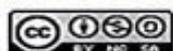




Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

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

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



Identificación de especies de *Meloidogyne* asociadas al cultivo de *Plukenetia volubilis* L. con capacidad patógena en condiciones de vivero

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Edwin Neira Herrera

ASESOR:

Ing. Eybis José Flores García

CO – ASESOR:

Ing. M.Sc. Mike Anderson Corazón Guivin

Tarapoto – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

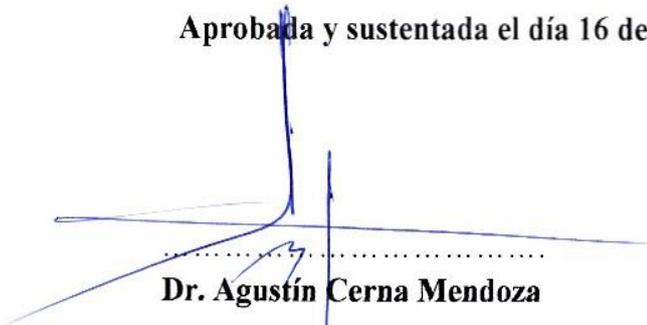


Identificación de especies de *Meloidogyne* asociadas al cultivo de *Plukenetia volubilis* L. con capacidad patógena en condiciones de vivero

AUTOR:

Edwin Neira Herrera

Aprobada y sustentada el día 16 de noviembre del 2018, ante el honorable jurado:


.....
Dr. Agustín Cerna Mendoza

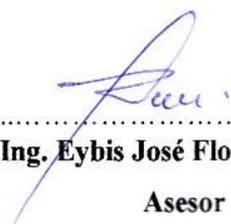
Presidente


.....
Ing. M. Sc. Manuel Santiago Doria Bolaños

Secretario


.....
Blgo. Dra. Yoni Meni Rodríguez Espejo

Miembro


.....
Ing. Eybis José Flores García

Asesor

Declaratoria de Autenticidad

Edwin Neira Herrera, con DNI N° 75654909, bachiller de la Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela profesional de Agronomía de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, con la tesis titulada: **Identificación de especies de *Meloidogyne* asociadas al cultivo de *Plukenetia volubilis* L. con capacidad patógena en condiciones de vivero**

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiado; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto.

Tarapoto, 16 de noviembre del 2018.



Bach. Edwin Neira Herrera
DNI N° 75654909

Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis.

1. Datos del autor:

Apellidos y nombres:	Neira Herrera Edwin		
Código de alumno :	411118	Teléfono:	936721841
Correo electrónico :	Leo_200894@hotmail.com	DNI:	75654909

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Datos Académicos

Facultad de:	Ciencias Agrarias
Escuela Profesional de:	Agronomía

3. Tipo de trabajo de investigación

Tesis	(x)	Trabajo de investigación	()
Trabajo de suficiencia profesional	()		

4. Datos del Trabajo de investigación

Título: "Identificación de especies de <u>Meloidogrina</u> Asociadas al cultivo de <u>Plukenetia Volubilis</u> L. con capacidad patógena en condiciones de vivero"
Año de publicación: 2018

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	(x)	Embargo	()
Acceso restringido **	()		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, una licencia No Exclusiva, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:

6. Originalidad del archivo digital.

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12° del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.

.....
Firma del Autor

8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

Fecha de recepción del documento:

11 / 06 / 2019



.....
Firma del Responsable de Repositorio
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso
Abierto de la UNSM – T.

* **Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

** **Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

Dedicatoria

A mis padres Rodrigo Neira García que desde el cielo me cuida y Luz María Herrera Lopez por el apoyo incondicional y la confianza que me ha brindado todo este tiempo, y a sus enseñanzas que me forjaron de valores y fuerzas cumplir mis metas del cual me siento orgulloso.

A mis hermanos, menores Clever, Rodrich Doiler y Leodan Wanner Neira Herrera que siempre dan el cariño y las ganas de seguir superándome y cada día ser mejor persona.

Agradecimiento

A Dios, por permitir que exista; y a mis padres por sus enseñanzas, apoyo moral y económico durante toda mi vida, para así ser una persona de bien, y servir a la sociedad.

A la Universidad Nacional de San Martín – T, en especial a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias, que contribuyeron a mi formación profesional y en el desarrollo de mi tesis.

