. Nemátodos endoparásitos migratorios.- Estos se introducen en las raíces y se mueven para alimentarse en diferentes puntos de las mismas. Los géneros mas comunes son: ***Helicotylenchus***, ***Rotylenchus***, ***Tylenchorhynchus***, ***Ditylenchus***, ***Pratylenchus*** y ***Radopholus***.

D. Nemátodos endoparásitos sedentarios. También son nemátodos que penetran los tejidos de las raíces, pero se instalan en un sitio y se alimentan de varias células a su alrededor. Los géneros más comunes en este grupo: *Meloidogyne* y *Globodera* (Arguello y Lastres, 2007).

3.2.8. Diseminación de los nemátodos.

Generalmente, las hembras adultas depositan al menos 500 huevos unicelulares envueltos en una sustancia gelatinosa y las larvas que nacen buscan alimento inmediatamente. Las larvas suelen encontrar alimento rápidamente porque las hembras ovipositan cerca de las raíces más jóvenes y los exudados de las raíces son reconocidos a través de los labios de los nemátodos, determinando si se trata de una planta hospedera o no. Los nemátodos se mueven lentamente a través de los espacios que se forman entre las partículas del suelo aprovechando la humedad del mismo para desplazarse mediante movimientos ondulantes (Lastres, 2007).

3.3. El género *Meloidogyne* sp.

3.3.1. Historia.

Hace 100 años, en agosto de 1877, en la provincia de Río de Janeiro, Brasil, Jobert (1878) al observar árboles de café enfermos encontró raíces fibrosas con numerosas agallas, algunas de ellas terminales, otras a lo largo de la raíz y, otras, más escasas, en las raíces laterales. Las agallas terminales eran piriformes, puntiagudas y

frecuentemente encorvadas. Las más grandes eran del tamaño de una arveja pequeña y contenían “Quistes” de paredes hialinas (**Taylor y Sasser, 1983**).

También tenían huevos elípticos encerrados en membranas hialinas que contenían pequeños animales vermiformes. Notó que los gusanos emergían de los huevos, salían de las raíces y se encontraban en grandes cantidades en el suelo. Aparentemente Jobert no tuvo tiempo de realizar estudios más amplios antes de escribir su informe (**Taylor y Sasser, 1983**).

Diez años después, Goeldi 1887 investigó el mismo problema y publicó un documento de 105 páginas acerca de la enfermedad de los cafetales. El señaló al nemátodo del nódulo de la raíz *Meloidogyne exigua* como causa de la enfermedad y como la especie característica de un nuevo género (**Taylor y Sasser, 1983**).

Estas fueron las primeras investigaciones sobre una especie de *Meloidogyne* como causante de una enfermedad importante en un cultivo económico. Posteriormente, la especie y género fueron sinonimizados, primero como *Heterodera radicola* y después con *Heterodea marioni*, hasta que fueron restablecidos por Chitwood (1949) quién también describió y redescibió las cuatro especies más comunes y ampliamente distribuidas: *M. incognita*; *M. javanica*; *M. arenaria*; *M. hapla* (**Taylor y Sasser, 1983**)

3.3.1. Características.

La longitud promedio de las hembras adultas de las especies de *Meloidogyne* fluctúa alrededor de 0.44 a 1.3 mm y el ancho promedio fluctúa entre 0.325 a 0.7 mm. Las hembras de la mayoría de las especies tienen cuerpos simétricos; es decir, hay una línea (supuesta) que va de la vulva al estilete, atravesando la mitad del cuerpo. Muchas ilustraciones en las descripciones originales de *M. ottersoni*, *M. spartinae*, *M. acronea*, *M. graminis* y *M. megriensis* presentan hembras que tienen cuerpos de forma general. El cuerpo de la hembra no es simétrico; es decir, el cuello no está ni cerca ni en el centro de la línea central del cuerpo, sino distintivamente a un lado, de modo que las líneas centrales del cuello y el cuerpo forman un ángulo de por lo menos 15° a más de 90° en algunos especímenes (**Taylor y Sasser, 1983**).

La morfología básica de las especies de *Meloidogyne sp* es bastante similar; sin embargo, existen ciertos caracteres distintivos que son de utilidad en la diferenciación de ellas (**Sosa, 1983 y Chytwood, 1949**).

Los 3 caracteres que se consideran para la identificación de este género incluyen: La morfología del modelo perineal, la morfología de la cabeza de hembras, machos y juveniles del segundo estadio y la morfología del estilete de hembras y machos y su distancia al ducto de la Glándula dorsal esofágica (G.D.E). Los modelos perineales son una característica de las hembras y la forma de la cabeza de los machos,

parecen ser los caracteres más útiles. La morfología del estilete es también confiable pero puede ser usada solamente en especímenes que son preparados convenientemente y observados en posición lateral precisa **(Sosa, 1983 y Chytwood, 1949)**.

El modelo perianal se forma por estrías cuniculares que se presentan en la cola de la larva. Al ampliarse el cuerpo y acortarse la cola, estas estrías se deforman hacia atrás y forman un dibujo alrededor de la vulva y el ano que se asemeja a una huella digital. Este modelo se encuentra expuesto a considerables variaciones, pero dentro de una misma especie, parece limitarse a lo que pudiera llamarse el modelo básico para cada una **(Chitwood, 1949)**.

El sistema reproductivo de la hembra en las especies de *Meloidogyne* consiste en dos ovarios, cada uno con una zona germinal, zona de crecimiento, oviducto, espermatoteca y útero. El útero conduce a una vagina común. El sistema reproductivo se forma de un primordio genital de cuatro células del segundo estadio larval y se desarrolla a través del tercero y cuarto estadios larvales **(Triantaphyllou, 1962)**.

En el extremo distal del sistema reproductivo adulto, existen células que se dividen muchas veces formando oogonios con el número somático ($2n$) de cromosomas. Los oogonios más avanzados cesan de dividirse y se convierten en oocitos, los cuales pasan a través de una larga zona de crecimiento, volviéndose más largos y

movilizándose uno por uno a través del oviducto y la espermatoteca. Se produce otra división mitótica, los huevos se tornan ovalados y forman una cascara flexible. Finalmente pasan a través de la vagina y son depositados, en estado unicelular, en la masa de huevos **(Triantaphyllou, 1962)**.

Esta clase de reproducción se llama partenogénesis (mitótica) y es muy común en *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, algunas poblaciones de *M. hapla* y otras especies. Se conservan el número diploide de cromosomas. El esperma no es necesario para el desarrollo del huevo y no ocurre fertilización, aún cuando la espermatoteca contiene esperma **(Triantaphyllou, 1962)**.

3.3.2. Biología.

Los nemátodos formadores de nódulos de la raíz se encuentran en todo el mundo, pero con mayor frecuencia y abundancia en regiones con clima cálido, tórrido, inviernos cortos y moderados. Estos nemátodos se encuentran también en los invernaderos donde se usan suelos no esterilizados. Atacan a más de 2 000 especies de plantas, incluyendo a la mayoría de las plantas cultivadas **(Agris, 1995)**.

Cuando las condiciones ambientales son óptimas, el ciclo desde huevo hasta adulto es de 3 a 4 semanas, dependiendo principalmente de la temperatura. A más baja la temperatura más tiempo se requiere para alcanzar la madurez sexual. La duración del ciclo de vida de las

especies del género *Meloidogyne* depende directamente de la temperatura. En el caso de *M. hapla* y otras especies de climas fríos, las temperaturas óptimas van desde 15°C hasta 25°C. Las especies *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* son de clima cálido y tiene temperaturas óptimas de crecimiento de 25 a 30°C. las especies antes mencionadas tiene muy poca actividad a temperaturas superiores a los 40°C o inferiores a los 5°C. Estas especies tardan hasta 56 días para completar su ciclo de vida a una temperatura promedio de 14°C y 21 días a 26°C (Arguello y Rueda, 2007).

Las larvas de segundo estadio tardan un día en penetrar la raíz y de dos a tres días en hacerse sedentarias en posición alimenticia. Seis días después de la penetración en la raíz, las hembras comienzan a ensancharse y alcanzan la madurez sexual entre los 10 a 12 días a un rango de temperatura de 22°C a 26°C. Las hembras de géneros fitoparásitos son reproductivas entre los 27 a 30 días de edad (Arguello y Rueda, 2007).

Las especies *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* y *M. hapla* tiene capacidad de reproducirse por partenogénesis (las células se dividen muchas veces formando oogonios los cuales dejan de dividirse y se convierten en oocitos, sin haber habido fertilización por un macho). El mayor crecimiento de las hembras sucede entre los 24 y 30 días y la producción de huevos envueltos en una matriz gelatinosa comienza entre los 27 y 30 días. Las hembras continúan produciendo huevos

durante dos a tres meses y luego pueden seguir viviendo hasta el final de la temporada del cultivo **(Arguello y Rueda, 2007)**.

Todas las especies que se reproducen por partenogénesis tienen machos y la cantidad de ellos dependen de la disponibilidad de alimento y otros factores. Generalmente, cuando el alimento es abundante, la mayoría de las larvas son de hembras. Al disminuir el alimento, ya sea por edad avanzada de los hospederos o por haber raíces severamente infectadas, un gran porcentaje de las larvas se desarrolla como machos **(Triantaphyllou y Hussey, 1973; Arguello y Rueda, 2007)**. Razón por la cual encontramos menor cantidad de larvas y abundantes machos en muestras extraídas en rastros, suelos sin cultivos hospederos y en plantas del cultivo que están a punto de morir **(Arguello y Rueda, 2007)**.

Durante su vida reproductiva, cada hembra puede depositar entre 6000 y 11000 huevos, dependiendo de las condiciones del suelo, esencialmente la temperatura, el grado de saturación del agua, el tipo de suelo y la disponibilidad de alimento **(Arguello Y Rueda, 2007)**.

La producción del esperma es muy parecida a la producción de huevos, excepto que ocurre una reducción en el número de cromosomas. Por supuesto, los espermatozoides son más pequeños **(Triantaphyllou y Hussey, 1973)**.

Meloidogyne spp. Pasa por dos fases durante su ciclo de vida con comportamientos diferentes siendo estas fases:

a. Ciclo de Vida – Preparasítico:

El ciclo de vida de las especies de **Meloidogyne** comienza con un huevo, generalmente en estado unicelular, depositado por una hembra, los cuales son puestas cada 8 a 10 días durante 3 meses que está completa o parcialmente incrustada en una raíz de hospedero (**Arguello y Rueda, 1007; Taylor y Sasser, 1983**).

Los huevos son depositados en una matriz gelatinosa que los mantiene juntos en masas o sacos de huevos. Se han encontrado más de 1000 huevos en una masa que puede ser más grande que el cuerpo de una hembra. El desarrollo comienza breves horas después de la ovoposición, resultando en 2,4, 8 ó más células, hasta que se ve una larva completamente formada, con un estilete, enrollado en la membrana del huevo (**Taylor y Sasser, 1983**).

Este es el primer estadio larval. Se puede mover dentro del huevo pero no es muy activa. La primera muda tiene lugar en el huevo y no es difícil ver separada la cutícula del primer estadio, sobresaliendo más allá de la cabeza del segundo estadio larval. Poco después, la larva emerge a través de un agujero hecho, en

un extremo del cascarón flexible del huevo, por medio de pinchazos repetidos con el estilete **(Taylor y Sasser, 1983)**.

La larva del segundo estadio larval que ha emergido puede dejar o no dejar inmediatamente la masa de huevos. Generalmente hay varias larvas emergidas en la masa de huevos juntamente con huevos en varios estados de desarrollo. Después de dejar la masa de huevos, la larva se mueve a través del suelo en busca de una raíz de la que pueda alimentarse. Parece que la búsqueda es al azar hasta que la larva se acerca a unos cuantos centímetros de una raíz. Luego, guiada por alguna sustancia que emana la raíz, se va trasladando directamente hacia la punta radicular **(Taylor y Sasser, 1983)**.

b. Ciclo de Vida Parasítico:

Las larvas del segundo estadio larval infectivo generalmente penetran en la raíz justamente sobre la caliptra (punta de la raíz). Se mueven principalmente entre las células no diferenciadas de la raíz y, finalmente se colocan con sus cabezas en el cilindro central en desarrollo, cerca de la región de elongación celular, y con sus cuerpos en la corteza. Con sus estiletes perforan las paredes de la célula e inyectan secreciones de sus glándulas e inyectan secreciones de sus glándulas esofágicas.

Estas secreciones causan un agrandamiento de las células en el cilindro vascular y aumentan la proporción de la división celular en el periciclo. Esto da lugar a la formación de células gigantes (también llamadas síncitos) formadas por un agrandamiento de las células (hipertrofia), a la posible disolución de paredes celulares, a un agrandamiento del núcleo y a cambios en la composición de los contenidos celulares.

Al mismo tiempo, hay una intensa multiplicación de células vegetales (Hiperplasia) alrededor de la cabeza de la larva. Usualmente, pero no invariablemente, estos cambios son acompañados por el engrosamiento de la raíz para formar agallas conspicuas. En las raíces pequeñas, las agallas que contiene a una sola hembra varían de redondas a fusiformes y pueden tener de uno a tres milímetros de diámetro.

Mientras se están formando las células gigantes y las agallas, aumenta el ancho de la larva, y hay una dilatación considerable de la glándula esofágica. Las células del primordio genital se dividen y este se agranda haciéndose notorias dos ramificaciones en la hembra o formando un cuerpo alargado en el macho. Cerca de la parte posterior del cuerpo de la hembra, las seis glándulas rectales comienzan a agrandarse. A medida que el segundo estadio larval continua alimentándose, el cuerpo adquiere forma de frasco y las gónadas se alargan.

Cuando se completan la tercera y segunda muda en la hembra, demostradas por las dos cutículas desprendidas, el estilete y el bulbo esofágico medio desaparecen. Poco después de la cuarta muda el estilete y el bulbo medio son regenerados, se forma el útero y la vagina y el patrón perineal se hace visible. Es difícil apreciar el desarrollo posterior de las dos gónadas femeninas ya que se alargan y se dobla en el cuerpo casi globular o ligeramente alargado con un cuello que puede ser corto y robusto o casi tan largo como el cuerpo. Justamente antes de la segunda muda, la gónada masculina se encuentra cerca del final posterior del cuerpo y el recto es visible.

Después de la segunda y tercera muda, el estilete no es visible, el bulbo esofágico medio se ha degenerado y sólo la gónada se ha alargado. Luego ocurre una rápida metamorfosis: el cuerpo alargado se desarrolla dentro de la cutícula larval, completa con estilete, esófago con bulbo medio, espículas y esperma de los testículos **(Taylor y Sasser 1983)**.

Los machos, las hembras y las larvas de las especies de ***Meloidogyne*** tienen estiletos que consisten en una punta cónica, una columna derecha y tres nódulos. El estilete puede ser sacado por medio de músculos adheridos a los nódulos. Es usado para perforar las células de las plantas. El estilete tiene una abertura cerca de la punta que conduce al lumen del estilete que es

continuado con el lumen del esófago adherido a los nódulos. Cerca de la parte posterior de los nódulos, el lumen tiene una ramificación corta llamada orificio de la G.D.E.

El lumen esofágico conduce hacia una válvula situada en el bulbo esofágico medio. Los músculos adheridos a la válvula la dilatan y contraen alternativamente, de modo que funciona como una bomba, trasladando el alimento al intestino. Posterior al bulbo medio del esófago se encuentran tres grandes glándulas, una dorsal, y dos sub – ventrales. El conducto de la G.D.E se dirige hacia el orificio de la glándula dorsal, y los conductos de las glándulas sub - ventrales desembocan dentro del tubo esofágico en el bulbo medio.

Para alimentarse, el nemátodo empuja la punta del estilete dentro de la célula de la planta. Las secreciones de la glándula dorsal esofágica fluyen a través de la abertura del estilete hacia el interior de la célula de la planta. Esta secreción y posiblemente las secreciones de las dos glándulas sub – ventrales tiene un gran efecto en la planta.

Las larvas y hembras tienen glándulas esofágicas bien desarrolladas y las usan en la alimentación. Los machos aparentemente no se alimentan y carecen de glándulas esofágicas bien desarrolladas **(Taylor y Sasser, 1983)**.

En la Selva el “Nematodo del nudo” *Meloidogyne* spp., es el principal nemátodo y se encuentra afectando a una serie de cultivos al igual que en la Costa (**Quispe, 2008**).

3.3.3. Especies del Género *Meloidogyne* (Sosa, 1983)

Existen 4 especies del Género *Meloidogyne* siendo estas:

- *Meloidogyne incognita*
- *Meloidogyne hapla*.
- *Meloidogyne arenaria*.
- *Meloidogyne javanica*

A. La especie *M. incognita*

a. IMPORTANCIA

Meloidogyne incognita es considerado el nemátodo de mayor importancia en el mundo debido a las grandes pérdidas que puede ocasionar al afectar las raíces de numerosos hospedantes con que cuenta (Hortalizas, Frutales, Leguminosas; etc). Este nemátodo produce nódulos en las raíces, atrofiándolas e interfiriendo con su buen funcionamiento. En la parte aérea se puede apreciar amarillamiento, marchites y crecimiento retardado (**Torres, 2003**).

b.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

(**AGRIOS, 1995**). Da la siguiente Clasificación Taxonómica:

Phylum: NEMATODA

Orden: Tylenchida

Suborden: Tylenchina

Superfamilia: Heteroderoidea

Familia: Heteroderidae

Género: *Meloidogyne*

Especie: *M. incognita*

c. MORFOLOGÍA

- **Hembras.**

- **Modelos Perineales.**

Los modelos perineales de *M. incognita* tienen un arco dorsal alto formado por estrías que pueden ser desde lisas hasta onduladas. Algunas estrías se bifurcan cerca de las líneas laterales, las que no están claramente visibles. Frecuentemente se observan estrías que se dirigen hacia la vulva (**Sosa, 1983**).

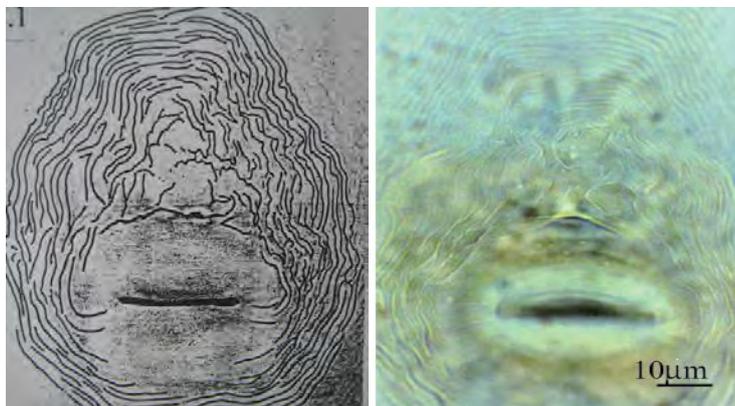


Foto 1: Modelos Perineales de *M. incognita*

Fuente: Internacional Meloidogyne Project – 1983

- Estiletes.

En *M. incognita* el cono del estilete está claramente curvado dorsalmente. La porción del cono es cilíndrica y la mitad posterior, cónica. La columna es ligeramente más ancha en la base. Los nódulos son anchos y planos, separados de la columna y con proyecciones hacia la parte anterior tan marcadas en algunos especímenes, que cada nódulo se ve como si fueran dos (Sosa, 1983).

- Morfología de la Cabeza.

El disco labial y los labios medios de *M. incognita* tiene forma de “Mancuerna” (los labios medios son más anchos que el disco labial), están presentes dos protuberancias. Los labios laterales son grandes y están separados de los labios medios redondeados; generalmente se fusionan con la región cefálica, en un tramo lateral corto. La región cefálica está frecuentemente surcada por un anillo discontinuo (Sosa, 1983).

• Machos.

- Estiletes.

La forma de la cabeza de los machos de *M. incognita* es muy característica, por lo que no se confunde fácilmente con ninguna otra especie. El disco labial es grande y redondeado, cóncavo centralmente y más alto que los labios

medios, los cuales son tan anchos como la región cefálica que generalmente presenta 2 ó 3 anillos incompletos (**Sosa, 1983**).

- Morfología de la Cabeza.

La punta del estilete de los machos de *M. incognita* es roma y más ancha que la porción media del cono. Una proyección en el lado ventral del cono, marca la abertura del lumen del estilete, la cual queda localizada a una distancia equivalente a un cuarto de la longitud del cono, a partir de la punta del estilete. La columna es generalmente cilíndrica y con frecuencia es más angosta cerca de los nódulos basales, éstos están separados de la columna, presentan proyecciones hacia la parte anterior y pueden ser anchos y planos o redondeados (**Sosa, 1983**).

• Juveniles de Segundo Estadio.

- Morfología de la Cabeza.

En los juveniles de segundo estadio de *M. incognita*, el disco labial y los labios medios presentan forma de “Mancuerna”, en vista frontal. El disco labial es pequeño y redondo, ligeramente más elevado que los labios medios. Los labios laterales forman un mismo perfil con la región cefálica, la que usualmente presenta de dos a cuatro anillos incompletos (**Sosa, 1983**).

d. RAZAS

De acuerdo con la prueba de Hospedantes Diferenciales de Carolina del Norte, *M. incognita* presenta cuatro razas patogénicas. Todas las poblaciones de las cuatro razas se reproducen en chile, sandía y tomate; pero varían en su respuesta a tabaco resistente y algodón. Las poblaciones de la raza 1 no se reproducen en tabaco ni algodón; las de raza 2, se reproducen en tabaco pero no en algodón; las de raza 3, no se reproducen en tabaco pero sí en algodón y las de raza 4 se reproducen en ambos vegetales (Sosa, 1983).

e. SINTOMATOLOGÍA

Las plantas infestadas por *Meloidogyne spp.*, muestran síntomas en los órganos aéreos similares a los producidos por enfermedades radiculares, disminuyendo el volumen de agua disponible para la planta; mostrando un desarrollo deficiente, menor cantidad de hojas pequeñas, amarillamiento, marchitamientos; los frutos y las inflorescencias se atrofian reduciendo la producción (Agrios, 1995; Talavera, 2003). La infección de las raíces produce engrosamientos característicos o agallas que pueden ser de varios tamaños dependiendo del número de hembras que albergue (Talavera, 2003).

Las larvas se alimentan, en cierto grado, antes de penetrar, a expensas de las células epidérmicas de las raíces, pero una

vez que se han establecido dentro de éstas, se convierten en parásitos sedentarios, incapaces de moverse. La alimentación se limita a las células que rodean su cabeza.