Agradecer a los miembros del Laboratorio de Genética y Biología Molecular quienes siempre me brindaron su apoyo y conocimientos , asimismo dando las facilidades de sus instalaciones para poder desarrollar la tesis, y colaborar así con el desarrollo de la región investigando la problemática y generando nuevas tecnologías para obtener una mejor y optima producción de calidad.

A mis familiares y mis amigos, quienes siempre me apoyaron en mi formación profesional y moral, por su apoyo incondicional en vida universitaria y desarrollo de la tesis.

Índice

	Pág.
Introducción.....	1
CAPÍTULO I	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.1. Antecedentes de la investigación	3
1.2. Cultivo de <i>Plukenetia volubilis</i> L. (sacha inchi)	4
1.3. Nemátodo del nudo (<i>Meloidogyne</i> ssp.)	8
CAPÍTULO II.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
2.1. Metodología del proyecto de investigación	19
2.2. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	21
2.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	23
2.4. Parámetros evaluados	32
2.4.1. Identificación y frecuencia de especies de <i>Meloidogyne</i>	32
2.4.2. Parámetros de crecimiento de la planta.....	32
2.4.3. Parámetros de respuesta del hospedante al nemátodo <i>M. incognita</i>	34
CAPÍTULO III.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	36
3.1. Identificación y frecuencia de las especies de <i>Meloidogyne</i>	36
3.2. Parámetros de crecimiento de la planta.	38
3.3. Parámetros de respuesta del hospedante al nemátodo <i>M. incognita</i>	51
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	59
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
ANEXOS	65

Índice de tablas

	Pág.
Tabla 1: Tratamientos en estudio.....	20
Tabla 2: Ubicación georreferencial de los sectores de muestreo.....	22
Tabla 3: Especies de <i>Meloidogyne</i> asociadas a las plantaciones de <i>Plukenetia volubilis</i> L. en la región San Martín.	36
Tabla 4: Análisis de varianza de altura (cm) de planta de sachá inchi a los 30 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero	38
Tabla 5: Análisis de varianza de altura (cm) de planta de sachá inchi a los 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero.	40
Tabla 6: Análisis de Varianza para el contenido de clorofila de las hojas de <i>P. volubilis</i> L., 60 d.d.i con <i>M. incognita</i>	42
Tabla 7: Análisis de Varianza número de hojas por planta de <i>P. volubilis</i> L., 60 D.D.I con <i>M. incognita</i>	43
Tabla 8: Análisis de Varianza para el Área foliar cm ² de las plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero.	45
Tabla 9: Análisis de Varianza para el peso fresco aéreo de plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero.	47
Tabla 10: Análisis de Varianza de para el peso seco de la parte aérea de las plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero.....	48
Tabla 11: Análisis de Varianza del peso fresco de raíces de plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero.	50
Tabla 12: Análisis de Varianza para el grado de infestación en las raíces de plantas de sachá inchi, 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero.....	52
Tabla 13: Análisis de Varianza para la población de nemátodos en la raíz de planta de sachá inchi 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero.....	54
Tabla 14: Análisis de Varianza para la tasa de reproducción de <i>M. incognita</i> en plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I en condiciones de vivero.	56

Índice de figuras

	Pág.
Figura 1: Morfología general de un modelo perineal (Eisenback, 1985).....	17
Figura 2: Agallas recolectadas de las zonas de muestro.	20
Figura 3: Unidades de análisis	21
Figura 4: Mapa de región San Martín mostrando la ubicación de zonas de muestreo. .	22
Figura 5: Extracción y conservación de hembras de <i>Meloidogyne</i>	24
Figura 6: Procedimiento para obtener los cortes perineales.....	25
Figura 7: Metodología para obtener cultivos puros de <i>M. incognita</i>	26
Figura 8: Multiplicación cultivos puros.....	27
Figura 9: Proceso de extracción de huevos	28
Figura 10: Metodología para obtener J2 de <i>M. incognita</i>	29
Figura 11 Siembra de semillas pre germinadas en las macetas.....	30
Figura 12 Proceso de infestación de plantas de sacha inchi con J2 de <i>M. incognita</i>	31
Figura 13 Sistema de tutorado.	31
Figura 14: Proceso de medición de clorofila.....	32
Figura 15: Pesado de Raíces.....	33
Figura 16: Escala para medir severidad según BRIDGE y PAGE	34
Figura 17: Extracción de nemátodos del suelo	35
Figura 18: Especies de <i>Meloidogyne</i> identificados	37
Figura 19: Plantas según tratamiento 60 D.D.I con <i>M. incognita</i>	41
Figura 20: Características de los síntomas causadas por <i>M. incognita</i> en las hojas según Tratamiento.....	46
Figura 21: Índice de nodulación de los tratamientos en estudio según la escala visual de Bridge y Page, 1980	53