Si la planta es un huésped adecuado, no evolucionan las células cercanas a la cabeza del parásito, hasta lo que, normalmente, hubieran sido xilema, floema y otros elementos de un cilindro central. Bajo la influencia del estímulo que provoca la secreción que inyectan por medio del estilete, se forman las llamadas “células gigantes”. Hablando estrictamente, éstas no son células sino masas de protoplasma, más o menos desnudas, de las que se alimentan los nemátodos. La formación de las células gigantes (Hiperplasia), por estímulo, no es el único efecto que producen los parásitos en los tejidos que los rodean. La proliferación e hipertrofia de las células corticales da por resultado la formación de las conocidas dilataciones o vesículas **(Christie, 1974)**.

Los nemátodos formadores de nódulos de la raíz dañan a las plantas al debilitar las puntas de la raíz y al inhibir su desarrollo o estimular una formación radical excesiva, pero principalmente al inducir la formación de hinchamientos en las raíces, las cuales no solo privan a las plantas de sus nutrientes sino también deforman y disminuyen el valor comercial de muchas raíces de los cultivos. Cuando las plantas susceptibles son

infectadas en la etapa de plántula, las pérdidas son considerables y pueden dar lugar a la destrucción total del cultivo. Las infecciones que sufren las plantas adultas pueden tener solo efectos ligeros o pueden disminuir en forma considerable la producción.

Las plantas afectadas a menudo sobreviven durante el transcurso de la estación de crecimiento y rara vez son destruidas prematuramente por la enfermedad. Los síntomas más característicos de la enfermedad son los que aparecen sobre los órganos subterráneos de las plantas.

Las raíces infectadas se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas del nódulo de la raíz, las cuales tienen un diámetro dos o tres veces mayor al de las raíces sanas. Se producen varias infecciones sobre la misma raíz y las agallas en proceso de desarrollo le dan a la raíz una forma irregular que se asemeja a una masa. En las raíces infectadas por algunas de las especies de este nemátodo se forman, además de agallas o vesículas, tienden a producir varias ramificaciones cortas de la raíz cerca de la región de la invasión, las cuales nacen en la parte superior de la agalla y forman un sistema radicular denso y tupido (**Christie, 1974; Agrios, 1995**). Sin embargo, es frecuente que las raíces

infectadas sean más pequeñas y muestren varios grados de necrosis (**Agrios, 1995**).

En plantas susceptibles las poblaciones de *M. incognita* pueden producir agallas individualizadas, pero generalmente éstas coalescen para formar agallas grandes y algunas veces masivas (por ejemplo en cucurbitáceas). Generalmente, el tipo de agallamiento no se considera útil para la identificación de la especie (**Sosa, 1983**).

Cuando las larvas entran a las raíces y a otras estructuras subterráneas, producen lesiones mecánicas muy leves, excepto cuando un gran número penetra en un espacio limitado (Invasión masiva). La mayor parte de los efectos sobre los tejidos circunvecinos se produce por la secreción inyectada a través del estilete de la larva mientras ésta se alimenta. Algunas veces, se desvitalizan y dejan de crecer las puntas de las raíces. No es usual la necrosis en la región de invasión. Cuando se presenta la necrosis, es probable que indique que la planta no es un huésped muy adecuado. Los síntomas de las lesiones producidas por estas especies pueden caracterizarse por una combinación de vesículas y de raíces en escobilla. Las vesículas tienden a ser pequeñas y a localizarse en las raicillas (**Christie, 1974**).

Los nódulos de la raíz constituyen una enfermedad muy destructora, aunque es extremadamente variable el grado de lesión a las plantas y en ella influyen muchos factores.

El hecho aislado de que las raíces presentan vesículas no significa, por necesidad, que se retarde gravemente el desarrollo de la planta o que se malogre la cosecha. Cuando son favorables las condiciones de desarrollo, especialmente con abundante humedad y fertilidad, algunas plantas pueden contener una infestación importante sin que se afecte seriamente su desarrollo (**Christie, 1974**).

f. CITOGENÉTICA

Las poblaciones de *M. incognita* se reproducen exclusivamente por partenogénesis mitótica. Hay dos formas cromosómicas dentro de esta especie; una tiene $2n = 32 - 36$ cromosomas y se considera que es diploide; la otra tiene $2n = 40 - 46$ cromosomas y probablemente representa un triploide. La forma triploide es definitivamente la más común y ampliamente distribuida alrededor del mundo. Todas las poblaciones de *M. incognita* tienen una característica citológica única, que las separa de las poblaciones de cualquier otra especie de *Meloidogyne*.

Los oocitos de *M. incognita* están en profase cuando pasan a través de la espermateca y permanecen en este estado hasta que emigran a la parte posterior del útero, en donde repentinamente avanzan a la metafase. Durante todo este prolongado período de profase, los cromosomas están amontonados, muy compactos entre sí y no pueden verse individualmente ni contarse. Los oocitos de todas las otras especies de *Meloidogyne*, avanzan a la metafase tan pronto como pasan a través de la espermateca al útero. Además, los cromosomas están esparcidos en un área grande, son bien visibles y pueden ser contados (**Sosa, 1983**).

g. ECOLOGÍA

La velocidad de desarrollo de los nemátodos se ve influida por diferentes factores, como la Temperatura observándose que entre 27,5°C a 30°C su ciclo de vida es de unos 17 días, a 24°C en 21 a 30 días; a 20°C, en 31 días, y a 15,4°C en 57 días. A temperaturas inferiores a 15,4°C y superiores a 33,5°C la hembra no alcanza su madurez (**Tyler, 1933; Christie, 1974**). La aptitud de las plantas que sirven como huéspedes a una determinada especie de nemátodo y, asimismo, el vigor de la planta, que se refleja en los nutrientes disponibles (**Christie, 1974**).

Aunque las diferentes especies de nemátodos de los nódulos radiculares difieren entre sí en sus relaciones huésped- parásito y, sin duda, en diversas características fisiológicas, todas ellas tienen substancialmente el mismo ciclo de vida. Inicialmente, su crecimiento es, en gran parte, un aumento de grosor. Llegan a ser de forma ovalada, con un grosor de aproximadamente la mitad de su longitud.

El macho es un parásito sedentario únicamente durante su desarrollo larvario. La hembra es un parásito sedentario todo su desarrollo larvario y durante toda su vida adulta. Después de vivir como parásito durante dos o tres semanas, el macho muda tres veces en rápida sucesión y sufre una metamorfosis, de la cual surge como un gusano delgado con la forma nematoide típica. **(Christie, 1974).**

La hembra sufre las mismas mudas que el macho y casi al mismo tiempo, aunque sin que presente cambio abrupto en la forma. La hembra continúa su desarrollo, aumentando en circunferencia o perímetro y, en cierto modo en su longitud, hasta que llega a adquirir la forma de una pera o, algunas veces, de una esfera, aunque siempre conserva sobresaliente la región del cuello. Si la planta es un huésped adecuado y si el clima es templado, las hembras comienzan a depositar huevos después de de 20 a 30 días de haber penetrado como larva.

La hembra secreta antes, a través de la vulva, una substancia gelatinosa y enseguida deposita los huevos sobre la misma, manteniéndolos unidos y formando con ella una cubierta protectora. El extremo posterior de la hembra puede sobresalir de la raíz o, si esto no sucede, se encuentra por lo general suficientemente cerca de la superficie para que los huevos broten al exterior, donde se acumulan las masas. Estas masas de huevos pueden presentarse poco unidas o formando masas compactas. Su color puede variar del amarillo claro al pardo oscuro **(Christie, 1974)**.

Al incubar, la larva puede a). Escapar hacia tierra, en busca de nuevas raíces, o b). Permanecer y desarrollarse en la misma raíz o en otra estructura donde se hayan producido. No es fortuito el curso que sigue la larva, sino que se determina por la clase de tejido que rodea a la hembra madre **(Christie, 1974)**.

Nadie ha observado copulando a los nemátodos de los nódulos radiculares, pero las evidencias circunstanciales sugieren que existe copulación. A pesar de esto, no es necesario la copula. Pues se observó que la reproducción sin machos parece ser regular y normal. Por aislamiento repetido, una familia se desarrolló por 12 generaciones en ausencia de machos. Las hembras depositan los huevos y se reproducen normalmente **(Tyler, 1933)**

h. MÉTODOS DE CONTROL

Hasta hace poco las opciones disponibles para el control de nemátodos dependían de la intensidad y rentabilidad del cultivo. En cultivos hortícolas y ornamentales de alta rentabilidad se usaban rutinariamente desinfectaciones del suelo con nematicidas, mientras que en otros cultivos de menor rendimiento económico se usaban programas de Manejo Integrado, incluyendo rotaciones y/o variedades resistentes.

No obstante, la preocupación entre consumidores y organizaciones por los riesgos ambientales de los nematicidas, así como el énfasis puesto en una agricultura sostenible por organizaciones europeas e internacionales ha cambiado drásticamente la situación y de una excesiva confianza en los nematicidas, se debe pasar urgentemente a otros sistemas que integren métodos alternativos de control compatibles con el respeto al medio ambiente.

Existen diversos métodos de control nematológico alternativos al control químico, desde los tradicionales como el barbecho o la rotación de cultivos, hasta los más novedosos como resistencia incorporada mediante Biología Molecular. Todos ellos tienen ventajas e inconvenientes y ninguna estrategia por sí sola, parece ser satisfactoriamente efectiva, por lo que el acercamiento más productivo al control nematológico debería

involucrar la integración de varios métodos, como Prevención, Medidas Culturales, Resistencia y Control Biológico **(Talavera, 2003)**.

En la actualidad, el control de los nemátodos fitoparásitos se realiza principalmente mediante fumigantes del suelo y nematicidas. El desarrollo de estrategias alternativas al control químico ha recibido insuficiente atención debido a la disponibilidad de fumigantes de amplio espectro muy eficaces.

Sin embargo hoy en día, existe un renovado interés en el control biológico de nemátodos motivado por la necesidad de encontrar alternativas al bromuro de metilo, y por otro lado, debido al desarrollo de sistemas productivos como la producción integrada o agricultura ecológica que promueven la utilización de mecanismos naturales para regular las poblaciones de los patógenos, y que prohíben el uso de productos químicos como método de control **(Talavera, 2003)**.

- Diagnóstico.

Según **Márquez (2007)**, en el trabajo realizado “Diagnóstico y niveles de inóculo del nemátodo que afecta a la raíz de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) en el Perú”. Para La extracción se hizo por el método de la bandeja, encontrándose la presencia del género *Meloidogyne sp.* , tanto en suelo (72 indiv/100 cc

de suelo) y en las raíces (432 juveniles /5 gr de raíz). Para el efecto de niveles de inóculo en el daño radicular, se inoculó tres concentraciones de huevos (inóculo) de *Meloidogyne sp.* (50, 100 y 150 huevos / 100 cc de suelo), más los testigos sin inóculo y con suelo infestado naturalmente (SIN).

La extracción de los huevos del nemátodo de raíces con nódulo fue por el método del Hipoclorito de sodio al 0,5%. Con 50 huevos /100 cc de suelo hubo buen crecimiento de la planta con una tasa de 4.19cm/ semana. La tasa de crecimiento de las plantas y el número de nódulos por raíz fue directamente proporcional a la cantidad de huevos inoculados. Mientras que en la longitud de las raíces ocurrió lo contrario alcanzando solo entre 1952 – 2403 mm en comparación al testigo con SIN (3329 mm), así mismo con este testigo, se encontraron 873 juveniles /5 gr de raíz, seguido del tratamiento con 150 huevos / 100 cc de suelo donde se encontraron solo 13 juveniles/ 5 gramos de raíz, en los demás tratamientos se encontraron juveniles.

En cuanto a la población de huevos fue directamente proporcional a la cantidad de huevos inoculados, siendo el testigo con SIN el que mantuvo 3073 huevos /5 gr. de raíz, y el tratamiento con 50 huevos /100 cc de suelo, mantuvo tan solo 82 huevos /5 gr. de raíz.

Para conocer con certeza si la enfermedad es causada por nemátodos, debe realizarse un análisis nematológico en laboratorios especializados, iniciándose con el muestreo que es un paso importante. Para esto se toman las muestras tanto dentro del área afectada, en los límites y en el área aparentemente no afectada seguido por el procesamiento e identificación de los nemátodos. Una vez realizado el análisis, se correlacionan los datos y en este caso las poblaciones mayores deben estar en el área afectada y si es lo contrario puede deberse a otros factores (Quispe, 2008).

Cuadro 02: Escala de evaluación de *Meloidogyne* propuesta por el Proyecto Internacional de Meloidogyne

Grado	Número de Nódulos
0	0
1	1 – 2
2	3 – 10
3	11 – 30
4	31 – 100
5	+ de 100

Fuente: Quispe, 2008

Entre los métodos de control más usados están:

- Prevención

En primer lugar es necesaria la prevención de la entrada del nemátodo, pues una vez éste se ha establecido es virtualmente imposible erradicarlo, por lo que es importante el

uso de semillas, plántones certificados y material limpio de nemátodos. Aquellas parcelas en las que se encuentre ***Meloidogyne sp*** deberán mantenerse al margen de la producción hortícola por un período entre 2 y 4 años. Cultivos no hospedadores o resistentes puede cultivarse para reducir las poblaciones.

Las malas hierbas deben eliminarse para evitar que sirvan como hospedadores alternativos para nemátodos. En general, aquellas parcelas donde se vayan a cultivar hortícolas susceptibles al nemátodo deberán ser analizadas regularmente para observar la presencia de nematodos agalladores. Si los niveles detectados están por encima del umbral económico de daño se recomienda el uso de un nematicida (**Talavera, 2003**).

- **Cultivos Trampa**

Se ha ensayado con cierta amplitud, para el control de los nódulos radiculares. Se siembra en el terreno un cultivo altamente susceptible, de rápido crecimiento, que se deja desarrollar por un tiempo breve y que se invierte por medio del arado o se destruye en otra forma. El control se basa en el hecho de que los nemátodos, después de entrar en las raíces, se convierten en parásitos sedentarios, incapaces de

locomoción, y que se destruyen con las plantas antes de que se reproduzcan.

El método parece teóricamente bueno pero no es muy eficaz en la práctica. Exige un control cuidadoso del tiempo pues, si el cultivo se prolonga demasiado, la infestación puede aumentar, en lugar de disminuir **(Christie, 1974)**.

- Barbecho y cultivo en seco

Se observó que el barbecho seco en verano, complementado con la labranza periódica de las tierras, era un medio eficaz para controlar los nódulos radiculares **(Watson, 1921; Godfrey, 1947)**. Si las tierras contienen un cultivo infestado, el terreno debe labrarse en tal forma que las raíces salgan a la superficie, donde quedan expuestas a la acción secadora del sol y del viento **(Godfrey, 1947)**.

En este caso, el propósito de la labranza no fue secar el suelo, sino mantenerlo debidamente aireado, evitando así que los huevos del nemátodo permanecieran latentes y sin incubar a la falta de oxígeno **(Watson, 1921)**.

- Rotación y cultivos protectores

Se sabe que, de los que son adecuados para cultivos de campo, muy pocos vegetales son resistentes a todas las

diferentes especies de nemátodos de los nódulos radiculares. Parece ser que una de esas plantas es la ***Crotalaria spectabilis*** Roth y que algunas otras especies del mismo género pueden ser igualmente resistentes, aunque no se han cultivado y ensayado con la debida amplitud (**Christie, 1974**).

- **Sustancias químicas**

La fumigación de las tierras evolucionó, en gran parte, como un medio para controlar los nódulos radiculares y la mayor parte de las fumigaciones comerciales en gran escala han tenido este propósito. (**Christie, 1974**).

- **Sustancias biocidas**

Los extractos vegetales desde hace mucho tiempo han sido muy utilizados para reducir plagas y otras afecciones por nemátodos como lo muestra en su trabajo (**Cayotopa, 2007**), al evaluar el “Efecto de Extractos Vegetales para el Control del Nematodo del Nódulo de la Raíz (*Meloidogyne sp*) en tomate”.

El presente trabajo tuvo la finalidad de evaluar el efecto de los extractos vegetales para el control de *Meloidogyne sp*. Se utilizó extracto de semillas de Mango (5%), Papaya (5%), extracto de hoja y semilla de Nin (2%), extracto de de hoja de Shapilloja (5%) y los testigos (con y sin inóculo, con suelo

infestado naturalmente). Con el extracto de la hoja de Shapilloja al 5% se encontró una tasa de crecimiento de 12 cm/semana, seguidos del extracto del hoja de Nin al 2% y extracto de semilla de papaya al 5% con una tasa de 11.8 y 11.6 cm/ semana respectivamente.

La mayor cantidad de nódulos se encontró con el testigo con suelo infestado naturalmente (3708.9 nódulos/raíz) donde no se hizo aplicación alguna de los extractos, seguido del extracto de hoja de Shapilloja al 5% (429 nódulos/raíz). La mayor longitud de raíces se encontró con el testigo con suelo sin inóculo (3173.4 mm) donde no hubo daño o formación de nódulos, pero con el extracto de semilla de mango al 5% se encontró menos longitud de raíces (2039.3 mm).

Con todos los extractos se encontró biomasa sin diferencias significativas entre ellos excepto con el extracto de semilla de mango al 5% que tuvo un 45.22% de materia seca, el testigo suelo sin inóculo solo alcanzó 22.02% de materia seca. Con los extractos de hoja de Shapilloja al 5% y hoja de Nin al 2% se encontró una buena tasa de crecimiento, con un número menor de nódulos y un buen sistema radicular.

Igual sugiere **Cayotopa (2008)** en su trabajo "Alternativas de control de *Meloidogyne sp.*, en Sacha Inchi (*Plukenetia*

volubilis) en condiciones de vivero”. Con la finalidad de controlar los daños ocasionados por *Meloidogyne sp.*, en raíces de sachá inchi. Se evaluó extracto de semilla de neem (*Azadirachta indica*), resina de oje (*Ficus insípida*), humus de lombriz, compost, gallinaza, Benfuracarb, Carbofuran y un testigo sin aplicación. Se produjeron plántones de Sachá inchi en suelo estéril. La gallinaza promovió significativamente mayor crecimiento de la planta (33 cm por semana), relacionado a un buen desarrollo radicular. El extracto de neem redujo significativamente la formación de nódulos (9.8 nódulos) y podría ser una alternativa para controlar *Meloidogyne sp.* El compost mostró influencia significativa en acumulación de biomasa respecto a los demás tratamientos.

- **Plantas resistentes a los nódulos radiculares**

Se está poniendo mayor interés en los esfuerzos tendientes a proporcionar variedades de las plantas agrícolas importantes que sean resistentes a los nódulos radiculares. Aunque el reconocimiento de las diferentes especies de nemátodos de los nódulos radiculares no simplifica el problema, sí clarifica la situación y contribuye, de modo importante, al éxito presente y futuro (**Christie, 1974**).

Las variedades resistentes son un método de control más eficaz contra las especies de endoparásitos sedentarios como

Meloidogyne sp o los nemátodos quísticos, que pasan la mayor parte de su ciclo de vida dentro de las raíces.

No obstante, la obtención de nuevas variedades resistentes es complicada por la habilidad de las especies de nemátodos de desarrollar RAZAS o BIOTIPOS que superen la resistencia. Cuando una variedad resistente se planta, las poblaciones de nemátodos disminuyen, pero en la estación siguiente, los pocos nemátodos en una población capaces de superar la resistencia empiezan a aumentar, con lo que al cabo de unas generaciones la resistencia ha sido rota, mas del 80% de las poblaciones de ***Meloidogyne incognita*** muestreadas en invernaderos japoneses rompen la resistencia proporcionada por el Gen MI (Talavera. 2003).

- Tratamiento térmico de la tierra

En pequeñas cantidades, los suelos pueden calentarse lo suficiente para matar a los nemátodos.

Regando las tierras de macetas e invernaderos con agua hirviente, pueden controlarse los nódulos de las raíces. Cuando se trata de grandes cantidades, por lo general la tierra se coloca en sacos, se encierran en una cámara o autoclave y se somete a vapor vivo, a una presión de 1.05 Kg. por centímetro cuadrado, durante 30 minutos o más,

dependiendo el tiempo exacto de lo voluminoso del material **(Christie, 1974)**.

Al igual que **(Alcocer et al., 2007)** en su trabajo “Efectos de la solarización y enmiendas orgánicas sobre el nemátodo formador de agallas radiculares”. En donde se evaluó el efecto de la solarización, tres enmiendas orgánicas y sus combinaciones contra poblaciones de *Meloidogyne incognita* como una alternativa para la preparación de substratos libres de este nematodo en la producción de plantas de vivero.

Las temperaturas máximas en el substrato solarizado superaron en 5,5° C al testigo. No hubo diferencias en las temperaturas entre el tipo de enmienda en combinación con la solarización. Sobre el substrato no solarizado si se observó diferencias de temperaturas entre las enmiendas. Las poblaciones del nemátodo en el substrato solarizado y no solarizado disminuyeron con respecto a las iniciales. La eficacia de la solarización y de las enmiendas en el control del nemátodo en el bioensayo con plantas de ají papikra fue inconsistente.

- Tratamiento de los vegetales con agua caliente

Este método tiene el propósito de matar a los nemátodos que se encuentran dentro de las estructuras vegetales,

sumergiéndolas en agua caliente durante períodos cortos. Este método se ha usado ampliamente, y con éxito. El tratamiento con agua caliente se adapta mejor para librar de nemátodos a bulbos, bulbillos, tubérculos y raíces suculentas, cuando se encuentran en una condición latente (**Christie, 1974**).

- **Materia orgánica y recubrimientos vegetales**

Hay datos importantes que indican que el uso de materia orgánica para control de nemátodos fitopatógenos es una alternativa no química de control, la alta temperatura de más de 70° C en algunos sectores, que se origina del proceso de descomposición dando condiciones favorables para el desarrollo de microorganismos del suelo (Enemigos naturales) estimulando la acción microbiana haciendo que algunos microorganismos produzcan sustancias que retardan o inhiben el desarrollo de los nemátodos (**Batista 1942; Bello 1998 y Christie 1974**).

Además, de los efectos químicos reciben la acción física, estimulando el crecimiento radical de las plantas, estimula el control biológico, ya que existe una amplia gama de organismos, ya sea bacterias, hongos y nemátodos, que son depredadores de los organismos patógenos, mejora las características físicas, químicas y biológicas del suelo, es una

técnica de control especialmente interesante para quienes se dedican a la producción orgánica, y no se conocen efectos negativos sobre el medioambiente y la salud **(Bello, 1998)**.

Es posible, que los beneficios en la reducción de las lesiones por los nódulos radiculares, sea el resultado de algún subproducto metabólico o productos tóxicos de la descomposición de la materia orgánica, estimulando a algunos organismos antagónicos a los nemátodos parásitos **(Cave, 1995; Batista, 1942)**. O de una mejoría en las condiciones de fertilidad, que permite el desarrollo de las plantas a pesar del nemátodo productor de los nódulos” **(Batista, 1942)**.