Índice de gráficos

	Pág.
Gráfico 1: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) altura (cm) de plantas <i>P. volubilis</i> L.a 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%)	38
Gráfico 2: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la altura de planta de sachá inchi evaluados a 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	40
Gráfico 3: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el contenido de clorofila en hojas de sachá inchi 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	42
Gráfico 4: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el número de hojas por planta de sachá inchi 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	44
Gráfico 5: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el Área foliar de las plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	45
Gráfico 6: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el peso fresco aéreo de plantas de sachá inchi a 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	47
Gráfico 7: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el peso seco aéreo de plantas de sachá inchi 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	49
Gráfico 8: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el peso fresco radicular de las plantas de sachá inchi 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	50
Gráfico 9: prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el índice de nodulación en plantas de sachá inchi 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, a T° media de 30°C y HR de 75%	52
Gráfico 10: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la población final de nemátodos de <i>M. incognita</i> en las plantas de sachá inchi 60 D.D.I en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	54
Gráfico 11: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la tasa de reproducción de <i>M. incognita</i> en plantas de sachá inchi 60 D.D.I con <i>M. incognita</i> en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).....	56

Lista de siglas y abreviaturas

J2: Nematodos juveniles en su segundo estadio, infectivo

DDI: Días después de la infestación

DDS: Días después de la siembra

HR: Humedad Relativa

P.I: Población inicial

P.F: Población final

F.R: Factor de reproducción

sp: Una especie del género

spp: Varias especies del género

T°: Temperatura

LBGM: Laboratorio de Biología y Genética Molecular

FCA: Facultad de Ciencias Agrarias

UNSM-T: Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto

SARM: San Antonio de Rio Mayo.

Resumen

Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), es un cultivo amazónico de mucha importancia económica e industrial debido a su alto contenido de proteínas y aceites esenciales ; sin embargo, es muy susceptible a nemátodos del género *Meloidogyne*, que reduce el rendimiento y vida productiva debido a que genera agallas en el sistema radicular impidiendo así que la planta desarrolle los procesos fisiológicos de manera eficiente; por tal motivo, el objetivo principal fue identificar las especies de *Meloidogyne* y determinar su capacidad patogénica de la especie predominante en condiciones de vivero; para ello se realizó muestreos en diferentes provincias productoras de la región San Martín; en Lamas, Bellavista, Picota y el Dorado; el resultado del análisis la disección de las agallas y análisis morfológico de cortes perineales reveló el principal responsable de este daño a *Meloidogyne incognita*.

Las hembras (n = 480) presentaron el modelo perineal típico, arco dorsal alto y cuadrado, con estrías onduladas y en zigzag, algunas veces formando un espiral, no presentan campos laterales y muestra una zona vulvar lisa; además, se extrajeron masas de huevos únicas que luego se inocularon en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) con la finalidad de obtener cultivos puros para realizar pruebas de patogenicidad, donde se infestó plantas de sachá inchi con nemátodos juveniles en su segundo estadio (J2), se utilizó un diseño completamente al azar DCA con 7 tratamientos y 3 repeticiones con 7 unidades experimentales; con 0; 1 500; 3 000; 6 000; 10 000; 15 000; 20 000 J2/Planta.

La capacidad patogénica de *Meloidogyne incognita* en condiciones de vivero se ve reflejada en la reducción de altura, área foliar, número de hojas por planta, contenido de clorofila, peso fresco y seco de la parte aérea y la masa radicular por efecto del parasitismo producido en las raíces de la planta de Sachá Inchi.

Palabras clave: *Plukenetia volubilis* L., *Meloidogyne incognita*; patogenicidad; parasitismo.

Abstrac

Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) due to its high protein and oil content; however, it is very susceptible to nematodes of the *Meloidogyne* genus, which reduces production and productive life by generating galls in the root system, thus preventing the plant from developing physiological processes efficiently; For this reason, the main objective was to identify the *Meloidogyne* nematode species associated with the root system and determine their pathogenic capacity of the predominant species under nursery conditions; for this, a sampling was carried out in different production areas of the San Martin region (Lamas, bellavista, Picota and el Dorado), the result of the analysis the dissection of the root tissue with gills revealed females of *Meloidogyne incognita*.