- Control Biológico

La primera evidencia del control biológico de nemátodos se presentó cuando se aplicó formaldehído al suelo para controlar enfermedades de raíces. Se vio un aumento dramático del nematodo del quiste de cereales, *Heterodera avenae*, debido a la supresión por el formaldehido de hongos que limitaban al nemátodo.

El primer concepto que debemos tener en mente al tratar este tema es el de suelo supresivo, es decir, un suelo en el cual los enemigos naturales se incrementan conforme los

fitonemátodos también se incrementan. Este suelo mantiene un equilibrio entre fitonemátodos y los enemigos naturales y permite que el cultivo se pueda seguir cultivando a través de los años, sin ver reducciones en el rendimiento. Además, estos suelos proveen las condiciones que son favorables para la reproducción y acción de los enemigos naturales para regular la población de los fitonemátodos.

Por ejemplo un suelo seco no presenta condiciones óptimas para el desarrollo de hongos y su efecto sobre las poblaciones de fitonematodos es reducido. **(Cave, 1995).**

(Linford y Yap 1939), ensayaron la capacidad comparativa de cinco especies de hongos atrapadores de nemátodos para reducir la lesión radicular. Para esto, a la tierra infestada de nemátodos se le inoculó con ***Dactylella ellipospora***, ***Arthrobotrys oligospora***, ***Arthrobotrys musiformis***, ***Dactylaria candida*** y ***Dactylaria thaumasia***; mostrando un efecto escaso o nulo en la reducción de la severidad del daño del nódulo radicular. Sin embargo los autores señalan que las condiciones desfavorables del ambiente pueden haber sido la razón de este fracaso, y no el que los hongos hayan sido poco eficaces para atrapar a los nemátodos.

Seria un error inferir, por estas observaciones y experimentos poco impresionantes, que es posible o impracticable el control biológico que se ha ideado para los nemátodos de las plantas. Esta forma de ataque al problema de los nemátodos ofrece un campo fascinante de investigación que puede rendir resultados prácticos importantes, pero se requiere para ello la recopilación de un número importante de informes básicos sobre la biología de los suelos **(Christie, 1974)**.

3.4. LOS HONGOS NEMATÓFAGOS

3.4.1. Generalidades

Los hongos nematófagos son microorganismos con la capacidad de atacar, matar y digerir nemátodos (adultos, juveniles y huevos). Aparte de su habilidad nematófaga muchos de estos hongos pueden también vivir saprofiticamente en materia orgánica muerta, atacar a otros hongos (micoparásitos) y colonizar raíces de plantas como endófitos. Hay más de 300 especies de hongos nematófagos descritos, encontrados por todo el mundo, incluyendo las regiones polares.

Los hongos son habitantes del suelo, generalmente más frecuentes en suelos con elevado contenido en materia orgánica. La mayoría de los nemátodos fitopatógenos viven en el suelo y atacan a las raíces de plantas. La posibilidad de usar hongos nematófagos para el control biológico de nemátodos fitopatógenos está siendo por tanto investigada **(Universidad de Alicante, 2005)**.

3.4.2. Clasificación de los hongos Nematófagos

Los hongos nematófagos se dividen en cuatro grupos dependiendo de su modo de infectar nemátodos. El resultado de la infección es siempre el mismo: un nemátodo completamente digerido. Los nutrientes provenientes de los nemátodos son utilizados para formar nuevas estructuras fúngicas (hifas, esporas, etc). Los cuatro grupos son:

A. Hongos atrapadores de nemátodos

Estos hongos forman varios tipos de órganos atrapadores en sus hifas. Son medios o buenos saprotrofos, y en muchos casos la formación de las trampas debe ser inducida por los propios nemátodos. Hay dos mecanismos diferentes en la función de las trampas: adhesivos y mecánicos. Sea cual sea el mecanismo, el hongo penetra la cutícula del nematodo por la trampa formando el bulbo de infección dentro del nemátodo, a partir del cual las hifas tróficas crecen dentro del cuerpo y digieren sus contenidos. Géneros comunes de hongos atrapadores de nemátodos son ***Arthrobotrys* y *Monacrosporium*** (Universidad de Alicante, 2005).

Capturan los nemátodos por medio de redes adhesivas, nudos adhesivos, ramas laterales cortas con anillos e hifas que se contraen para atrapar a los nemátodos. Estos hongos aparentemente producen una toxina que mata al nemátodo y luego

invade su cuerpo. Son depredadores no específicos, por lo tanto no siempre son suficientes para efectuar un control biológico efectivo. Algunos hongos de este tipo son: ***Stylopage sp.*** el cual efectúa la captura por medio de hifas adhesivas individuales, ***Arthrobotrys oligospora***, que usa una red pegajosa, formada por nódulos con los que se adhieren a los nematodos (Cave, 1995).

B. Hongos endoparásitos:

Los endoparásitos utilizan sus esporas que se adhieren para infectar nemátodos y luego germinan formando tubos que penetran el cuerpo por las aberturas (Boca, Ano, Poro excretor y vulva). Estos hongos son a menudo parásitos obligados de nemátodos, y fuera del cuerpo infectado del nematodo aparecen sólo como estructuras de diseminación.

Las esporas de estos hongos pueden ser de 3 categorías funcionales según su mecanismo de acción siendo: Zoosporas móviles (como las de ***Catenaria* spp.**) que se enquistan sobre el nemátodo adhiriéndose a él y penetrando la cutícula, conidios adhesivos (por ejemplo en ***Drechmeria coniospora***) o conidios que son ingeridos (***Harposporium spp.***) por los nemátodos bacteriófagos.

Otros ejemplos de estos hongos son: ***Catenaria sp.***, ***Myzocyttium sp.***, ***Hoptoglossa sp.***, ***Meristacrum sp.***, ***Cephalosporium sp.***,

***Harposporium sp* y *Verticillium sp*. (Universidad de Alicante, 2005; Cave, 1995).**

C. Hongos Parásitos de huevos, hembras y quistes.-

Estos hongos infectan estadíos no móviles (huevos) de nemátodos. Producen apresorios (estructuras de infección en los extremos de las hifas que se adhieren a la cubierta del huevo. La cubierta del huevo es penetrada por el hongo y el contenido es digerido. Los géneros más comunes de este grupo son ***Pochonia spp.* y *Paecilomyces spp.*** (Universidad de Alicante, 2005).

Los hongos que atacan huevos pueden reducir la multiplicación de los nemátodos y la mayoría de los estudios con estos hongos han sido con nemátodos enquistadores y agalladores. Pueden ser parásitos obligados, como ***Catenaria auxiliaris*, *Nematophthora gynophila***, o parásitos facultativos como: ***Verticillium chlamydosporium*, *Dactylella oviparasitica* y *Paecilomyces lilacinus*** (Cave, 1995).

D. Hongos productores de toxinas

El hongo más común de este grupo es el descomponedor de madera ***Pleurotus ostreatus*** (seta yesquera) y otros ***Pleurotus spp.*** Las hifas de estos hongos presentan unos "tallos" cortos que contienen una gota de toxina. Tras ponerse en contacto con la toxina, el nematodo es rápidamente inmovilizado y las hifas del

hongo crecen quimiotrópicamente (dirigidas) a través de la boca del nemátodo, que como en el caso de los anteriores hongos nematófagos, es digerido (**Universidad de Alicante, 2005**).

3.4.3. *Pochonia chlamydosporia*

A. Generalidades

Es un Deuteromycete, parásito facultativo de estados sedentarios de *Meloidogyne sp*, *Nacobus*, *Globodera* y *Heterodera*. Asociado con suelos supresivos Potencial Agente de Control Biológico.

B. Clasificación Taxonómica

La segunda edición del compendio de protección de cultivos del 2001 informa la siguiente posición sistemática:

Reino: Fungi.

Phylum: Hongos mitosporicos.

Clase: Hyphomycetes.

Género: *Pochonia* (Syn: *Verticillium*)

Especie: *Pochonia Chlamydosporia*

En relación al hongo en estudio el CENSA (Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria – Cuba) reporta lo siguiente:

C. Características

Pochonia chlamydosporia var. *catenulata*, es un parásito facultativo de huevos de nemátodos, el cual ha demostrado ser un agente potencial de control biológico de nemátodos formadores de agallas (*Meloidogyne spp.*); responsables de pérdidas en los rendimientos en cultivos intensivos de hortalizas. Su elevada patogenicidad, junto a su capacidad para producir clamidosporas y colonizar la rizosfera de una amplia gama de cultivos hortícolas, lo hacen una alternativa factible ante el empleo de nematicidas químicos altamente tóxicos como el Bromuro de Metilo, el cual afecta la capa de ozono y la microflora beneficiosa del suelo.

Dicho hongo se utiliza para el manejo de poblaciones de *Meloidogyne spp.* que afectan cultivos hortícolas como tomate, pepino, pimiento, zanahoria, remolacha y lechuga. Su principal uso está dirigido a sistemas de producción intensiva de hortalizas como: organopónicos, huertos, casas y túneles de cultivos protegidos.

Se recomienda una sola aplicación anual a razón de 5000 clamidosporas por gramo de suelo, dentro de un esquema de rotación de cultivos que comprende cultivos susceptibles - pobre hospedante - no hospedante o resistente - cultivo susceptibles de nemátodos.

Su efectividad se ha comprobado en el Organopónico Vivero-Alamar, actual Centro de Referencia Nacional, donde existían pérdidas de un 70 % en el cultivo de la Remolacha por altos niveles en el suelo de *Meloidogyne incognita* (grado 5). Se aplicó la dosis recomendada mezclado en proporción 1: 10 con humus de lombriz a partir del material orgánico estiércol vacuno, dentro de una secuencia de rotación de cultivos.

Otros resultados de campo fueron obtenidos en área experimentales y de producción del CENSA (Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria – Cuba), donde con una sola aplicación en el cultivo de tomate variedad *Amalia*, se logra reducir las poblaciones de nemátodos de forma significativa. El hongo incrementa su población en el suelo después de 6 meses de aplicado y mantiene una concentración efectiva a nivel de la rizosfera que garantiza la colonización de alrededor del 90% de las masas de huevos (ootecas) expuestas en la rizosfera y parásita más del 60% de los huevos dentro de ella.

Este resultado ratifica las potencialidades del bionemático para reducir las poblaciones de nemátodos en condiciones de producción intensivas de hortalizas.

Tiene la capacidad de reducir paulatinamente las poblaciones de nemátodos por debajo del nivel crítico; compatible con otros

métodos empleados en los sistemas de producción intensiva y orgánica de hortalizas; se puede conservar a temperatura ambiente, en un lugar seco y fresco por un periodo de tres meses; no tiene acción nociva sobre la salud humana ni riesgo de contaminar el medio ambiente y las aguas subterráneas; no perjudica los organismos beneficiosos del suelo y es compatible con otros microorganismos particularmente con Micorrizas, Rhizobium y hongos atrapadores de nemátodos. **(Hernández, et al., 2008 – CENSA).**

Pochonia chamydosporia (Goddard) Zare y Gams, es un parásito facultativo de huevos de nematodos, el cual ha mostrado ser un agente potencial de control biológico de nematodos formadores de agallas (***Meloidogyne*** spp.), en sistemas de cultivos intensivos de hortalizas. Aislamientos autóctonos de este hongo se obtuvieron en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) y dentro de ellos la cepa IMI SD 187 fue seleccionada por sus mejores cualidades como biorregulador para su producción masiva y formulación de un producto comercial denominado KlamiC. Se ha comprobado, que la efectividad del hongo ***Pochonia chlamydosporia*** aumenta con el tiempo, sobre un segundo ciclo del cultivo susceptible, aumentando su población en el suelo y mejorando paulatinamente su acción biorregulador. **(Hernández. et al., 2008 - CENSA).**

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. MATERIALES

- Raíces de sachu inchi infestadas con nemátodo del nudo *Meloidogyne incognita*.
- Hongo Nematófago *Pochonia chlamydosporia*
- Tierra agrícola y humus.
- Vivero del Instituto de Cultivos Tropicales (I.C.T)

4.2. UBICACIÓN DEL CAMPO EXPERIMENTAL

El presente estudio se realizó en dos fases:

- La fase de laboratorio se realizó en el laboratorio de Entomopatógenos de la Subdirección de Control Biológico del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (**SENASA**), ubicado en el distrito de Ate Vitarte – Lima. Trabajos de una duración de 7 meses desde Abril a Octubre de 2008.
- La fase de campo, se realizó en el vivero del Instituto de Cultivos Tropicales (**I.C.T**), ubicado en el distrito de la Banda de Shilcayo a 3 km. de Tarapoto. Trabajos de una duración de 8 meses desde Noviembre de 2008 a Junio de 2009.

- Ubicación geográfica del vivero

Latitud

Latitud Sur: 6° 30' 7"

Longitud Oeste: 76° 20' 9''

Altitud

374 m.s.n.m.m.

- Datos Climáticos (Año 2009)

Meses	Temperatura (Media)	Precipitación (Total)	Humedad Relativa % (Promedio)
Enero	25.5° C	81.8 mm	70%
Febrero	25.7° C	75.4 mm	65%
Marzo	25.6° C	409.8 mm	89 %
Abril	28.0° C	166.0 mm	75%
Mayo	28.1° C	101.8 mm	70%
Junio	26.0° C	88.6 mm	78%

Fuente: Estación Meteorológica del Instituto de Cultivos Tropicales 2009

4.3. METODOLOGÍA

4.3.1 Diseño experimental

Se utilizó el Diseño de Bloques Completamente al Azar (D.B.C.A) con 7 tratamientos y 8 repeticiones cada uno, se evaluó en dos periodos.

4.3.2 Componentes en estudio

a. Cultivo de Sacha inchi

b. Nemátodo (*Meloidogyne sp.*)

c. Hongo *Pochonia Chlamydosporia Dosis (g.)*

- Con sustrato arroz 10, 20 y 30 g./ kg. de sustrato.

- En suspensión 10, 20 y 30 g./kg. de sustrato.

4.3.3. Tratamientos en estudio

T0 = Testigo, ninguna aplicación, con inoculación de huevos de Nemátodos.

T2 = 10 g de *Pochonia chlamydosporia* con arroz, con inoculación de huevos de Nemátodos.

T2 = 20 g de *Pochonia chlamydosporia* con arroz, con inoculación de huevos de Nemátodos.

T3 = 30 g de *Pochonia chlamydosporia* con arroz, con inoculación de huevos de Nemátodos.

T4 = 10 g de *Pochonia chlamydosporia* en suspensión, con inoculación de huevos de Nemátodos.

T5 = 20 g de *Pochonia chlamydosporia* en suspensión, con inoculación de huevos de Nemátodos.

T6 = 30 g de *Pochonia chlamydosporia* en suspensión, con inoculación de huevos de Nemátodos.

Las dosis, fueron aplicadas antes de la siembra conjuntamente con el humus y la tierra agrícola, ya que lo más recomendable es realizar el control desde el inicio de la plantación para reducir las poblaciones de nemátodos antes de la siembra.

4.3.4. Características del Campo Experimental - Vivero

A. Diseño experimental

Para la fase de campo, el experimento tuvo 7 tratamientos para esto, se prepararon 8 bolsas almacigueras por tratamiento, cada bolsa fue una unidad experimental, haciendo un total de 56 bolsas para todo el ensayo. Para esto se utilizó un DBCA. Debido a que es un trabajo que se realizó en vivero.

4.3.5. Diseño del área Experimental.

T0	T6	T2	T1	T3	T6	T5	T4
T1	T4	T5	T0	T2	T4	T0	T3
T2	T5	T3	T6	T5	T1	T4	T2
T3	T1	T0	T2	T0	T3	T1	T6
T4	T3	T6	T4	T1	T2	T6	T5
T5	T2	T4	T5	T6	T0	T3	T0
T6	T0	T1	T3	T4	T5	T2	T1

4.3.6. FASE DE LABORATORIO:

4.3.6.1. Producción del hongo nematófago

Se aplicó la metodología de producción masiva del laboratorio de Entomopatógenos de la SD-CB del SENASA, de la siguiente manera:

A. Siembra del hongo en placa

Se tomó una cepa de *Pochonia chlamidosporia* y se la sembró en doce placas de Petri, con medio Papa Dextrosa Agar (P.D.A), dichas placas fueron trasladadas y puestas en una cámara de incubación por un periodo de 7 días a 24° C.



Foto 2 y 3: Siembra de la cepa en medio P.D.A

B. Siembra del hongo en medio líquido

Pasados los 7 días, el hongo que creció en la placa de Petri se sembró en medio líquido, para lo cual, se prepararon los matraces de un litro de capacidad con 650 ml. de medio líquido Papa Dextrosa (P.D) y se esterilizaron en un autoclave a 121°C por 15 lb. de presión por 20

minutos, luego fueron trasladados a una cámara de flujo laminar. Una vez fríos se les agregó antibiótico (1 g.), para evitar el desarrollo de bacterias; y se colocaron en cada matraz preparado pequeñas porciones del hongo *Pochonia chlamidosporia* desarrollado en el medio PDA, luego fueron sellados con papel aluminio y cinta parafilm, y se llevaron a incubar en un shaker (Agitador mecánico) por 3 días a 24°C a 160 rpm, con la finalidad de incrementar la biomasa.



Foto 4, 5, 6: Siembra del hongo en medio líquido

C. Preparación del sustrato

El sustrato usado en la producción de este hongo fue arroz, para su preparación se colocan en una bolsa de polipropileno 1 kilo de arroz y se le agrega 500 ml de agua esteril.

- Las bolsas fueron cerradas con grapas y son llevadas a esterilizar en una autoclave a 121°C por 15 libras de presión por un espacio de 35 a 45 minutos.

- Transcurrido el tiempo de esterilizado el arroz es sacado del autoclave y se procedió a soltar el arroz para evitar se formen grumos, luego fue puesto a enfriar.

D. Siembra del hongo al sustrato de arroz

Una vez enfriado el arroz, se procedió a inocularlo con el medio líquido preparado, para esto se enrazó a los matraces a un litro agregando 350 ml. de agua destilada estéril, a cada bolsa de kilo se le agregó 50 ml. de medio líquido por bolsa; esta labor se realizó en una cámara de flujo laminar para evitar se contamine el sustrato.

- Una vez sembrado el hongo sobre el sustrato, se procedió a mover el arroz esto para distribuir mejor el hongo sobre todo el sustrato.

E. Periodo de Incubación

Las bolsas sembradas con el hongo se incubaron por 5 días a 24°C y Humedad relativa \geq 80%.

- En este periodo se observó el crecimiento del hongo sobre el sustrato y si hay o no contaminación por otros agentes (Bacterias, otros hongos) en el sustrato.



Foto 7: Incubación del Hongo

F. Pase a la sala de secado

Transcurrido los 5 días de incubación del hongo, fue llevado a la sala de secado a una temperatura menor a 15° C en la que el sustrato es sacado de las bolsas y puesto sobre unas bandejas, en esta sala se mantiene el hongo hasta su venta.



Foto 8: Producto Final

G. Control de calidad

Este procedimiento se siguió de acuerdo a la metodología del Laboratorio de Entomopatógenos de la SD – CB del SENASA Lima, como sigue:

a. Concentración de conidias

Esta operación se realizó para poder determinar la concentración de conidias del hongo que se encuentran sobre el sustrato de arroz, para determinar esto se procedió:

- Se tomaron varias muestras al azar del sustrato de arroz con hongo, se las colocó en una bolsa hasta tener 100 gramos.
- Se homogenizó la muestra y se tomó de la muestra 1 gramo.



Foto 9: Toma de muestra



Foto 10: Pesado de muestra

- Se colocó el gramo obtenido en una bolsa y se le agregó 10 ml de agua destilada con tween 20 previamente esterilizada, y se procedió a lavar el arroz, esta se conoce como muestra madre.



Foto 11: Lavado del hongo

- De la muestra madre se tomó 1 ml. y se lo colocó en un frasco de vidrio y se le agregó 9 ml de agua destilada con tween 20, de allí fue llevado al vortex, esto para homogeneizar mejor la muestra, este procedimiento se repitió por dos veces más hasta obtener una dilución 10^{-3} .



Foto 12: Toma de 1 ml. de suspensión

- Una vez que se llegó a obtener la dilución deseada, con la ayuda de una pipeta de pasteur se tomó una pequeña muestra y se la colocó sobre dos cámaras

de neubawer, estas muestras se las llevó a un microscopio para comenzar el conteo de conidias.



Foto 13 y 14: Observación de las muestras

- Una vez contadas las conidias que se encontraron en la cámara de neubawer, se procedió a obtener los resultados con la ayuda de la fórmula:

$$\text{Concentración de conidias} = \chi \times 5 \times 10^4 \times \text{ID}$$

Donde:

χ = Promedio del número de conidias contadas

5 = Quinta parte del cuadrante central de la cámara.

10^4 = Factor de la cámara

ID = Inversa de la dilución (10^2)

Resultado obtenido:

$$\chi = 6.27$$

Entonces la concentración de conidias fue la siguiente:

$$\square \text{ de conidias} = 6.27 \times 5 \times 10^4 \times 10^2$$

$$= 31.35 \times 10^6$$

$$= 3.13 \times 10^7 \text{ com/ ml}$$

Por lo tanto en 1 gramo de *Pochonia chlamidosporia* hay:

$$= 3.13 \times 10^8 \text{ UFC / gramo.}$$

En el experimento se realizó el mismo procedimiento para determinar lá concentración de conidias siendo los datos obtenidos los siguientes:

T1 (10 gramos / kilo de sustrato): 0.01 g. de *Pochonia* / g de sustrato

T2 (20 gramos / kilo de sustrato): 0.02 g. de *Pochonia* / g de sustrato

T3 (30 gramos / kilo de sustrato): 0.03 g. de *Pochonia* / g de sustrato

T4 (10 gramos de *Pochonia* en suspensión de 70 ml de água com twen 20 / kilo de sustrato) *

T5 (20 gramos de *Pochonia* en suspensión de 70 ml de agua com twen 20 / kilo de sustrato) *

T6 (30 gramos de Pochonia en suspensión de 70 ml de agua con twen 20 / kilo de sustrato) *

* Se realizó por separado el conteo de conidias, obteniéndose las siguientes concentraciones

10 gramos en suspensión = $3,9 \times 10^8$ UFC / ml.

20 gramos en suspensión = $4,5 \times 10^8$ UFC / ml.

30 gramos en suspensión = $5,2 \times 10^8$ UFC / ml.

b. Porcentaje de germinación

- Se tomaron varias muestras al azar del sustrato de arroz con hongo, se las colocó en una bolsa hasta tener 100 gramos.
- Se homogenizó la muestra y se tomó de la muestra 1 gramo.
- Se colocó el gramo obtenido en una bolsa y se le agregó 10 ml de agua destilada con tween 20 previamente esterilizada, y se procedió a lavar el arroz.
- En una placa de Petri con P.D.A (papa dextrosa agar), se colocaron tres gotas de la preparación anterior, esta operación se realiza en una cámara de flujo laminar para que no se contamine el medio de cultivo y se lleva la placa petri a la cámara de incubación por 24 horas.