The females (n = 480) showed the typical perineal model, high and square dorsal arch, with wavy and zigzag grooves, sometimes forming a spiral, with no lateral fields and showing a smooth vulvar area. In addition, masses of single eggs were extracted and inoculated into tomato plants (*Solanum lycopersicum*) in order to obtain pure cultures for pathogenicity tests, juvenile nematodes were infested in their second stage (J2), a completely randomized design was used with 7 treatments and 3 repetitions with 7 experimental units; infested with 0; 1 500; 3,000; 6,000, 10,000, 15,000, 20,000 J2 / Plant. The pathogenic capacity of *Meloidogyne incognita* in plants of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), under nursery conditions is reflected is the reduction of height, leaf area, number of leaves per plant, chlorophyll content, fresh weight and dry foliage plus the reduction of radicular mass due to the parasitism produced in the roots of the plant.

Key words: *Plukenetia volubilis* L., *Meloidogyne incognita*; pathogenicity; parasitism.



Introducción

El sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), es una planta oleaginosa silvestre y trepadora, oriunda de la Amazonía, también llamada sacha maní, maní del monte o maní del inca (Guerro, 2006), era conocida por los nativos desde hace tres a cinco mil años; ya que se ha comprobado su uso en culturas preíncas, como la Mochica-Chimú, a través de ceramios encontrados en tumbas (Brack, 1999). Actualmente las características nutritivas de sus semillas, debido a la cantidad de ácidos grasos y omegas que posee, precisamente, por su alto contenido de aceites (54%) y proteínas (33%), además de tener mayor cantidad de omega 3 (48,6%) (Hamaker, 1992); han motivado que agricultores y empresas inicien la explotación de esta semilla con el propósito de exportar sus derivados; aprovechando que la tendencia mundial de consumo de aceites vegetales se ha incrementado en los últimos años.

Sin embargo, la producción se ha visto disminuida como consecuencia del principal problema fitosanitario, el nemátodo del nudo (*Meloidogyne* spp), que ocasionan nodulaciones y agallas en el sistema radicular llevando en ocasiones a la mortandad de la planta, sumado a esto las enfermedades que más perjudican las plantaciones como *Fusarium oxysporum*. Las agallas en el sistema radicular de la planta, impiden su normal funcionamiento y el transporte de agua, afectando los procesos fotosintéticos, de respiración y transpiración de la planta.

Los nemátodos son un grupo diverso de animales con apariencia de gusano. Se encuentran presente en todos los ambientes, tanto como parásitos como organismos de vida libre; los nemátodos parásitos de plantas reducen la producción agrícola en aproximadamente un 11% globalmente (Agrios, 2004), reduciendo la producción en millones de toneladas anualmente.

El nivel de daño que causan los nemátodos depende de una amplia gama de factores tales como su densidad poblacional, la virulencia de las especies y la resistencia o tolerancia de la planta huésped. Otros factores que también contribuyen, aunque en menor medida, son el clima, disponibilidad de agua, condiciones edáficas, fertilidad del suelo, y la presencia de otras enfermedades y plagas.

El trabajo de investigación tuvo como objetivos:

Identificar las especies del nemátodo *Meloidogyne* asociados al cultivo de *Plukenetia volubilis* L. y determinar su capacidad patogénica de la especie predominante en condiciones de vivero.

Determinar la frecuencia con la se presentan las especies de *Meloidogyne* en los campos de producción de sachá inchi

Mediante los resultados obtenidos contribuir con la información para crear alternativas de manejo para controlar dicho fitopatógeno, este proyecto se desarrolló en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM) de la Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto el mismo que también proporcionará el financiamiento de todos los materiales, equipos y reactivos enmarcado dentro del proyecto denominado “control del nemátodo del nudo (*Meloidogyne*.), en el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), mediante el uso de Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en San Martín”; que viene ejecutando la FCA- UNSM-Tarapoto, mediante convenio N° 187 – 2015.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Antecedentes de la investigación

En el 2005, fue promovido el cultivo de Sacha Inchi (DRASAM, 2005); sin embargo, su permanencia y producción es condicionada por nemátodo del nudo *Meloidogyne* sp a partir a partir del segundo año de crecimiento y producción. El 2004 la estación experimental “El Porvenir” consiguió mantener un Banco de Germoplasma con 47 accesiones colectados a nivel nacional (Manco, 2004). Hasta el 2007, el INIA consiguió identificar por lo menos 10 líneas homocigotas con diferentes características agronómicas deseadas, infelizmente la característica de resistencia a *Meloidogyne* sp. no fue encontrada en toda la variabilidad genética, siendo todas susceptibles (Castro, 2012).