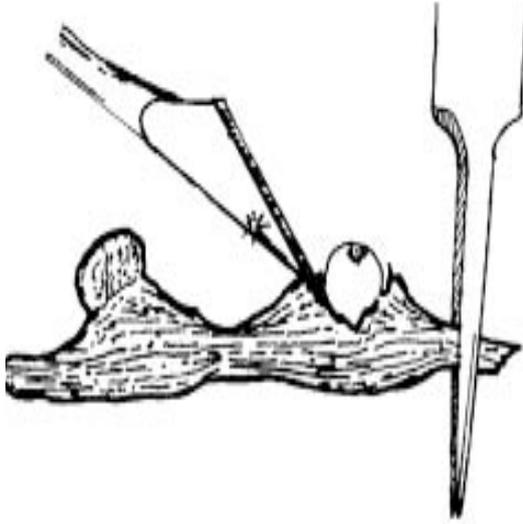
- Transcurrido el tiempo, se saca la placa petri en donde ha germinado el hongo y con la ayuda de un bisturí se corta un cuadrado de 1 cm², esta muestra es puesta sobre una lámina porta objetos, se le agrega una gota de azul de lactofenol y se por ultimo se le coloca una lamina cubre objetos.
- Esto es llevado a un microscopio para facilitar su observación y conteo; para esto se toman 5 campos visuales y se cuentan el número de conidias germinadas y no germinadas para obtener resultados con la aplicación de la siguiente formula:

$$\% \text{ de Germinación} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de Conidias Germinadas}}{\text{N}^\circ \text{ de germinadas} + \text{N}^\circ \text{ no germinadas}} \times 100$$

4.3.6.2. Identificación de *Meloidogyne sp.* mediante cortes perineales

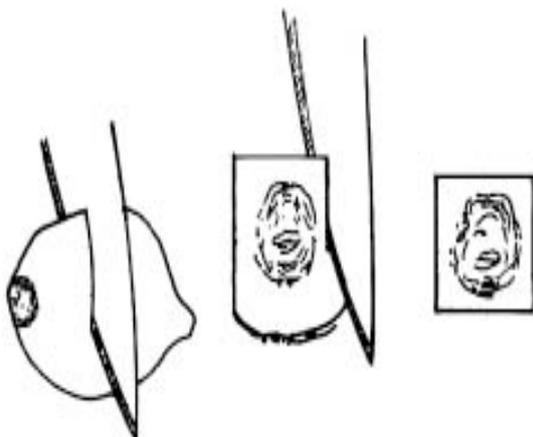
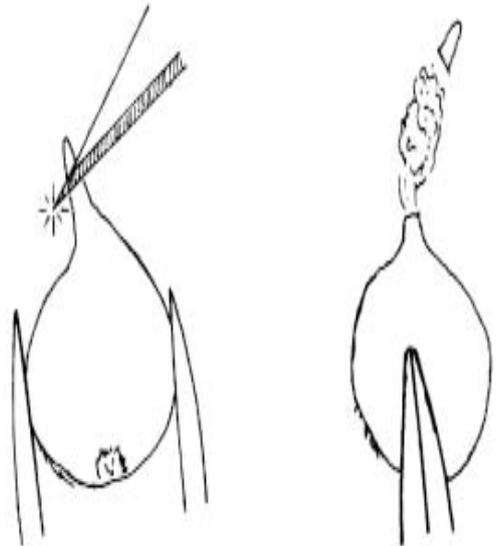
- Se utilizaron raíces de Sacha Inchi infestadas por *Meloidogyne sp.*, de las cuales se extrajeron la mayor cantidad de hembras que se pudieran encontrar en los nódulos de las raíces, se utilizó un bisturí, pinzas y un estereoscopio para facilitar la labor.
- Las hembras que iban siendo encontradas eran puestas en una placa de Petri con un poco de agua.

- Con la ayuda del estereoscopio se tomaba a una hembra y con el bisturí se procedió a cortarle la cabeza, después se le cortaba el cuerpo por la mitad, quedándonos con la parte posterior del cuerpo.
- A la parte posterior del cuerpo se realizó 4 cortes (uno por cada lado) hasta formar un cuadrado.
- Este tejido que obtenemos se tomó con mucho cuidado con la ayuda de un pincel fino y se colocó sobre una gota de ácido láctico por espacio de 1 minuto, esto para limpiar el tejido.
- Posteriormente este tejido fue llevado a una lámina porta objetos a la que previamente se le colocó una gota de azul de lactofenol y con mucho cuidado se le coloca una lámina cubre objetos y se llevó al microscopio para su observación e identificación.



1). Remoción de una hembra enquistada en pedazo de raíz.

2). Ruptura del cuerpo de la hembra y extracción cuidadosa de los órganos internos.



3). Corte de la cutícula alrededor del modelo perineal.

GRÁFICO N° 1: Proceso de Corte Perineal

4.3.7. FASE DE VIVERO

4.3.7.1 Instalación del Experimento

A. Esterilizado de la tierra agrícola y humus

Se colocó en bolsas de polipropileno la tierra agrícola y el humus, luego fueron selladas.

Luego se las colocó en un autoclave para ser esterilizadas a 120 °C x 15 lb de presión por espacio de 1 hora.

B. Aplicación del hongo nematófago al sustrato

- MÉTODO 1 (Con sustrato arroz)

Una vez esterilizado la tierra y el humus, se preparó un sustrato de 2 de tierra por 1 de humus (2:1).

En dicho sustrato se incorporó el agente de control biológico (*Pochonia chlamidosporia*), según las dosis a usar por tratamiento.



Foto 15: Pesado del agente biológico

Después de incorporado el agente de biocontrolador al suelo se procedió a homogenizarlo con el sustrato de manera que quede bien distribuido en el sustrato, luego se procedió al llenado de las bolsas en donde se sembraron las semillas de sachá Inchi.



Foto 16: Aplicación del hongo al sustrato



Foto 17: Incorporación del hongo al sustrato.

- MÉTODO 2 (En suspensión)

Se tomaron las dosis a trabajar (10, 20, 30 g / kg. de sustrato) y se procedió a lavar el arroz con el agente biológico en 70 ml de agua destilada estéril con 1 microlitro de twen 20, esto para favorecer la dispersión de conidias que se encontraban en el sustrato arroz.

Una vez lavado el arroz se procedió a ser colado para solamente obtener la dilución respectiva.



Foto 18: Obtención de la suspensión

Para la aplicación en el sustrato de la dilución se procedió primero a homogenizar la muestra, esto para que exista una distribución homogénea de conidias en la suspensión, una vez hecho esto y con la ayuda de una probeta graduada se tomó 70 ml de la suspensión para ser incorporados en el sustrato.



Foto 19: Medición de la suspensión

Dicha solución fue incorporada al sustrato, para esto primero el sustrato fue puesto en una bolsa de polipropileno para homogenizar el sustrato con la dilución, para luego ser colocado en la bolsa almaciguera.



Foto 20: Dosificación al sustrato suelo



Foto 21: Homogenizado del agente
biológico en el sustrato



Foto 22: Llenado de la bolsa almaciguera
con el sustrato

C. Obtención de masas de huevos de *Meloidogyne*

incognita

La obtención de las masas de huevos de *Meloidogyne incognita* se las obtuvo de las plantaciones de Sacha Inchi de los campos del Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana (IIAP). Se tomaron las raicillas de las plantas que mostraban nodulación y daño del nemátodo.

Se lavaron las raicillas obtenidas con mucho cuidado, después se las puso sobre papel toalla para su secado.



Foto 23: Lavado y secado de las raíces noduladas

Una vez secas se procedió a cortar las raicillas a un tamaño de 2 cm. Para después comenzar a procesarlas, para esto se les agregó hipoclorito de sodio (Lejía) a una concentración del 0.05%, después se pusieron en una licuadora para ser batidas, dicho proceso se repitió dos veces por espacio de 5 segundos cada uno.



Foto 24: Cortado de las raíces



Foto 25: Licuado de las raíces

Después de ser licuadas las raíces fueron enjuagadas con agua en tamices de 40, 325 y 400 mesh respectivamente, esto para capturar los huevos de nemátodos en el licuado de las raíces.



Foto 26 y 27: Colado de las raíces procesadas

Lo que se obtuvo del tamiz de 400 mesh fue recuperado con la ayuda de una pizeta y puesto sobre un vaso de

precipitado graduado. Esta operación se repitió hasta obtener la cantidad de huevos necesaria.

Después que se procesaron todas la raíces, se procedió al conteo de los huevos obtenidos, para esto se tomaron 2 ml del volumen total, previamente homogenizado, y con la ayuda de un microscopio y un contómetro se procedió a realizar dicha operación; del número encontrado en los 2 ml se extrapoló para obtener la cantidad de huevos en el volumen total.



Foto 28: Huevo viable

D. Inoculación de las plantas de Sacha Inchi con los Huevos de *Meloidogyne incognita*

Después de obtenida la alícuota con la cantidad de huevos necesarios de nemátodos y el número de ellos por ml.



Foto 29: Obtención de la alícuota.

Se procedió a inocular las plantas de sachá inchi, este procedimiento se realizó con la ayuda de un pipeta graduada. La inoculación fue dirigida, y se inocularon 400 huevos/ 100 cc de suelo.



Foto 30 y 31: Inoculación de huevos a las plántulas

4.3.8. Parámetros a Evaluar

A. Altura de planta

- Se midió la altura de cada una de las plantas de cada tratamiento, tomándose las medidas desde el cuello de la planta hasta el ápice de la misma. Realizando dos evaluaciones, la

primera a los 25 días de inoculado el agente biológico y la segunda a los 40 días.



Foto 32: Altura de Planta

B. Número de nódulos

- Esta evaluación consistió en contar el número de nódulos presentes en cada una de las raíces de las plantas de cada uno de los tratamientos, dicha observación se hizo a simple vista. Realizando dos evaluaciones, la primera a los 25 días de inoculado el agente biológico y la segunda a los 40 días.



Foto 33: Índice de nodulación

C. Peso radicular

- Se tomó el peso de las raíces de cada una de las plantas, dicha evaluación se hizo con la ayuda de una balanza analítica. Realizando dos evaluaciones, la primera a los 25 días de inoculado el agente biológico y la segunda a los 40 días.



Foto 34: Peso radicular

D. Población de nemátodos por 100 cc de suelo

- Para determinar la población de nemátodos, se utilizó el método de la bandeja modificado, para lo cual se usó 100 cc de suelo de cada de uno de los tratamientos en donde se inoculó los nemátodos, siendo este suelo colocado en una bandeja sobre un papel toalla para después agregarle agua hasta cubrir el suelo, estas bandejas se las dejó por un periodo de 48 horas. Realizando dos evaluaciones, la primera a los 25 días de inoculado el agente biológico y la segunda a los 40 días.



Foto 35: Instalación de las bandejas

- Pasado las 48 horas se tomó el agua que quedó en la bandeja y se procedió a colarlas en el tamiz 400 mesh respectivamente.



Foto 36: Colado de las bandejas

- Los restos que se quedaron en el tamiz de 400 mesh fueron recuperados con la ayuda de una pizeta y puestos en un vaso de precipitado (20 ml aproximadamente), de esta solución se tomó 2 ml y con la ayuda del microscopio se contaron el número de nematodos tanto del género *Meloidogyne incognita* como de *Rhabditida sp.*



Foto 37: Extracción de los
nematodos



Foto 38: Observación de los
nematodos

- Para determinar el número de nemátodos por 100 cc el resultado obtenido anteriormente es multiplicado por 6,7.



Foto 39: Conteo de nemátodos

E. Longitud radicular y área radicular

- Para determinar la longitud y área radicular de las plantas, al momento de las evaluaciones se les tomaba foto a las raíces y se las llevaba a un programa de computadora llamado "ASSES, Image Analisis software for plant disease quantification"; el cual nos daba la longitud y el área de las raíces.



Foto 40: Medición del Área y
Longitud radicular

V. RESULTADOS

5.1 MODELOS PERINEALES OBTENIDOS

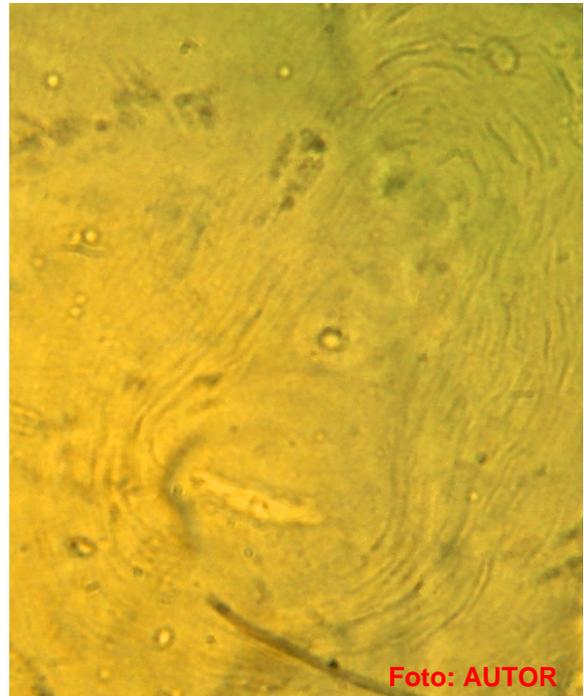
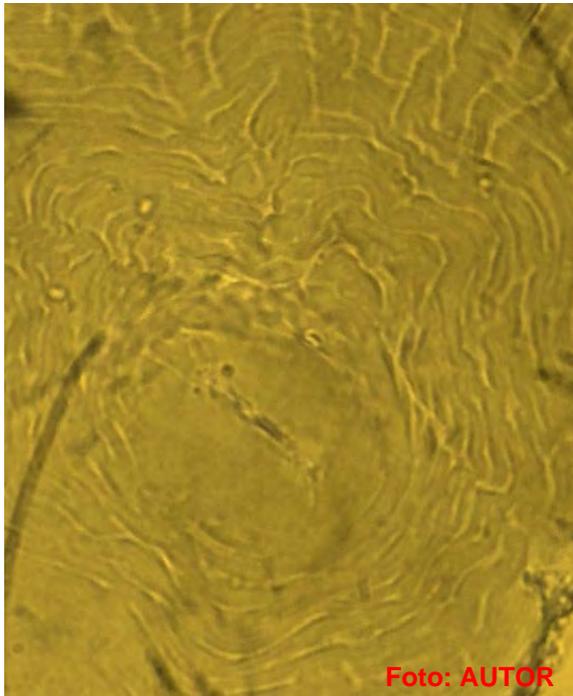
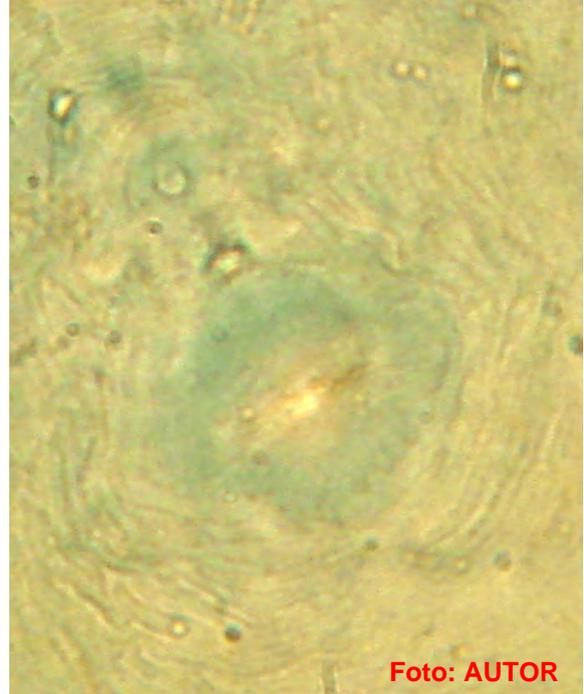
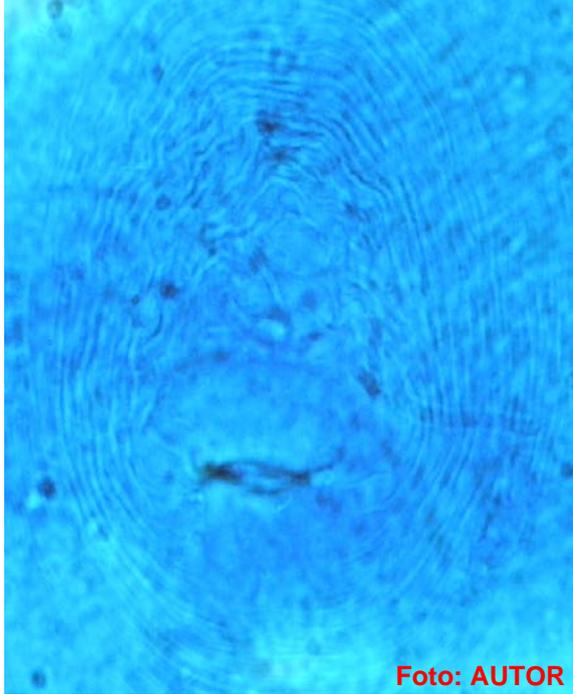


Foto N° 41, 42, 43, 44: Modelos Perineales obtenidos en el Laboratorio

5.2. PRIMERA EVALUACIÓN (25 días después de la inoculación)

5.2.1. PESO RADICULAR.

CUADRO 4: Análisis de varianza para peso radicular

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	0,07	0,023	2,83	0,07 N.S
Tratamientos	6	3,03	0,505	61,46	0,0001 **
Error	18	0,15	0,01		
Total	27	3,25			

** Altamente significativo

$R^2 = 95 \%$

C.V = 6,2

CME = 0,09

$\bar{x} = 1,46$

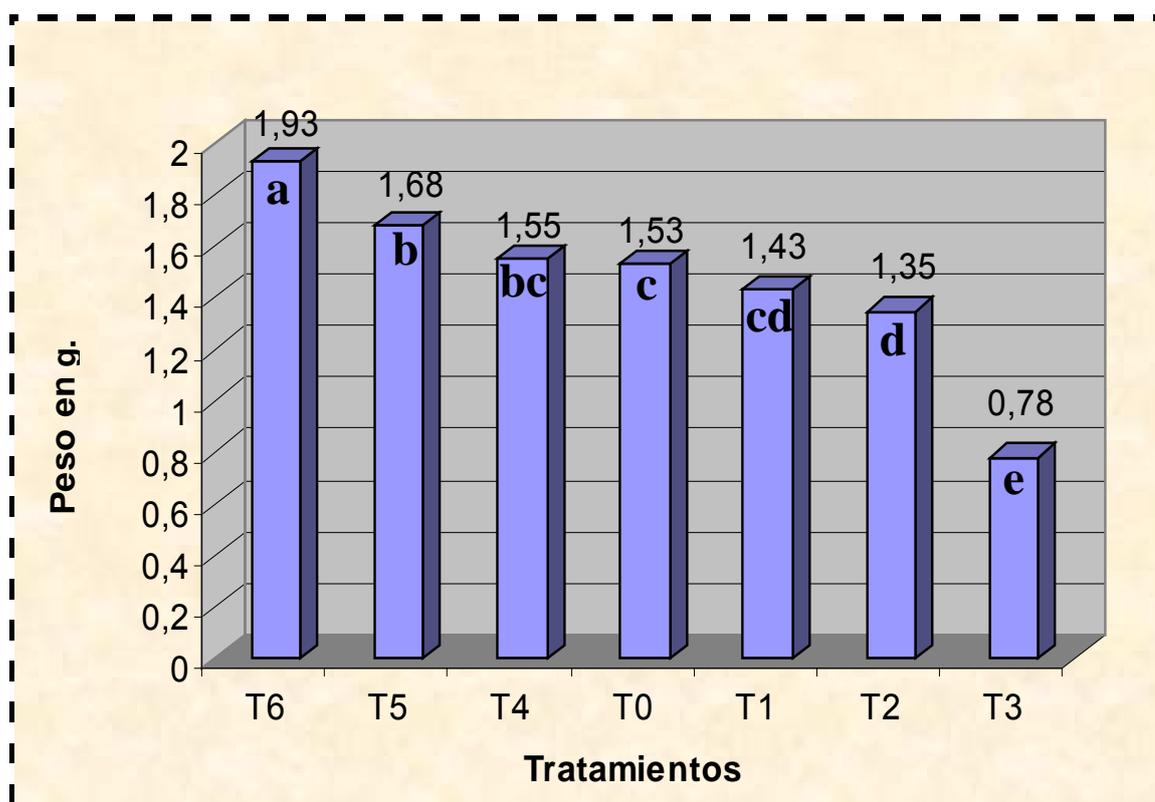


GRÁFICO 2: Prueba Duncan para peso radicular

5.2.2. ALTURA DE PLANTA.

CUADRO 5: Análisis de varianza para altura de planta

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	4,74	1,58	2,14	0,13 N.S
Tratamientos	6	396,6	66,11	89,33	0,0001 **
Error	18	13,32	0,74		
Total	27	414,74			

** Altamente significativo

$R^2 = 96 \%$

C.V = 3,25

CME = 0,86

$\bar{x} = 26,48$

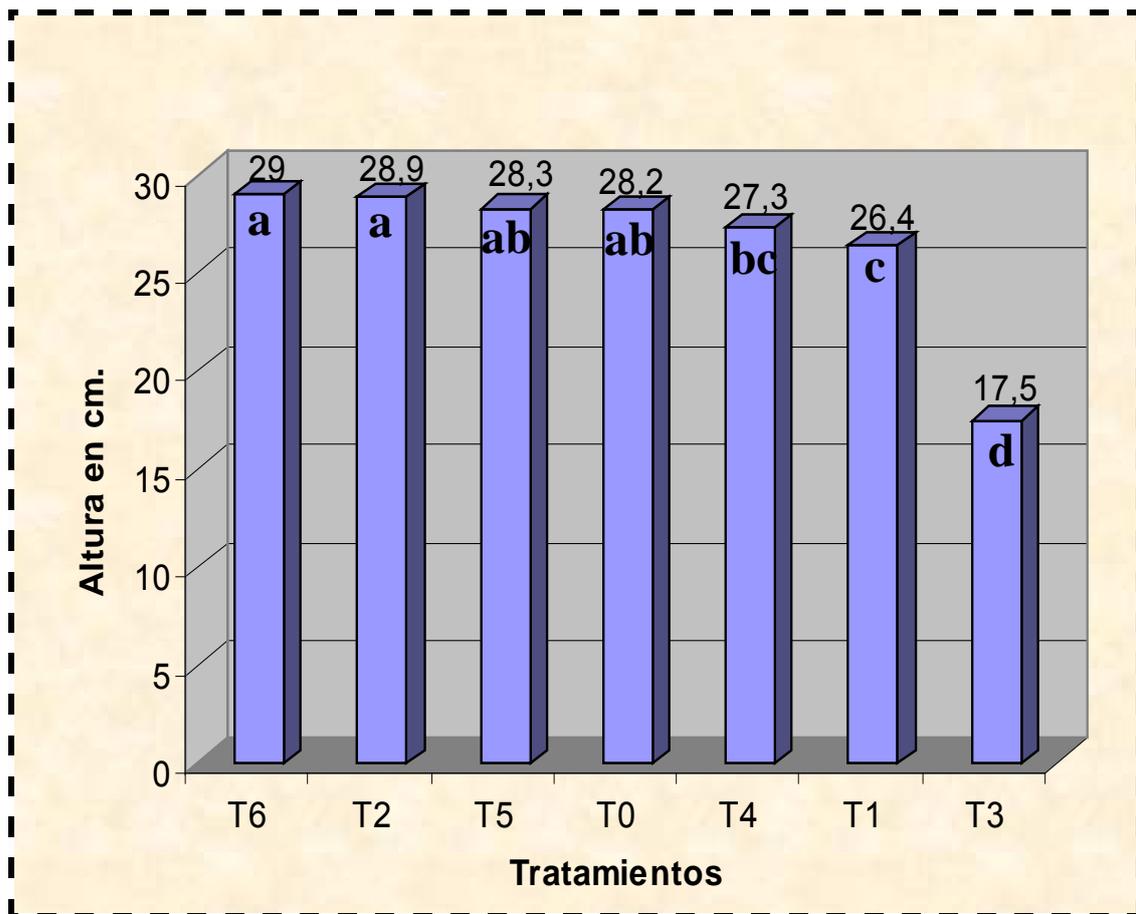


GRÁFICO 3: Prueba Duncan para altura de planta

5.2.3. ÍNDICE DE NODULACIÓN.

CUADRO 6: Análisis de varianza para índice de nodulación

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	3,71	1,24	2,40	0,10 N.S
Tratamientos	6	5815,86	969,3	1878,97	0,0001 **
Error	18	9,29	0,52		
Total	27	5828,86			

** Altamente significativo

$$R^2 = 98 \%$$

$$C.V = 2,21$$

$$CME = 0,72$$

$$\bar{x} = 35,57$$

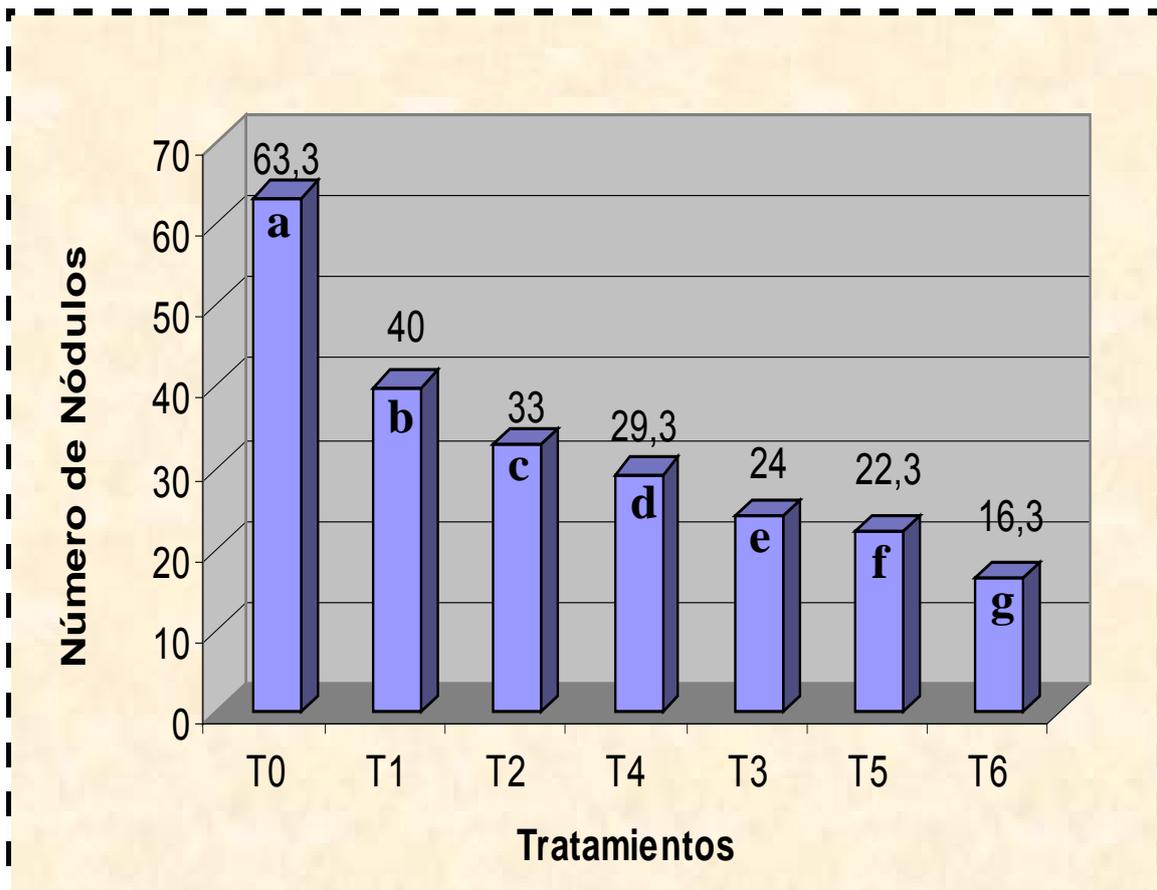


GRÁFICO 4: Prueba Duncan para índice de nodulación

5.2.4. LONGITUD RADICULAR.

CUADRO 7: Análisis de varianza para longitud radicular

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	3,67	1,22	0,91	0,45 N.S
Tratamientos	6	130247,4	21707,9	16173,2	0,0001 **
Error	18	24,16	1,34		
Total	27	130275,2			

** Altamente significativo

$$R^2 = 98 \%$$

$$C.V = 0,42$$

$$CME = 1,16$$

$$\bar{X} = 270,98$$

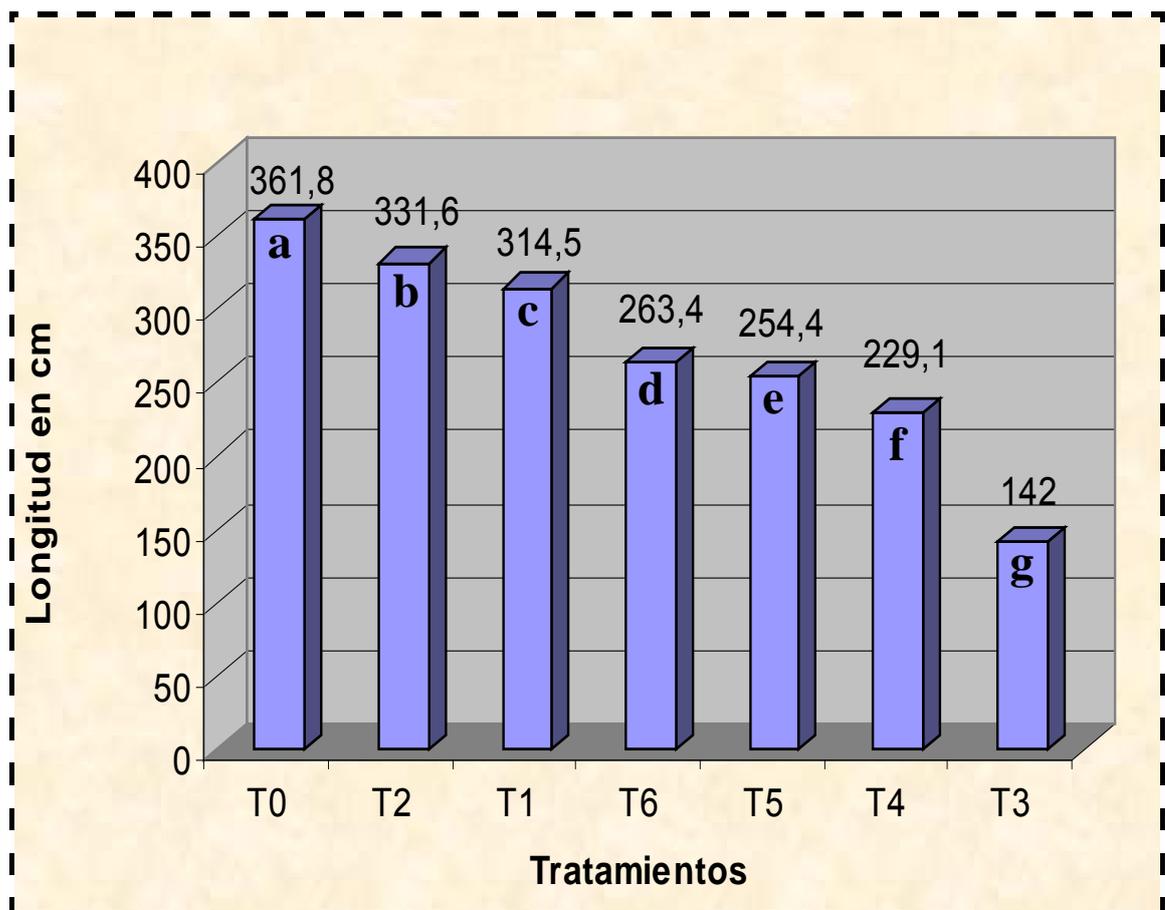


GRÁFICO 5: Prueba Duncan para longitud radicular

5.2.5. ÁREA RADICULAR.

CUADRO 8: Análisis de varianza para área radicular

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	0,29	0,097	0,51	0,68 N.S
Tratamientos	6	1708,7	284,78	1506	0,0001 **
Error	18	3,40	0,19		
Total	27	1712,4			

** Altamente significativo

$$R^2 = 98 \%$$

$$C.V = 1,68$$

$$CME = 0,43$$

$$\bar{x} = 25,94$$

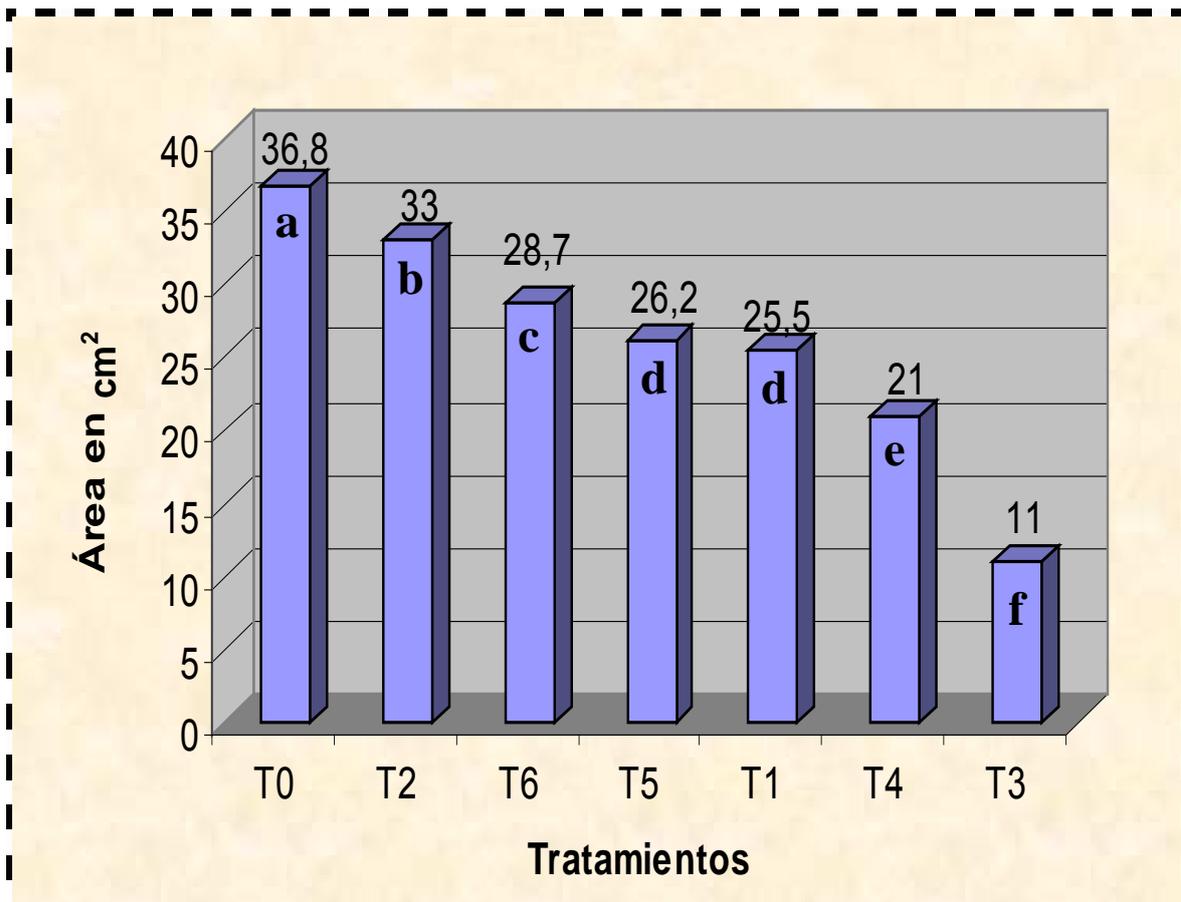


GRÁFICO 6: Prueba Duncan para área radicular

5.2.6. POBLACIÓN DE *Rhabditido sp.*

CUADRO 9: Análisis de varianza para población *Rhabditido sp.*

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	28,57	9,52	0,99	0,42 N.S
Tratamientos	6	62847618,8	10474603,1	99999,9	0,0001 **
Error	18	173,43	9,64		
Total	27	62847820,9			

** Altamente significativo

$$R^2 = 98 \%$$

$$C.V = 0,25$$

$$CME = 3,10$$

$$\bar{X} = 1235,6$$

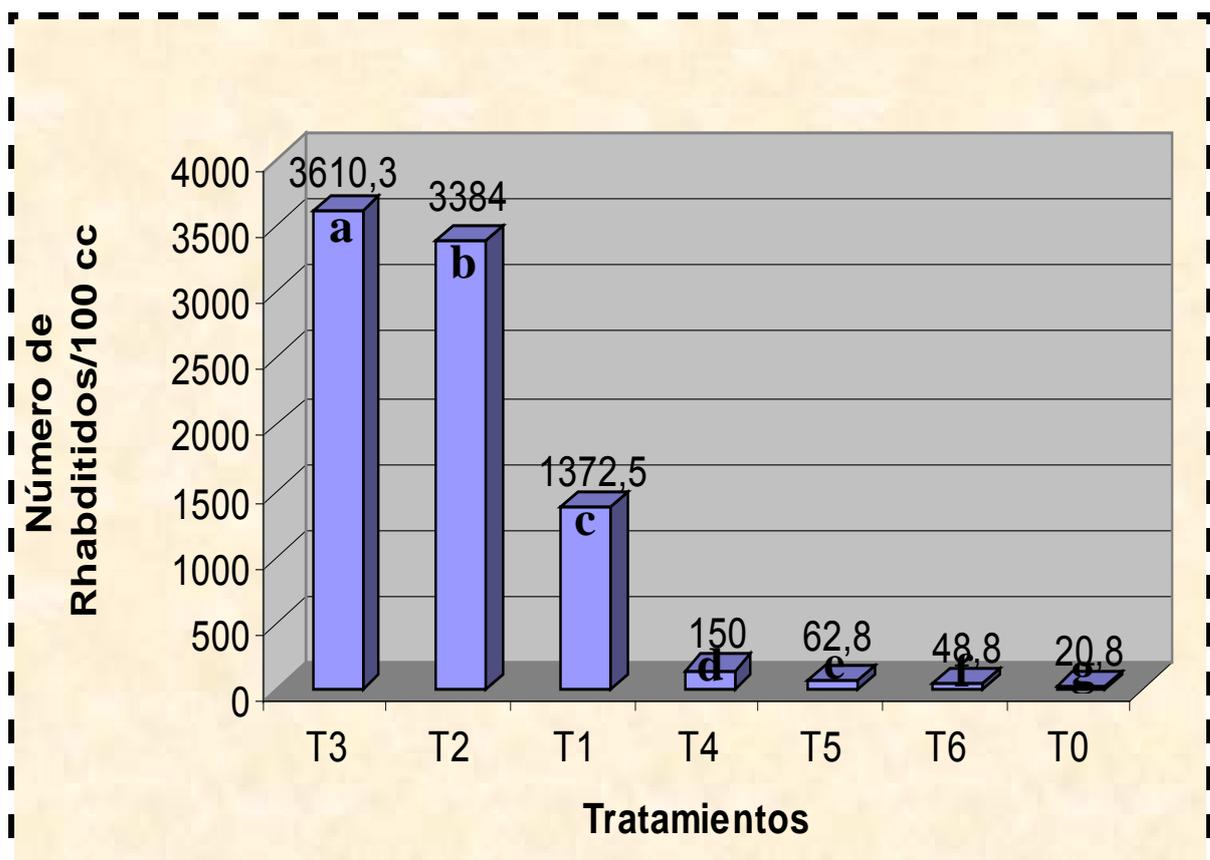


GRÁFICO 7: Prueba Duncan para población de rhabditidos

5.3. SEGUNDA EVALUACIÓN (40 días después de la inoculación)

5.3.1. PESO RADICULAR.

CUADRO 10: Análisis de varianza para peso radicular

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	0,01	0,004	0,30	0,83 N.S
Tratamientos	6	12,12	2,02	145,49	0,0001 **
Error	18	0,25	0,01		
Total	27	12,39			

** Altamente significativo

$R^2 = 97 \%$

C.V = 4,46

CME = 0,12

$\bar{X} = 2,63$

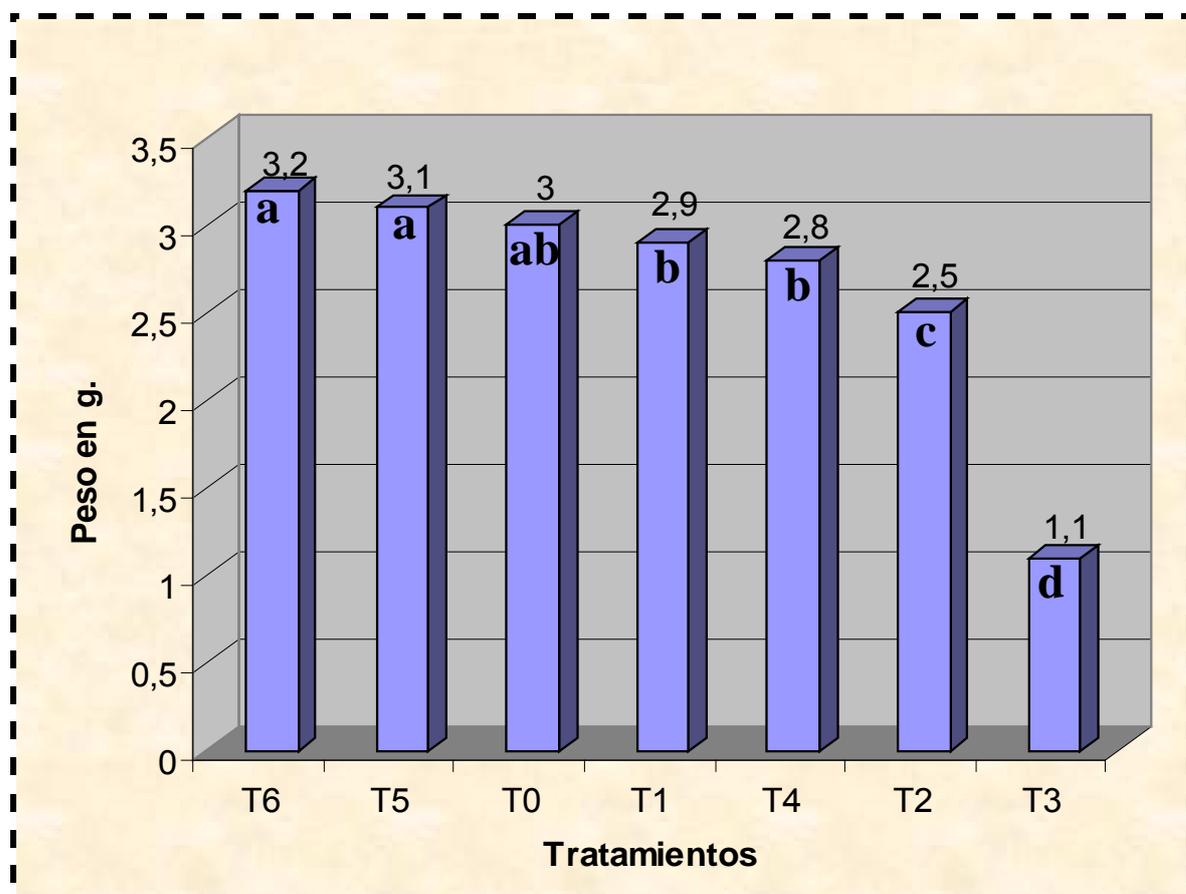


GRÁFICO 8: Prueba Duncan para peso radicular

5.3.2. ALTURA DE PLANTA.

CUADRO 11: Análisis de varianza para altura de planta

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	0,93	0,31	0,34	0,80 N.S
Tratamientos	6	3019,98	503,33	550,88	0,0001 **
Error	18	16,45	0,91		
Total	27	3037,36			

** Altamente significativo

$R^2 = 98 \%$

C.V = 2,18

CME = 0,96

$\bar{X} = 43,93$

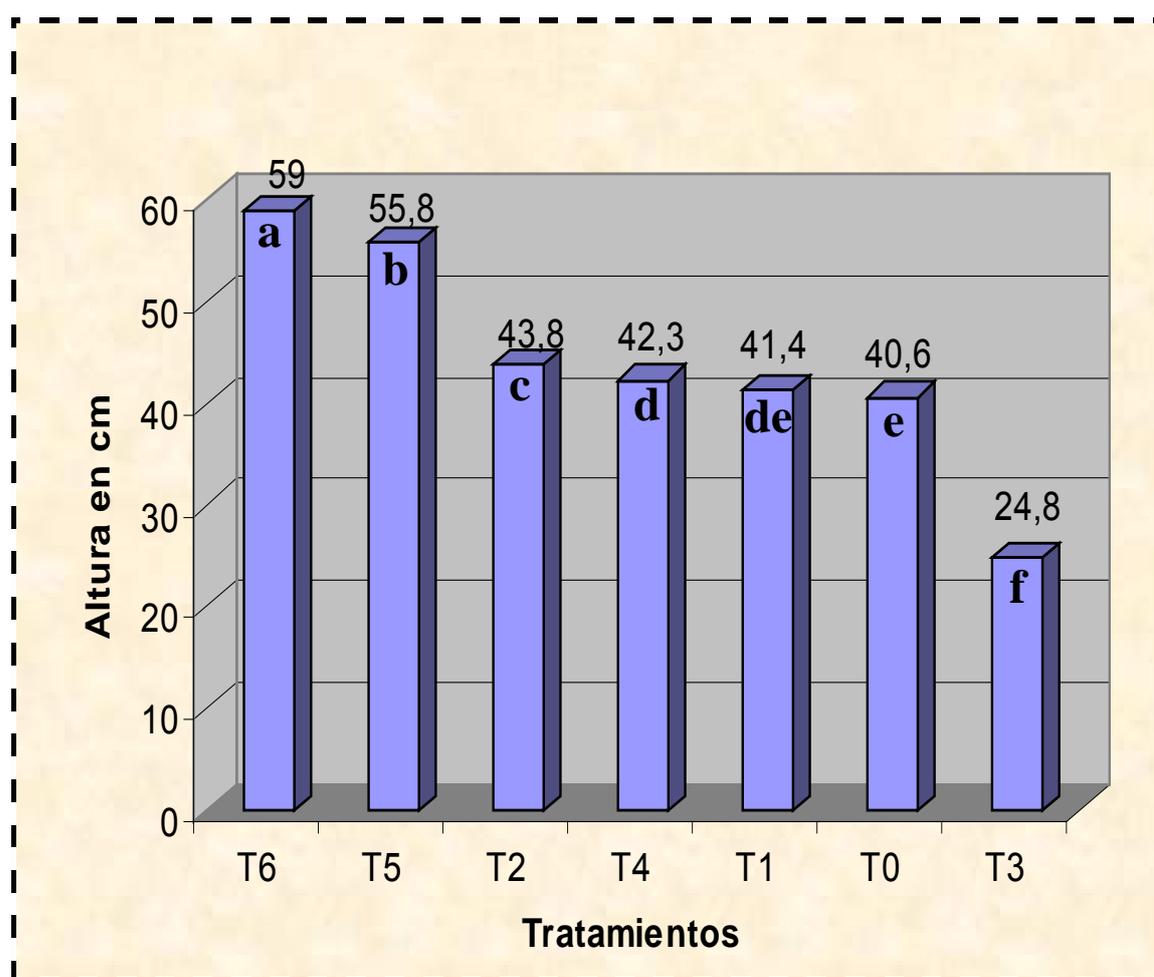


GRÁFICO 9: Prueba Duncan para altura de planta

5.3.3. ÍNDICE DE NODULACIÓN.

CUADRO 12: Análisis de varianza para índice de nodulación

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	0,14	0,38	0,24	0,87 N.S
Tratamientos	6	22933,4	3822,2	2426,20	0,0001 **
Error	18	28,36	1,58		
Total	27	22962,9			

** Altamente significativo

$$R^2 = 98 \%$$

$$C.V = 3,87$$

$$CME = 1,26$$

$$\bar{X} = 32,43$$

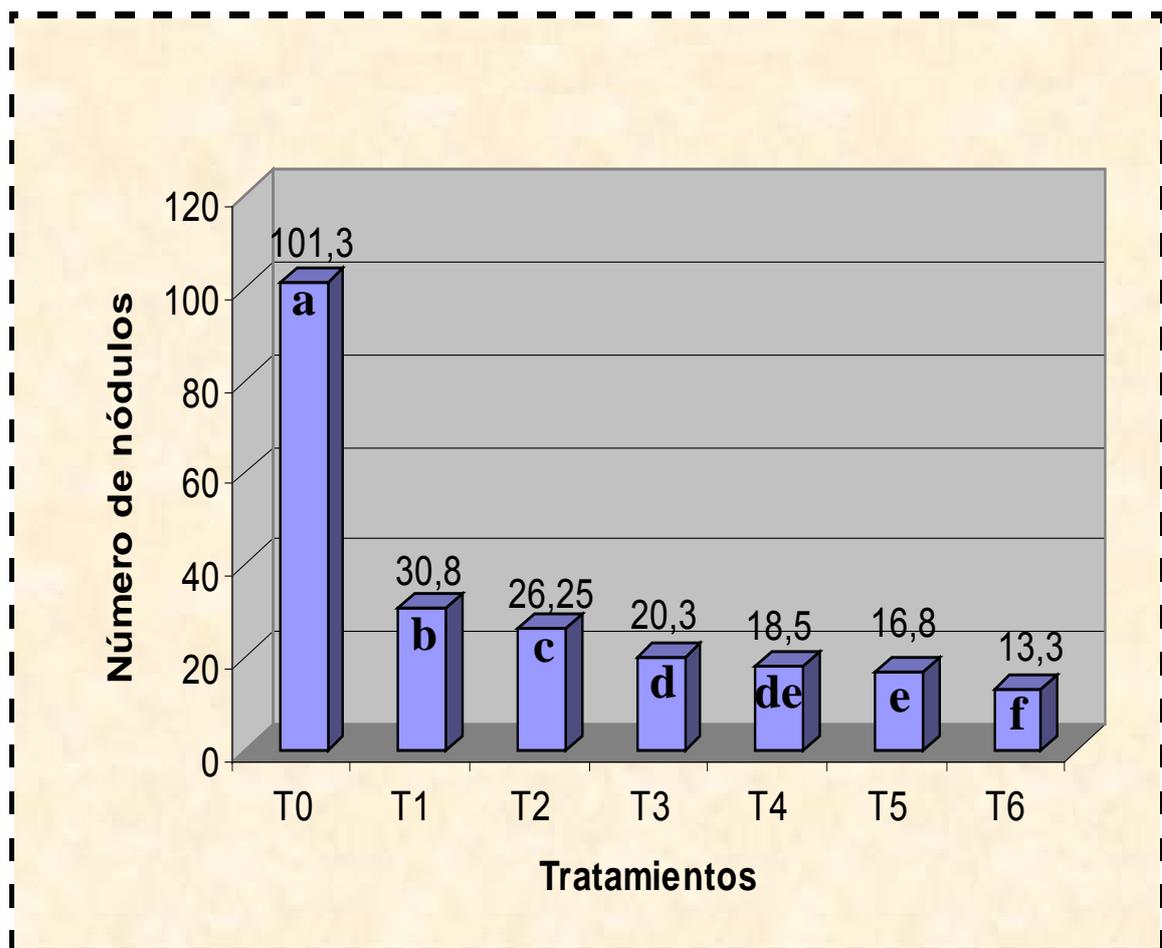


GRÁFICO 10: Prueba Duncan para índice de nodulación

5.3.4. LONGITUD RADICULAR.

CUADRO 13: Análisis de varianza para longitud radicular

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	0,90	0,30	0,29	0,84 N.S
Tratamientos	6	287034,6	47839,1	45433,87	0,0001 **
Error	18	18,95	1,05		
Total	27	287054,5			

** Altamente significativo

$R^2 = 98 \%$

C.V = 0,34

CME = 1,03

$\bar{X} = 297,84$

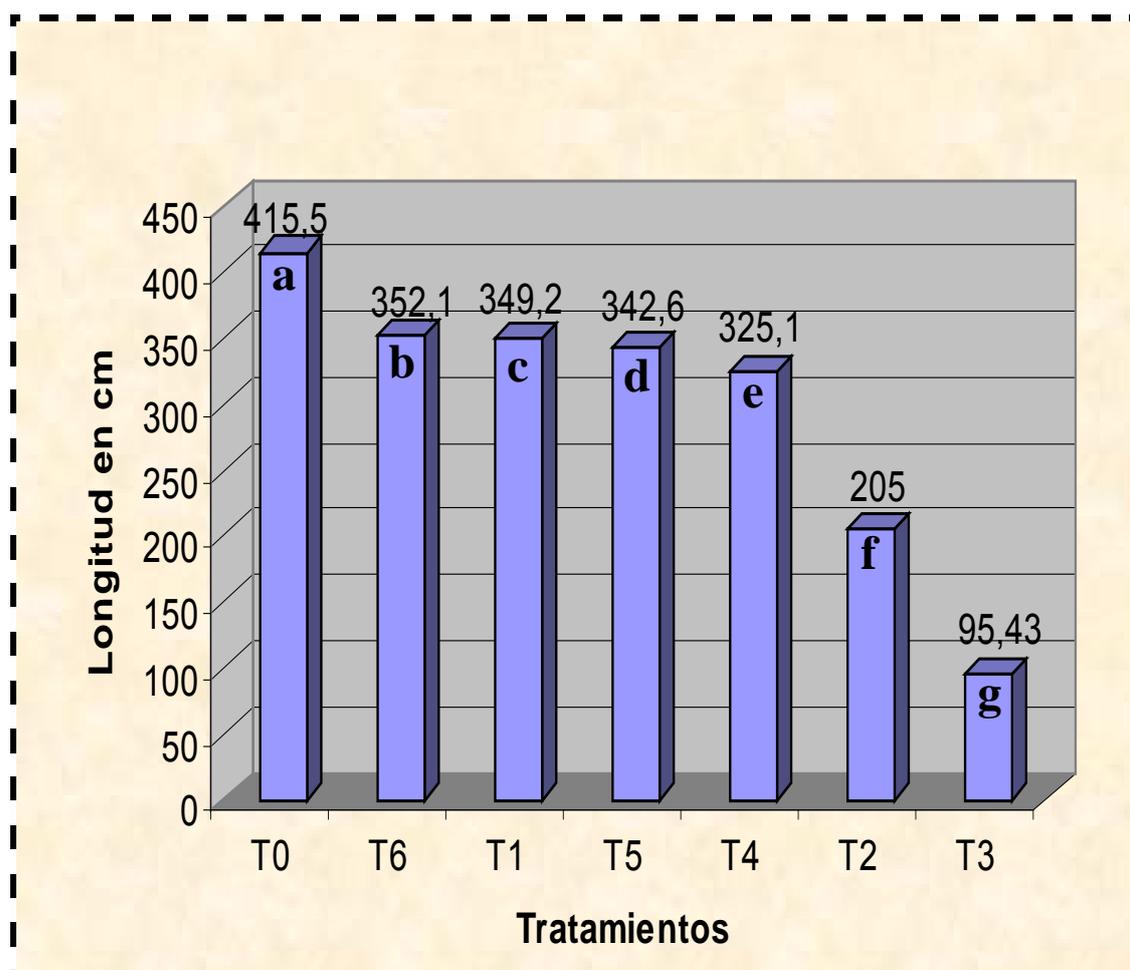


GRÁFICO 11: Prueba Duncan para longitud radicular

5.3.5. ÁREA RADICULAR.

CUADRO 14: Análisis de Varianza para Área Radicular

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	0,35	0,12	0,13	0,94 N.S
Tratamientos	6	6011,2	1001,9	1125,6	0,0001 **
Error	18	16,02	0,89		
Total	27	6027,6			

** Altamente significativo

$$R^2 = 98 \%$$

$$C.V = 1,99$$

$$CME = 0,94$$

$$\bar{X} = 47,38$$

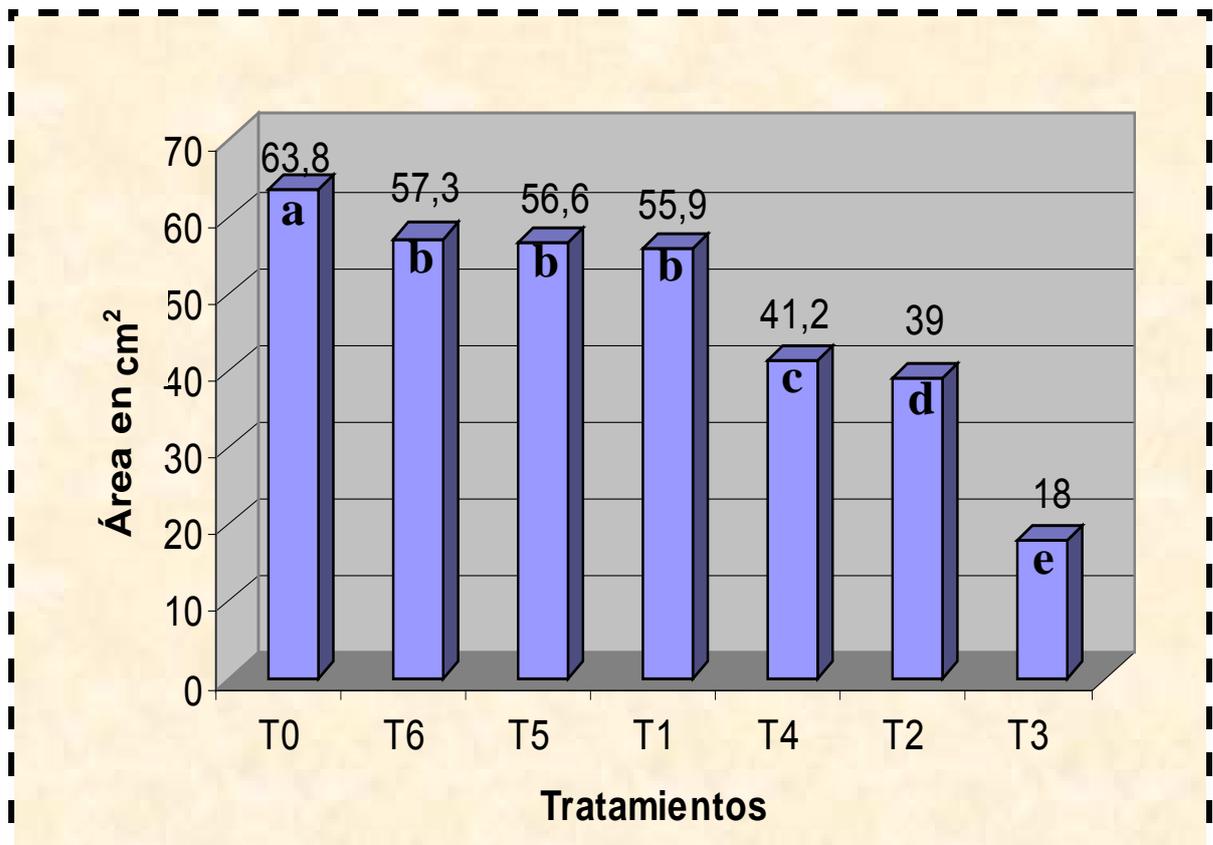


GRÁFICO 12: Prueba Duncan para área radicular

5.3.6. POBLACIÓN DE *Rhabditido sp.*

CUADRO 15: Análisis de Varianza para Población *Rhabditido sp.*

FV	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T
Bloques	3	12,29	4,09	4,16	0,02 N.S
Tratamientos	6	2026703,4	337783,9	99999,9	0,0001 **
Error	18	17,71	0,98		
Total	27	2026733,4			

** Altamente significativo

$$R^2 = 98 \%$$

$$C.V = 0,37$$

$$CME = 0,99$$

$$\bar{X} = 267,86$$

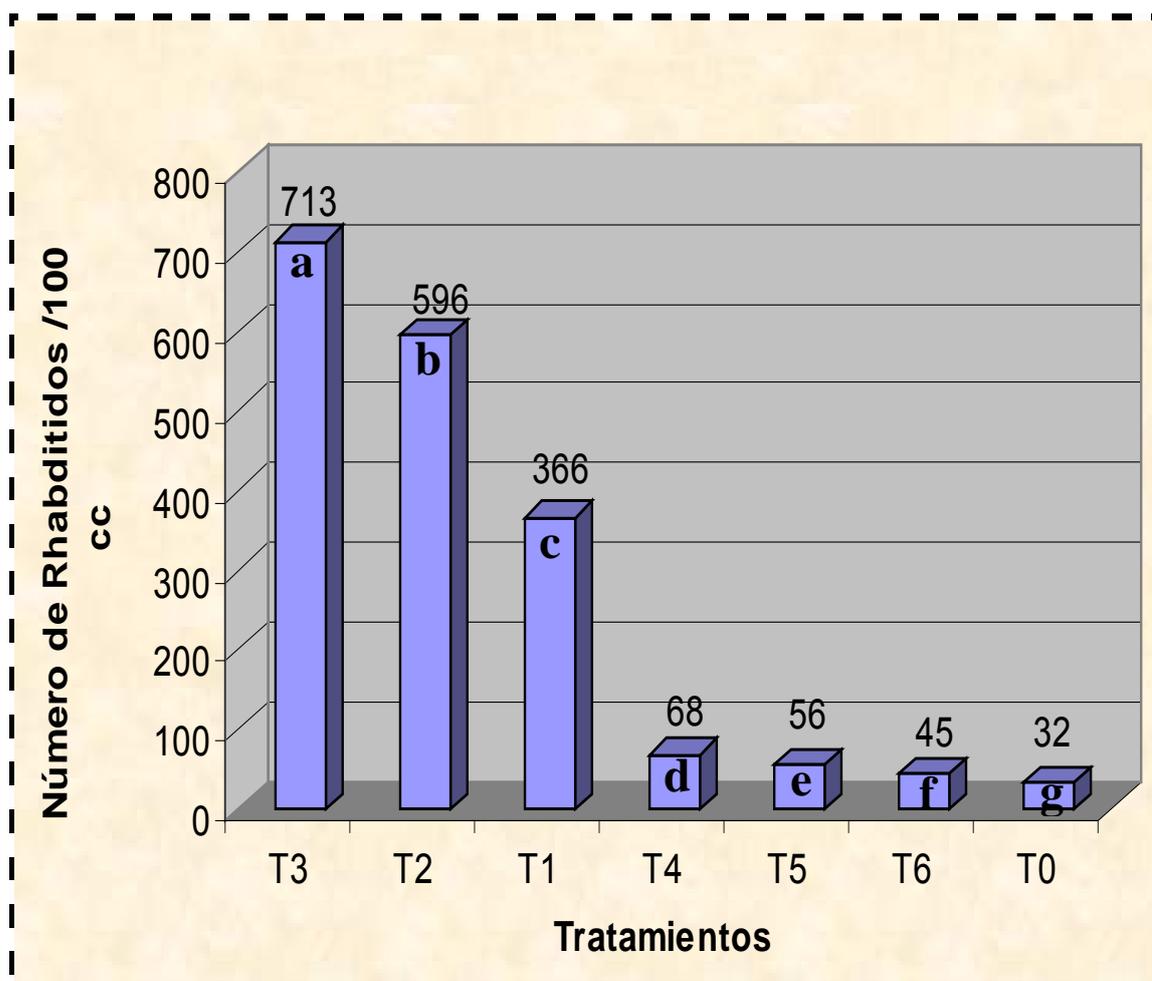


GRÁFICO 13: Prueba Duncan para población de *Rhabditido sp.*

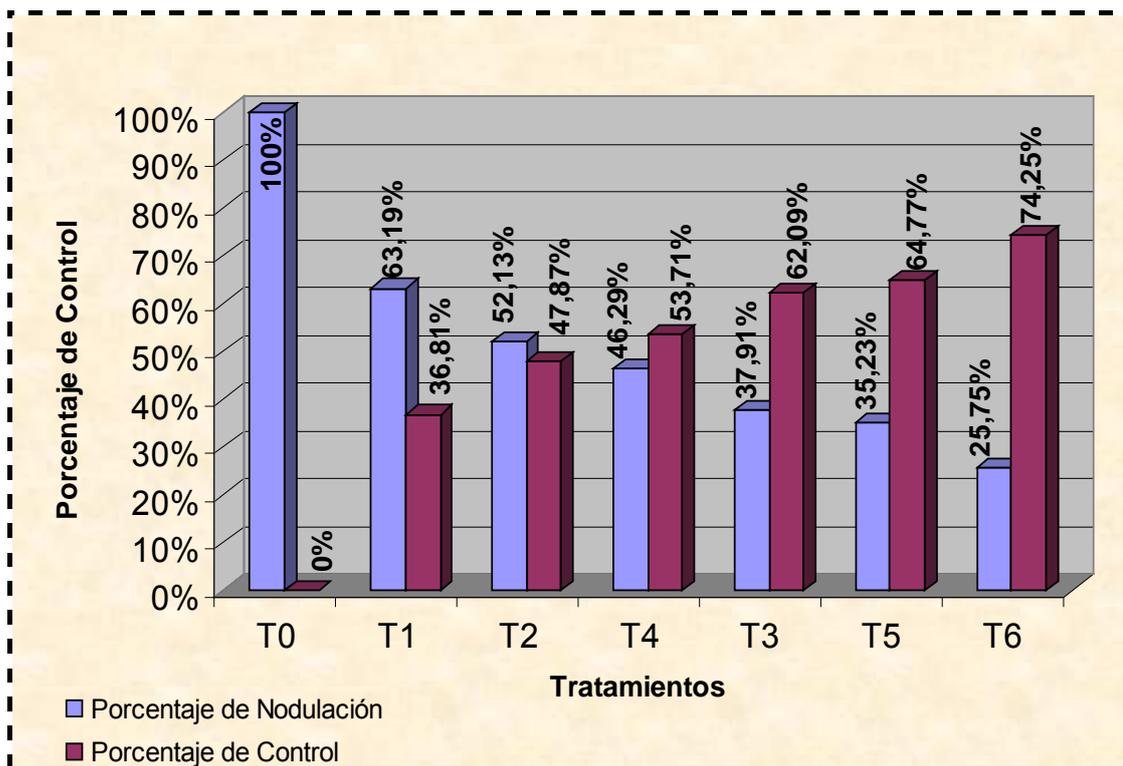


GRÁFICO 14: Porcentaje de control *P. chlamydosporia* – Primera Evaluación

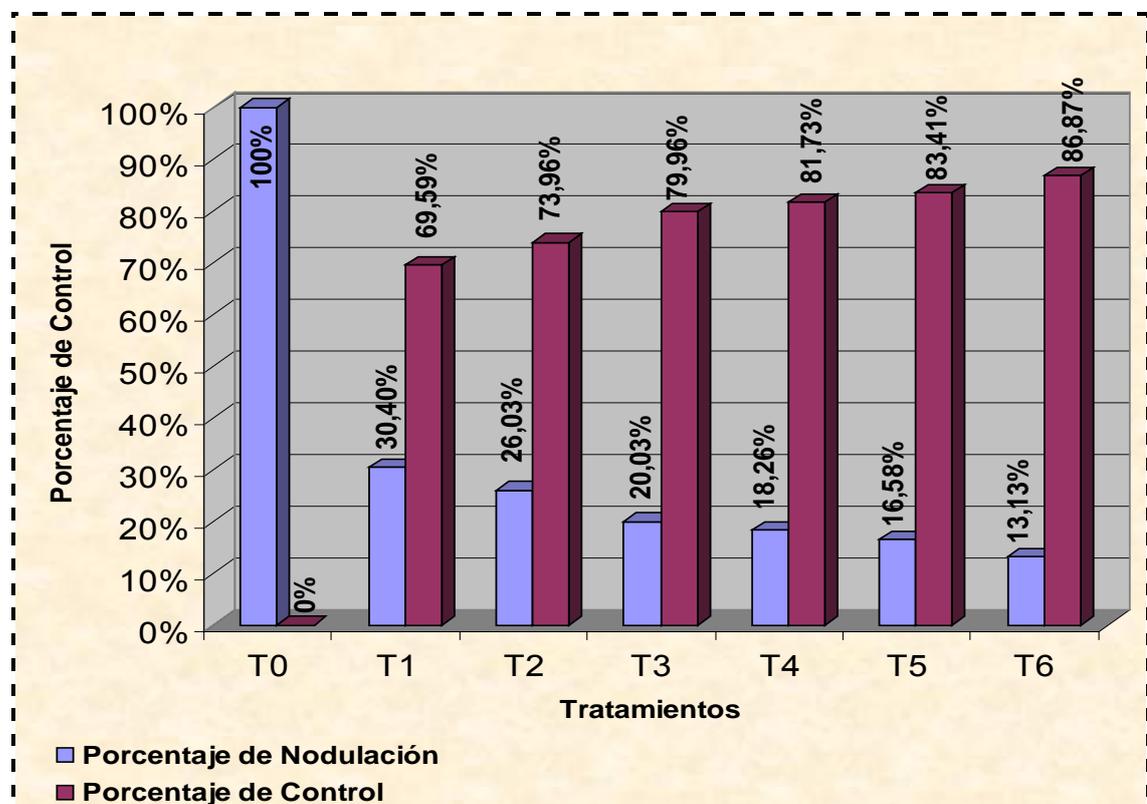


GRÁFICO 15: Porcentaje de control *P. chlamydosporia* – Segunda Evaluación

VI. DISCUSIONES

6.1. Cortes perineales obtenidos

- En los cortes perineales obtenidos en el laboratorio para la identificación de la especie del género *Meloidogyne*; se puede observar un arco dorsal elevado en el modelo perineal, lo que nos indica que la especie del género *Meloidogyne* que afecta al sachá inchi es *M. incognita*. Así como lo corrobora **Sosa (1983)**, donde menciona que los modelos perineales de *M. incognita* tienen un arco dorsal alto formado por estrías que pueden ser desde lisas hasta onduladas. Algunas estrías se bifurcan cerca de las líneas laterales, las que no están claramente visibles. Frecuentemente se observan estrías que se dirigen hacia la vulva.

6.2. Peso radicular a los 25 días

- En la prueba de duncan para el peso radicular a los 25 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 02), se observa que el peso radicular en el T6 fue de 1.93 g. siendo la dosis en este tratamiento de 30g en suspensión con una concentración de conidias de *P. chlamydosporia*. 5.2×10^8 Unidades Formadoras de Conidias (UFC) / ml. Seguido del T5 que registró 1,68 g; el T4, T0 y el T1 con 1,55 g., 1.53 g. y 1.43 g. respectivamente; no se diferencian estadísticamente. Así como lo corrobora **Christie (1974)**, donde menciona que, la mayor parte de los efectos sobre los tejidos circunvecinos se produce por la secreción inyectada a través del estilete de la larva mientras ésta se alimenta. Algunas veces, se

desvitalizan y dejan de crecer las puntas de las raíces. Mientras que los tratamientos T2 y T3 registraron menor peso radicular porque la aplicación del hongo en estos tratamientos fue con todo el sustrato arroz, donde al parecer al ser aplicado al suelo el sustrato arroz sirve como medio nutritivo para otros microorganismos como bacterias que producen toxinas y dañan al sistema radicular. Esto no ocurrió en donde se aplicó el hongo en suspensión. Esta observación es de mucha importancia para las aplicaciones a nivel de campo y evitarse daños por no tomar en consideración las formas de aplicación.

6.3. Altura de planta a los 25 días

- En la prueba de duncan para la altura de planta a los 25 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 03) se observa que los tratamientos T6 y T1 muestran una similitud tanto numérica como estadística con una altura de planta de 29 y 28,9 cm.; así mismo los tratamientos T5, T0, T4; con 28,3; 28,2 y 27,3 respectivamente, siendo el T2 y T3 los tratamientos que tuvieron los tamaños de planta mas bajos con 26,4 y 17,5 cm.; esto se debe a que en inicios de la infección el crecimiento de la planta no se muestra afectada.

Tal como lo menciona **Christie (1974)**, “Los nódulos de la raíz constituyen una enfermedad muy destructora, aunque es extremadamente variable el grado de lesión a las plantas y en ella

influyen muchos factores. El hecho aislado de que las raíces presentan vesículas no significa, necesariamente, que se retarde gravemente el desarrollo de la planta. Cuando son favorables las condiciones de desarrollo, especialmente con abundante humedad y fertilidad, algunas plantas pueden contener una infestación importante sin que se afecte seriamente su desarrollo". Así mismo, **Agrios (1995)**, menciona que: Las plantas afectadas a menudo sobreviven durante el transcurso de la estación de crecimiento y rara vez son destruidas prematuramente por la enfermedad.

6.4. Índice de nodulación a los 25 días

- En la prueba de duncan para el índice de nodulación a los 25 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 04), se observa que el Testigo (T0) nos da el índice de nodulación mas alto con un promedio de 63,3 nódulos por planta; a diferencia de los demás tratamientos en donde se aplicó el agente biológico T1, T2, T3, T4, T5 y T6 con 40, 33, 29,3; 24, 22,3 Y 16,5 nódulos por planta respectivamente; donde redujeron el índice de nodulación en sus dos tipos de aplicación (Sustrato y suspensión).

Pochonia chlamidosporia. a dosis de 20 y 30 g mostró mejor efecto de control porque obtuvieron el índice de nodulación mas bajo teniendo el mejor efecto de control, existiendo entre los tratamientos una marcada diferencia estadística y numérica, lo cual nos indica que el índice de nodulación es inversamente

proporcional con las dosis de aplicación del agente biológico en cada uno de los tratamientos, observándose que el número de nódulos va en descenso conforme aumenta la dosis aplicada.

Tal como lo corrobora **Cave (1995)**, haciendo mención que: Los hongos que atacan huevos pueden reducir la multiplicación de los nemátodos y la mayoría de los estudios con estos hongos han sido con nemátodos enquistadores y agalladores.

Así mismo, el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria - Cuba **Hernández (2008)**, menciona que: Otros resultados de campo fueron obtenidos en áreas experimentales y de producción del CENSA, donde con una sola aplicación de ***Pochonia chalmidosporia.***, en el cultivo de tomate variedad ***Amalia***, se logra reducir las poblaciones de nemátodos en forma significativa y tiene la capacidad de reducir paulatinamente las poblaciones de nemátodos por debajo del nivel crítico.

Sobre el particular, es preciso indicar que le T3, mostró un índice de nodulación de 24 nódulos; siendo este resultado no muy razonable debido a que estas plantas mostraron un crecimiento radicular anormal, pues se observaron raíces muertas y podridas, siendo esta condición de las raíces lo que pudo haber afectado la infestación de estas por el nematodo. Como lo corrobora **Lastres et al. (2007)**, quienes afirman que; Las larvas suelen encontrar

alimento rápidamente porque las hembras ovipositan cerca de las raíces más jóvenes y los exudados de las raíces son reconocidos a través de los labios de los nemátodos, determinando si se trata de una planta hospedera o no. Así mismo **Taylor y Sasser (1983)**, dicen que: después de dejar la masa de huevos, la larva se mueve a través del suelo en busca de una raíz de la que pueda alimentarse.

Parece, que la búsqueda es al azar hasta que la larva se acerca a unos cuantos centímetros de una raíz. Luego, guiada por alguna sustancia que emana la raíz, se va trasladando directamente hacia la punta radicular.

6.5. Longitud radicular a los 25 días

- En la prueba de duncan para la longitud radicular a los 25 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 05), se observa que el Testigo (T0) mostró también una longitud radicular mayor a los demás tratamientos con 361 cm., a diferencia de los demás tratamientos T2, T1, T6, T5, T4 con 331,6; 314,5; 263,4; 254,4; 229,1; respectivamente. El incremento de la población del nemátodo incrementa la longitud de las raíces, esto debido a la producción de mayor cantidad de ácido indolacético por la planta inducido por el nemátodo tal como le menciona **Agrios (1995)**, cuando refiere a las auxinas por *Meloidogyne sp.*

En las aplicaciones con *P. chlamydosporia*. se observó una menor inducción, en los Tratamientos T6, T5, T4, T2 y T1 se observó un descenso de la longitud radicular esto debido al control del hongo hacia el nemátodo. Así como lo corroboran **Marquez et al. (2007)**, quienes mencionan que el número de nódulos por raíz es directamente proporcional a la cantidad de huevos de *Meloidogyne sp.* inoculados.

Mientras que en la longitud radicular ocurre lo contrario alcanzando el testigo una longitud radicular de 332,9 cm. Así mismo **Christie (1974)**, menciona que la formación de las células gigantes (Hiperplasia), por estímulo, no es el único efecto que producen los parásitos en los tejidos que los rodean. La proliferación e hipertrofia de las células corticales da por resultado la formación de las conocidas dilataciones o vesículas y que cuando se infestan con el nematodo, las raíces de la mayor parte de las plantas tienden a ramificarse cerca de la región de invasión, lo que da por resultado un tipo reticular y denso de sistema radicular.

Así mismo **Agrios (1995)**, Menciona que los nemátodos formadores de nódulos de la raíz dañan a las plantas al debilitar las puntas de la raíz y al inhibir su desarrollo y estimular una formación radical excesiva y que en las raíces infestadas por algunas de las especies de este nematodo se forman, además de agallas, varias ramificaciones cortas de la raíz, las cuales nacen en la parte

superior de la agalla y forman un sistema radicular denso y tupido. Sin embargo, es frecuente que las raíces infectadas sean más pequeñas y muestren varios grados de necrosis. En cuanto al T3 es por el efecto negativo que se observó en el proceso de coevolución hongo, nemátodo y bacterias; estas últimas dañan al sistema radicular ocasionando una reducción de la longitud radicular.

6.6. Área radicular a los 25 días

- En la prueba de duncan para el área radicular a los 25 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 06), se observa que existe una marcada diferencia estadística entre cada uno de los tratamientos en estudio siendo el Testigo (T0) el que mostró mayor área radicular con 36,8 cm², a comparación con los tratamientos, mostrando el T2, T6, T5, T1 y T4 con áreas radiculares de 33, 28,7; 26,2; 25,5 y 21 cm² respectivamente, esto debido a la formación de los nódulos (Hiperplasia) haciendo que exista una mayor área radicular en el testigo.

Tan igual como lo corrobora **Torres (2003)**, quien menciona que el estadio infectivo es el J2, el cual penetra la raíz cerca del meristemo apical y emigra intercelular e intracelularmente hacia los tejidos diferenciados. Provocando a los dos días de la infección en el tejido meristemático vascular y en el periciclo, el ensanchamiento anormal de las células (hipertrofia), llamadas

“células gigantes” y la división celular acelerada (hiperplasia), formándose los nódulos.

Así mismo **Sosa (1983)**, menciona que en plantas susceptibles las poblaciones de *M. incognita*. pueden producir agallas individualizadas, pero generalmente éstas coalescen para formar agallas grandes y algunas veces masivas. Así mismo **Agrios (1995)**, menciona que: las raíces infectadas se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas del nódulo de la raíz, las cuales tiene un diámetro dos o tres veces mayor al de las raíces sanas. Se producen varias infecciones sobre la misma raíz y las agallas en proceso de desarrollo le dan a la raíz una forma irregular que se asemeja a una maza. Mientras que el T3 sigue presentando la menor área radicular con 11 cm², esto debido a la alta carga bacteriana existente en el sustrato.

6.7. Población de *Rhabditido sp.* a los 25 días

- En la prueba de duncan para la población de *Rhabditido sp.* a los 25 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 07), se observa que los Tratamientos en donde se aplicó el hongo con sustrato arroz, nos muestran una alta población de *Rhabditido sp.* por 100 cc de suelo, siendo el T3 quien mostró la más alta población de nemátodos del género *Rhabditido* con 3610 individuos por 100 cc de suelo, a diferencia de los demás tratamientos; las plantas de este tratamiento mostraron raíces

necrosadas y muertas con las tasas mas bajas en lo referente al peso y longitud radicular; reflejando también un crecimiento retardado de las plantas en lo referente a su altura; así mismo; se precisa, también que durante las evaluaciones realizadas, se percibía una descomposición en el suelo como resultado de una alta actividad microbiana en el mismo; siendo esta característica concordante con lo mencionado por **Wasilewska (1997)**, “Un aumento en la abundancia del género *Rhabditido sp.*, es indicativo de una actividad microbiana alta, especialmente cuando se aplica nitrógeno en el ambiente”.

Así mismo **Blanc et al. (2006)**, **Ferris et al. (1997)**, mencionan que: Estos nemátodos (*Rhabditido sp.*) junto con los protozoos son los principales consumidores de bacterias del suelo. Así mismo **Azpilicueta (2008)**, menciona también que: Esta relación describe la contribución de los nemátodos bacteriófagos y fungívoros en los procesos de descomposición del suelo, mostrando en un estudio de fertilización nitrogenada que la descomposición de la materia orgánica fue asistida preferentemente por bacterias.

Los tratamientos T2, T1; mostraron también una alta población de nemátodos de este género con 3384 y 1372 individuos por 100 cc de suelo respectivamente; habiéndoles incorporado el agente biológico con el sustrato arroz, pero sin mostrar daños radiculares. Se observa claramente también en este gráfico que la población de

este género de nemátodo en los demás tratamientos en donde se incorporó el agente biológico en suspensión es: T4, T5 y T6; así como en el T0; muestran una baja población con 150, 62,8; 48,8; y 20,8 individuos por 100 cc de suelo. Mientras que los tratamientos en donde se aplicó el agente biológico en suspensión se observó una baja población del nemátodo *Rhabditido sp.* indicándonos una baja población de bacterias en dichos tratamientos.

6.8. Peso radicular a los 40 días

- En la prueba de duncan para el peso radicular a los 40 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 08), se observa que el tratamiento T6 con un peso radicular de 3.2 g, estadísticamente no se diferencia con los tratamientos T5 y el T0 que muestran una similitud estadística; con los valores más altos en peso radicular con 3.1 y 3.0 g respectivamente, pero superan a los tratamientos T1, T4, T2 y T3 con 3, 2.9, 2.8, 2.5 y 1.1 gramos respectivamente; el efecto que se observó en las evaluaciones anteriores con respecto al T3 aún continúa siendo perjudicial, definitivamente esto nos aclara que no es recomendable aplicar el hongo bajo esa forma.

A pesar que el testigo (T0), muestra una mayor formación de raíces pero éstas, son raicillas no muy bien conformadas y delgadas, a diferencia de los demás tratamientos en donde se observa que la forma de las raíces es más saludable y mejor

conformada. Así como lo menciona **Agrios (1995)**, donde dice que: En las raíces infectadas por algunas de las especies de este nemátodo se forman, además de agallas, varias ramificaciones cortas de la raíz, las cuales nacen en la parte superior de la agalla y forman un sistema radicular denso y tupido. Sin embargo, es frecuente que las raíces infectadas sean más pequeñas y muestren varios grados de necrosis.

Así mismo **Christie (1974)**, menciona que: La mayor parte de los efectos sobre los tejidos circunvecinos se produce por la secreción inyectada a través del estilete de la larva mientras ésta se alimenta. Algunas veces, se desvitalizan y dejan de crecer las puntas de las raíces.

6.9. Altura de planta a los 40 días.-

- En la prueba de duncan para la altura de planta a los 40 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 09), se observa que el T6 se diferencia estadísticamente de los demás tratamientos con 59 cm seguido del T5, T2, T4, T1 que mostraron mayor incremento con 55.8, 43.8, 42.3, 41.4 cm respectivamente. A diferencia de los tratamientos, T0 y T3 que muestran una altura de planta de, 40.6 y 24.8 respectivamente. Esto muestra que un sistema radicular cuando es afectado por ***Meloidogyne incognita***. se detiene el crecimiento de la planta considerablemente, a pesar de que el sistema radicular presenta un peso considerable pero esto es

debido al crecimiento desordenado de las células corticales de la raíz (Hiperplasia), lo que conlleva después al taponamiento de los vasos conductores (Hipertrofia) impidiendo el paso del agua y nutrientes a la parte superior de la planta.

Así como lo corrobora **Marquez (2007)**, donde menciona que: La tasa de crecimiento de las plantas y el número de nódulos por raíz es directamente proporcional a la cantidad de huevos inoculados. Observándose que el tratamiento T6 sigue siendo el que muestra el mas alto índice en altura de planta a los 40 días de evaluado; a comparación del testigo el cual comienza a mostrar que su crecimiento a comparación de los 25 días de evaluado es un crecimiento lento.

Como lo corrobora **Agrios (1995)**, donde dice que: En el proceso de alimentación de los nemátodos hace que las células vegetales afectadas reaccionen ocasionando un alargamiento anormal de las células (Hipertrofia). Los síntomas de los órganos aéreos son similares a los que producen muchas otras enfermedades de la raíz o factores del medio ambiente, los cuales disminuyen el volumen de agua disponible para la planta. Las plantas infectadas muestran un desarrollo deficiente. Estos síntomas con frecuencia van acompañados por síntomas no característicos en los órganos aéreos de las plantas y que aparecen principalmente en forma de un menor crecimiento.

6.10. Índice de nodulación a los 40 días

- En la prueba de duncan para el índice de nodulación a los 40 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 10), se observa que el T0 (testigo), con respecto a la evaluación a los 25 días de inoculadas las plantas con los nematodos mostró un mayor índice de nodulación con un promedio de 101, 3 nódulos por planta (Grado 5); mientras que en los demás tratamientos en donde se aplicó el agente biológico el índice de nodulación es menor a los observados a los 25 días.

Esto nos muestra que el hongo con su actividad parasitaria controla al nematodo, dándonos así una alternativa para el futuro en el control biológico de *Meloidogyne incognita*. en el cultivo de sachá inchi, es por lo que el testigo supera estadísticamente a los demás tratamientos en donde se incorporó el agente biológico; mostrando los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6; un índice de nodulación de 30.8, 26.25, 20.3, 28.5, 16.8 y 13,3 respectivamente; además, se observa que el índice de nodulación es inversamente proporcional en relación a las dosis aplicadas del agente biológico.

Así como lo corrobora **Hernández (2008)**, donde menciona que: En las áreas experimentales y de producción del CENSA, con una sola aplicación de *P. Chlamydosporia*. y dos ciclos de cultivo de tomate variedad *Amalia*, se logró reducir las poblaciones de nemátodos (*Meloidogyne incognita*.) en el suelo de forma

significativa al 68% en el primer ciclo y un 84% en el segundo ciclo del cultivo. El hongo incrementa su población en el suelo después de 6 meses de aplicado y mantiene una concentración efectiva a nivel de la rizosfera que garantiza la colonización de alrededor del 90% de las masas de huevos (ootecas) expuestas en la rizosfera y parásita más del 60% de los huevos dentro de ella.

Este resultado ratifica las potencialidades del bionematicida para reducir las poblaciones de nematodos en condiciones de producción intensivas de hortalizas. Tiene la capacidad de reducir paulatinamente las poblaciones de nemátodos por debajo del nivel crítico; su elevada patogenicidad, junto a su capacidad para producir clamidosporas y colonizar la rizosfera de una amplia gama de cultivos, lo hace una alternativa factible ante el empleo de nematicidas químicos altamente tóxicos como el Bromuro de Metilo.

No tiene acción nociva sobre la salud humana ni riesgo de contaminar el medio ambiente y las aguas subterráneas; no perjudica los organismos beneficiosos del suelo y es compatible con otros microorganismos particularmente con Micorrizas, Rhizobium y hongos atrapadores de nemátodos. Es importante precisar que para establecer plantaciones nuevas del cultivo de sachá inchi es recomendable aplicar en el inicio de la plantación desde el vivero, las aplicaciones en campo que están infestadas

por nematodo, puede reducir la población de este; pero no puede ser muy notorio, ya que el mejor control para nematodo es la prevención así como lo corrobora **Talavera (2003)**, donde menciona que: En primer lugar es necesaria la prevención de la entrada del nemátodo, pues una vez éste se ha establecido es virtualmente imposible erradicarlo, por lo que es importante el uso de semillas, plántones certificados y material limpio de nemátodos.

6.11. Longitud radicular a los 40 días

- En la prueba de duncan para la longitud radicular a los 40 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 11), se observa que el Testigo (T0), mostró una mayor longitud radicular con 415,5 cm; a diferencia de los demás tratamientos T6, T1, T5, T4, T2 y T3; con 352.1, 349.2, 342.6, 325.1, 205 y 95.4 respectivamente; una vez mas nos muestra que el nemátodo provoca la producción de ácido indolacético en la planta, hormona que es responsable del crecimiento radicular, haciendo que las plantas del testigo produzcan una mayor cantidad de raíces debido a la infección ocasionada por el nemátodo del nódulo.

Corroborado por **Agrios (1995)**, donde menciona que los nemátodos formadores de nódulos de la raíz dañan a las plantas al debilitar las puntas de la raíz y al inhibir su desarrollo o estimular una formación radical excesiva. Se producen varias infecciones sobre la misma raíz y las agallas en proceso de desarrollo le dan a

la raíz una forma irregular que se asemeja a una maza. En las raíces infectadas por algunas de las especies de este nemátodo se forman, además de agallas, varias ramificaciones cortas de la raíz, las cuales nacen en la parte superior de la agalla y forman un sistema radicular denso y tupido.

Así mismo **Christie (1974)**, menciona que; cuando se infestan con el nemátodo, las raíces de la mayor parte de las plantas tienden a ramificarse cerca de la región de invasión. Los síntomas de las lesiones producidas por estas especies pueden caracterizarse por una combinación de vesículas y de raíces en escobilla.

Se continúa observando que el T3 no se recupera del daño ocasionado por la aplicación del agente biológico con el sustrato arroz.

6.12. Área radicular a los 40 días

- En la prueba de duncan para el área radicular a los 40 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 12), se observa que el Testigo (T0), mostró una mayor área radicular con 63,8 cm²; a comparación de los demás tratamientos T6, T5, T1, T4, T2 y T3 con 57.3, 56.6, 55.9, 41.2, 39 y 18 cm² respectivamente; esto es debido a que en el testigo hubo una mayor nodulación, haciendo que las raíces muestren un crecimiento desordenado del tejido (Hiperplasia), siendo este el típico daño del nemátodo del nudo.

Dicha afirmación lo corrobora **Agrios (1995)**, donde menciona que; en el proceso de alimentación de los nemátodos hace que las células vegetales afectadas reaccionen ocasionando un alargamiento anormal de las células (Hipertrofia), al cese de la división celular o a la estimulación de ella se efectúa en una forma controlada, dando como resultado la formación de agallas o de una gran cantidad de raíces laterales en o cerca de los puntos de infección.

Las raíces infectadas se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas del nódulo de la raíz, las cuales tienen un diámetro dos o tres veces mayor al de las raíces sanas. Se producen varias infecciones sobre la misma raíz y las agallas en proceso de desarrollo le dan a la raíz una forma irregular que se asemeja a una maza.

Así mismo **Taylor y Sasser (1983)**, mencionan que; el nemátodo del nudo *Meloidogyne sp.* con su estilete perfora las paredes de la célula e inyectan secreciones de sus glándulas e inyectan secreciones de sus glándulas esofágicas.

Estas secreciones causan un agrandamiento de las células en el cilindro vascular y aumentan la proporción de la división celular en el periciclo. Esto da lugar a la formación de células gigantes (también llamadas síncitos) formadas por un agrandamiento de las

células (hipertrofia), a la posible disolución de paredes celulares, a un agrandamiento del núcleo y a cambios en la composición de los contenidos celulares. Al mismo tiempo, hay una intensa multiplicación de células vegetales (Hiperplasia) alrededor de la cabeza de la larva.

Así mismo **Christie, (1974)**, menciona que, bajo la influencia del estímulo que provoca la secreción que inyectan por medio del estilete, se forman las llamadas “células gigantes”. Hablando estrictamente, éstas no son células sino masas de protoplasma, más o menos desnudas, de las que se alimentan los nemátodos. La formación de las células gigantes (Hiperplasia), por estímulo, no es el único efecto que producen los parásitos en los tejidos que los rodean. La proliferación e hipertrofia de las células corticales da por resultado la formación de las conocidas dilataciones o vesículas.

6.13. Población de *Rhabditido sp.* a los 40 días

- En la prueba de duncan para la población de ***Rhabditido sp.*** a los 40 días de inoculados los nemátodos (gráfico N° 13), se observa que el tratamiento T3 muestra una alta población de ***Rhabditido sp.*** con 713 individuos por 100 cc de suelo, a comparación de los tratamientos T2, T1, T4, T5, T6 y T0 con 596, 366, 68, 56, 45 y 32 individuos por 100 cc de suelo respectivamente; observándose en ambas evaluaciones que el

tratamiento T3 mostró los promedios mas bajos de Peso radicular, altura de planta, longitud radicular y área radicular; debido a la existencia de una alta carga bacteriana, proceso que ha afectado el normal desarrollo de las raíces y por ende de las plantas; en la segunda evaluación que hubo un descenso en la población de ***Rhabditidae sp.*** como consecuencia de una baja en la carga bacteriana en el suelo, debido a que el sustrato arroz cumplió su proceso de descomposición.

Así como lo corrobora **Bongers y Bongers, (1998)** donde dice que, después de la primera aplicación de nitrógeno, en la segunda temporada, ***Rhabditido*** mostró un típico comportamiento, con un aumento rápido y temporal de la población bajo condiciones de enriquecimiento nutricional. Así como lo menciona **Wasilewska (1997)**, “Un aumento en la abundancia del género ***Rhabditido***, es indicativo de una actividad microbiana alta.

Así mismo **Blanc et al., (2006)**. **Ferris et al., (1997)**, mencionan que, estos nematodos junto con los protozoos son los principales consumidores de bacterias del suelo y las interacciones entre los primeros y las bacterias tienen consecuencias importantes sobre el funcionamiento del suelo y particularmente sobre la disponibilidad de nutrientes.

6.14. Porcentaje de control de *P. chlamydosporia*.

- En el porcentaje de control de *P. chlamydosporia*, se puede observar que en la primera evaluación a los 45 días después de incorporado el hongo al sustrato suelo (Gráfico N° 14); el tratamiento T6 obtuvo un porcentaje de control mayor a los demás tratamientos con un porcentaje del 74,25%, a diferencia de los demás tratamientos T5, T3, T4, T2 y T1 con porcentajes de control del 64,77%; 62,09%; 53,71%; 47,87%; y 36,81% respectivamente.

En la segunda evaluación a los 60 días de incorporado el hongo al sustrato suelo, se observa que los tratamientos T6, T5 Y T4 obtuvieron un porcentaje de control mayor al 80% siendo estos de 86,87%, 83,11% y 81,73%; mientras que los demás tratamientos T3, T2 Y T1 obtuvieron porcentajes de control de 79.96%, 73,96 y 69,59% respectivamente.

Esto nos muestra que el hongo llega a establecerse en el suelo favoreciendo su incremento en el y por ende aumenta el control del nemátodo. Tal como lo corrobora **Hernández (2008)**, donde menciona que: Se ha comprobado, que la efectividad del hongo *Pochonia chlamydosporia* aumenta con el tiempo, sobre un segundo ciclo del cultivo susceptible, aumentando su población en el suelo y mejorando paulatinamente su acción biorregulador. El hongo incrementa su población en el suelo después de 6 meses de aplicado y mantiene una concentración efectiva a nivel de la

rizosfera que garantiza la colonización de alrededor del 90% de las masas de huevos (ootecas) expuestas en la rizosfera y parásita más del 60% de los huevos dentro de ella.

VII. CONCLUSIONES

- 7.1. La dosis de aplicación de ***Pochonia Chlamydosporia***, correspondiente a 20 y 30 gramos por kilogramo de sustrato, fueron los promedios más bajos en índice de nodulación por planta.
- 7.2. El método de aplicación adecuado para ***P. Chlamydosporia***, fue en suspensión, utilizados en los tratamientos T5 y T6, cuyas dosis correspondieron a 20 y 30 gr respectivamente.
- 7.3. El porcentaje de control ejercido de ***P. Chlamydosporia*** sobre el nemátodo del nudo ***Meloidogyne incognita***, observando en la primera evaluación que el porcentaje de control fue de 74.25% a los 45 días de aplicado el agente biológico en el tratamiento T6 (Gráfico 14). En la segunda evaluación el porcentaje de control fue de 86.87% a los 60 días de aplicado el agente biológico en el tratamiento T6 (Gráfico 15).
- 7.4. El hongo ***Pochonia chlamydosporia*** se llega a establecerse en el suelo con mayor eficiencia, mostrando un efecto residual; lo que mostró un mayor control sobre ***M. incognita*** durante los diferentes periodos de evaluación.
- 7.5. Se logró identificar ***Meloidogyne incognita*** en las muestras de raíces noduladas de sachá inchi procedentes de la región San Martín.

VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1. Realizar trabajos de investigación con la aplicación del hongo nematofago ***Pochonia chlamydosporia***, en un campo infestado donde se siembra Sacha Inchi con la finalidad de perfeccionar el método de control biológico.

- 8.2. Realizar trabajos de investigación en plantas aisladas de sachá inchi sembradas de manera natural que tengan más de tres años de vida, para poder determinar que otros organismos supresores existen en el suelo que están realizando la acción de control biológico del Nematodo del Nudo.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. **AGRIOS, G. N. 1995** “Fitopatología”. Pág: 734 – 745. Editor UTEHA; 2º Edición; Balderas - México 1995
2. **AGROINDUSTRIAS AMAZÓNICAS 2002**. Tríptico “Siembra Sacha Inchi y vive mejor”; Tarapoto – Perú 2002.
3. **ALCOCER, H, J. MURGUÍA – CORDOVA y C. MURGUÍA. 2007**; “Efectos de la Solarización y Enmiendas Orgánicas sobre el Nematodo Formador de Agallas Radiculares (*Meloidogyne incognita*), Fitopatología”; N° 02, Volumen 42; Pág. 57.
4. **AREVALO, G. G. 1990-1995**. “Colección, caracterización y mantenimiento de germoplasma de oleaginosas nativas en Tarapoto”, Perú. INIA, Estación Experimental El Porvenir. Informe Anual 1990-1995; Tarapoto - Perú.
5. **AYALA, F.** “Taxonomía vegetal”. Págs. 119-121.
6. **AZPILICUETA, C. V. 2008**. “Estructura de la comunidad de nematodos del suelo bajo dos niveles de fertilización nitrogenada en alto valle de Río Negro, Argentina” - Laboratorio de Servicios Agrarios y Forestales (LASAF), Universidad Nacional del Comahue (UNCo), Río Negro-Argentina; Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle de Río Negro (INTA) –Argentina. 2008.
7. **BATISTA, J. W. 1942**. “The nematode problem from the soil microbiological standpoint”. Pág 144 – 147.

8. **BELLO, A., J. GONZÁLEZ, M. ARIAS, R. RODRÍGUEZ - 1998.** “Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries”. Phytoma-España, DG XI EU, CSIC; Valencia - Spain, 404 pp.
9. **BLANC, C., M, DJIGAL. S. D, BRAUMAN. A, NORMAND. P, y VILLENAVE C.. 2006.** “Nutrition on bacteria by bacterial- feeding nematodes and consequences on the structure of soil bacterial community” - European Journal of Soil Biology 42:70-78.
10. **BONGERS. T, y BONGERS. M. 1998.** “Functional diversity of nematodes. Applied Soil Ecology” - 10:239-251.
11. **CAVE, R. D. 1995** – “Control Biológico Ayer, Hoy y Siempre”. Pág. 186 – 191; Editor CATIE. 1º Edición; Costa Rica 1995.
12. **CAYOTOPA, J, K. MARQUEZ, E. AREVALO, U. VIVANCO y J. AREVALO. 2007.** “Control del Nematodo del Nódulo de la Raíz (*Meloidogyne sp*) en tomate en Extractos Vegetales, Fitopatología”; Nº 02, Volúmen 42; Pág. 53 – 54.
13. **CAYOTOPA. T. J, MARQUEZ .D. K, TUESTA P. A, AREVALO G. E. 2008;** “Altrernativas de Control de *Meloidogyne sp.*, en Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis L.*) en Condiciones de Vivero”. Resúmenes Científicos XX Congreso Peruano de Fitopatología; Arequipa – Perú.
14. **CHITWOOD, B. G 1949.** “Root-Knot nematode. Part I. a revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi”. Pág. 90 – 104.
15. **CHRISTIE, J. R. 1974.** “Nemátodos de los Vegetales, su ecología y control” – Departamento de Entomología. Editorial Limusa; La Florida – Estados Unidos 1974.

16. **FERRIS. H, VENETTE. R. C, LAU. S. S. 1997.** “Population energetics of bacterial-feeding nematodes: Carbon and nitrogen budgets. Soil Biology and Biochemistry” - 29:1183-1194.
17. **GODFREY, G. H. 1947.** “A practical control for nematodes”. Proc. Second Ann. Lower. Pág. 143 – 149; Texas - U.S.A.
18. **HERNÁNDEZ M. A. y HIDALGO D. L. 2008.** Nota Técnica **KlamiC®**: “Bionematicida agrícola producido a partir del hongo *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*” – 2008. (www.censa.edu.cu/portals/htm/webMicospa/PochoKlamic). En Línea (Visitada el 28/01/08).
19. **INIEA. 2008** – “El Porvenir Agrario” - Accesiones Seleccionadas por el INIA en la Colección Nacional de Sacha Inchi en los Años 2 000 – 2 007. Pág. 7 – 10; Editor INIA; Tarapoto - Perú 2008
20. **LANARI, L. 2002.** “ ASSES, Image Analisis software for plant disease quantification”. The American Phytopatology. St Paul. Minnesotta 119 Pág; Estados Unidos 2002
21. **LASTRES, J; ARGUELLO, M; RUEDA, F. 2007.** “M.I.P de Cucurbitaceas”. Pág. 30 – 40; 1º Edición; Costa Rica 2007.
22. **LINFORD, M.J; AND J.W. WALTER. 1949.** “Root-Knot nematode injury restricted by a fungus”. Fitopatología 29 (7): Pág 596. Estados unidos 1949
23. **MARQUEZ. K, J. CAYOTOPA, E. AREVALO, U. VIVANCO y J. AREVALO. 2007;** “Diagnóstico y Niveles de Inóculo del Nematodo que afecta a la Raíz de sachá Inchi (*Plukenetia volubilis*) en Perú, Fitopatología”; N° 02, Volumen 42; Pág. 52 – 53.

24. **MARTANEZ, A P. 2005** “Control Biológico e Integrado de Enfermedades y Nematodos” Universidad de Chile.
www.mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/22.html. (Visitada el 28/01/08).
25. **NEMATODOS (*Meloidogyne, Heterodera, Ditylenchus*). 2008**
“Nematodo de raíz, Quistes en la raíz, nódulos, batatillas en las raíces”
www.articulos.infojardin.com/PLAGAS_Y_ENF/PLAGAS/Nematodos.htm. En Linea (Visitada el 28/01/08).
26. **TALAVERA, M. 2003.**”Manual de Nematología Agrícola – Introducción al Análisis y al Control Nematológico para Agricultores y Técnicas de Agrupaciones de Defensa Vegetal”. Institut de Recerca i Formació agrària i pesquera. Conselleria d’ Agricultura i Pesca de les illes Balears. Pág. 1 – 9. Brasil 2003.
27. **TAYLOR, A. L; SASSER, J. N. 1983.** “Biología, Identificación y Control de los Nematodos del Nódulo de la Raíz (Especies de *Meloidogyne*). Pág. 1 – 11; Carolina del Norte – Estados Unidos 1983.
28. **TORRES, L. C 2002** – “Evaluación Enfermedades de plantas” Pág. 1; Editor SENASA. 1º Edición; Lima - Perú 2002.
29. **TORRES, L. C 2003** – “Principales Nematodos Fitoparásitarios” Pág. 1 – 3; Editor SENASA. 1º Edición; Lima - Perú 2003.
30. **TYLER, J. 1933.** “Reproduction without males in aseptic root cultures of the root-knot nematode”. Hilgardia 7 (10). Pág 373 – 388.
31. **TYLER, JOCELYN 1933.** “Development of the root-knot nematode as affected by temperature”. Hilgardia 7 (10). Pág 391.

32. **UNIVERSIDAD DE ALICANTE. 2005** – España. Unidad de Botánica y Fitopatología. “Hongos Nematófagos”. www.ua.es/dpto/dcmba/botanica/gefpv_inv1.html. En Línea (Visitada el 29/01/08).
33. **VALLES, C. R. 1990**. El "sacha inchi", planta nativa de importancia proteica y aceitera promisor para la selva alta. Separata, 2 p.
34. **WASILEWSKA, L. 1997**. “Soil invertebrates as bioindicators, with special reference to soil-inhabiting nematodes”. Russian Journal of Nematology - 5(2):113-126.
35. **WATSON, J. R. 1921**. “Control of root-knot”. II Págs. 31 – 44.

RESUMEN

El siguiente trabajo, tuvo como objetivo encontrar una alternativa de control al nematodo del nudo *Meloidogyne incognita*., en el cultivo de sachá inchi, mediante la utilización del hongo nematofago *Pochonia chlamydosporia*; para lo cual se evaluó su efecto, dosis, modo de aplicación y porcentaje de control; así mismo identificar la especie del género *Meloidogyne* que afecta al cultivo de sachá inchi en la región San Martín. Para la identificación de la especie, se usaron los modelos perineales obtenidos de la hembras del nematodo, extraídas de raíces noduladas de sachá inchi, llegándose a identificar la especie *M. incognita*. Para evaluar el efecto del hongo se trabajaron con 6 tratamientos y un testigo, usándose tres dosis (10g., 20g. y 30 g. por kg. de suelo) y dos modos de aplicación (en suspensión y con sustrato arroz), para todos los tratamientos se usó suelo esterilizado, el cual fue puesto en bolsas almacigueras de 3 kilos, y en el que se sembró una semilla de sachá inchi; para después ser infestados con 400 huevos de *M. incognita* / 100 cc de suelo. Se realizaron dos evaluaciones a los 25 y 40 días de la infestación del suelo. Siendo el tratamiento 6 (30 g. en suspensión del hongo por kg. de suelo), el que mostró mejores resultados en las dos evaluaciones; con un índice de nodulación de 16 y 13,3 nódulos por planta, mayor peso radicular con 19,3 y 32 g. / planta, mayor altura de planta con 29 y 59 cm. respectivamente; a comparación de los demás tratamientos. Observándose también en los gráficos 14 y 15 que el porcentaje de control de *P. chlamydosporia*. va en aumento mostrándonos en la 1º evaluación en el tratamiento 6 un control del 74, 25% y en la 2º evaluación un control de 86,87% respectivamente; demostrándonos que el agente biológico con el tiempo llega a establecerse en el suelo incrementando su acción de control.

Palabras claves: *M. incognita*, *P. chlamydosporia*, Modelos perineales.

SUMMARY

The present work, aimed to control alternative to root knot nematode *Meloidogyne incognita*, cultivation modern uses, by using the nematofago *Pochonia chlamydosporia* fungus, which was evaluated for its effect, dosage, mode of application and control rate, so it identify the species of the genus *Meloidogyne* affecting crop modern uses in the San Martín region. For identification of the species, we used the models obtained from the female perineal nematode extracted from nodulated roots modern uses, come to identify the species *M. incognita*. To evaluate the effect of the fungus were worked with 6 treatments and a control, being used three doses (10g., 20g. and 30 g per kg. of soil) and two modes of application (in suspension and substrate rice) for all the sterilized soil treatments were used, which was placed in bags seedbeds 3 kilos, and in which a seed was planted modern uses, to then be infested with 400 eggs of *M. incognita* / 100 cc of soil. Two evaluations were made at 25 and 40 days after soil infestation. As the treatment 6 (30 g in suspension of the fungus per kg. of soil), which showed better results in both evaluations, with an index of nodulation of 16 and 13.3 nodules per plant, root weight increased with 19, 3 and 32 g. / Plant, plant height increased with 29 and 59 cm. respectively, compared to other treatments. Also observed in figures 14 and 15 that the control rate of *P. chlamydosporia*. showing growing in the 1st assessment in the control treatment 6 of 74, 25% and in the 2nd assessment control 86.87% respectively, showing us that the biological agent over time becomes established in the soil by increasing its share control.

Keywords: *M. incognita*, *P. chlamydosporia*, perineal pattern.

ANEXO

- Peso Radicular.-

I Evaluación (01 – 06 - 09)

(Cuadro Nº 16)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	1,5	1,5	1,3	0,7	1,6	1,6	1,8
2	1,4	1,3	1,4	0,8	1,4	1,7	1,9
3	1,7	1,4	1,3	0,9	1,7	1,8	2
4	1,5	1,5	1,4	0,7	1,5	1,6	2

II Evaluación (15 – 06 – 09)

(Cuadro Nº 17)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	3,1	2,9	2,6	1,1	2,8	3,2	3
2	3,1	2,8	2,5	1	2,9	3	3,1
3	2,9	3	2,5	1,1	2,7	3,1	3,2
4	2,8	2,7	2,4	1,2	2,9	3	3,3

- Altura de Planta (cm.).-

I Evaluación (01 – 06 - 09)

(Cuadro Nº 18)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	29,5	30	25,5	18	29	29	28
2	26	29,5	26	19	26	28	28
3	28	29	27	17	27	30	31
4	29	27	27	16	27	27	29

II Evaluación (15 – 06 – 09)

(Cuadro Nº 19)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	42	41	45	24	42	55	58
2	40	41	43	26	41	56	59
3	41	41,5	44	24	43	55	59
4	39,5	42	43	25	43	57	60

- Número de nódulos.-

I Evaluación (01 – 06 - 09)

(Cuadro Nº 20)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	64	40	33	24	30	26	18
2	64	41	33	25	27	24	15
3	62	40	32	23	31	24	16
4	63	39	34	24	29	25	16

II Evaluación (15 – 06 – 09)

(Cuadro Nº 21)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	101	31	27	19	18	16	15
2	102	30	25	22	20	16	12
3	102	32	27	19	17	18	14
4	100	30	26	21	19	17	12

- Población de Nemátodos en suelo (100 cc.)

Rhabditido sp.

I Evaluación (01 – 06 - 09)

(Cuadro Nº 22)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	21	1376	3382	3612	149	63	48
2	20	1378	3386	3609	148	65	49
3	20	1366	3378	3611	151	61	50
4	22	1370	3390	3609	152	62	48

II Evaluación (15 – 06 – 09)

(Cuadro Nº 23)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	32	365	596	714	68	56	44
2	33	368	597	715	69	54	46
3	31	366	596	712	67	57	45
4	30	365	595	713	66	55	45

- Longitud Radicular (cm).-

I Evaluación (01 – 06 - 09)

(Cuadro Nº 24)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	359,7	314,4	330,6	137,7	223,6	253	266
2	361,2	315,1	340,1	147,75	226	260	260,7
3	365,9	310,3	324,2	145,49	229	250,7	269
4	360,71	318,2	331,6	136,88	237	253,2	262

II Evaluación (15 – 06 – 09)

(Cuadro Nº 25)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	417,1	348,7	204,84	94,43	325,9	342,6	351,2
2	414,9	348,5	204,6	96,1	324,4	341,5	353,9
3	415,2	349,9	204,86	94,1	324,7	343,1	352,1
4	414,6	349,8	205,6	97,1	325,4	343,2	351,3

- Área Radicular (cm²)-

I Evaluación (01 – 06 - 09)

(Cuadro Nº 26)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	40,7	24,1	31,52	11,52	21,14	25,4	25,52
2	38,1	26,31	33,3	10,2	21,21	26,8	28,06
3	37,6	25,13	32,9	11,28	19,13	27,41	27,35
4	40,6	26,44	33,9	10,86	20,71	25,9	26,14

II Evaluación (15 – 06 – 09)

(Cuadro Nº 27)

Repetición	Tratamientos						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	62,86	56,14	39,81	17,51	40,98	56,49	56,99
2	64,3	55,48	37,75	19,88	40,78	57,71	56,97
3	63	55,86	39,56	16,99	41,11	56,98	57,72
4	65	56,24	38,76	17,23	41,93	55,08	57,48

I Evaluación 25 días después de la Inoculación (01 – 06 - 09)

Fotos 45, 46, 47, 48, 49, 50 y 51; Plantas de cada uno los tratamientos



TESTIGO



T1



T2



T3



T4



T5



T6

II Evaluación 40 días después de la inoculación (15 – 06 – 09)

Fotos 52, 53, 54, 55, 56, 57 y 58; Plantas de cada uno los tratamientos



Testigo



T1



T2



T3



T4



T5



T6

Segundo Pre – ensayo



Nemátodos Parasitados