Reportes recientes sobre plantaciones de Sacha Inchi establecidas en la provincia de Yunnan (Xishuangbanna) -China mostraron una elevada incidencia de *Meloidogyne javanica* sobre el sistema radicular de plantas establecidas en campo (Wang, Y. Xie, H. D. Cui, and Y Dong, 2014).

Shapiama, (2008), en el trabajo diagnóstico poblacional de nemátodos fitoparásitos en el cultivo *Plukenetia volubilis* L. determinó que el nemátodo existente en la raíz pertenecen al género *Meloidogyne*; además, reporta que supera a todos los nemátodos encontrados en los suelos de los diferentes campos muestreados alcanzando poblaciones hasta 350 Indiv/100 cc de suelo, en la zona del Bajo Mayo, Fundo victoria 150 Indiv/100 cc de suelo en el fundo la loma, 80 Indiv/100 cc en el alto mayo fundo Yarinal y 40 Indiv/100 cc en la zona del Huallaga.

Leiva (2009), tuvo como objetivo encontrar una alternativa de control al nemátodo del nudo *M incognita* en el cultivo de sachá inchi, mediante la utilización del hongo nematofago *Pochonia chlamydosporia*; para lo cual evaluó el efecto, dosis, modo de aplicación y porcentaje de control; así mismo identificó 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 las hembras del nemátodo, extraídas de raíces noduladas de sachá inchi, llegándose a identificar la especie *M. incognita*.

Del cultivo de *Plukenetia volubilis* L.

1.2.1 Origen y distribución

La planta de Sacha Inchi se ha encontrado desde América Central hasta Bolivia, en América del Sur se ha registrado en la Amazonía peruana, boliviana y en las Antillas. En el Perú están distribuidos principalmente en las zonas selváticas de los departamentos de San Martín, Ucayali y Loreto (Gómez & Torres, 2007).

En el Perú comúnmente se conoce como maní del monte, sachá maní o maní del inca además se le encuentra en estado silvestre en diversos lugares. Es una planta que se adapta a suelos arcillosos y ácidos y se desarrolla mejor en climas cálidos. Dentro de sus componentes se encuentran principalmente: proteínas, aminoácidos, ácidos grasos esenciales (omegas 3; 6 y 9) y vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles) en contenidos significativamente elevados, respecto de semillas de otras oleaginosas (Manco, 2006).

1.2.2 Taxonomía

La clasificación botánica según Species 2000 & ITIS Catalogue of Life (2017) es la siguiente:

Reino	: Plantae
Sub reino	: Viridaeplantae
División	: Tracheophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Malpighiales
Familia	: Euphorbiaceae
Género	: <i>Plukenetia</i>
Especie	: <i>Volubilis</i> Linneo.

Nombre científico : *Plukenetia volubilis* L.

Nombre común : Sacha Inchi, Maní del Monte

1.2.3. Morfología del cultivo

- Es una planta trepadora, voluble, semileñosa con hábito de crecimiento indeterminado; sus hojas, son alternas de forma acorazonada de 10 a 12 cm de largo y de 8 a 10 cm de ancho, elípticos, aserrados (Tasso, La Serna, Picardo, Ventura, Córdova y Castillo, 2013).
- El fruto, en forma de estrella, con número variable de lóbulos que pueden ir desde cuatro hasta ocho, predominando aquellos con cuatro o cinco lóbulos. Dentro del fruto están las semillas que son de color marrón oscuro, corrugadas y venadas, de forma lenticular y con 1,5 a 2 cm de diámetro (Gómez, 2004).
- Es una planta hermafrodita, las flores presentan una polinización cruzada, lo cual implica que se trata de una especie alógama. En Sacha Inchi se observan 2 tipos de flores, masculinas en las cuales son pequeñas, blanquecinas, dispuestas en racimos y las femeninas que se encuentran en la base del racimo y ubicadas lateralmente de una a dos flores (Cachique, 2014)

1.2.4. Fenología del cultivo.

El tiempo que transcurre desde el momento de la siembra de las semillas hasta la obtención de frutos maduros es de 220 a 230 días (INIA, 2008); este ciclo fenológico se divide en dos fases:

a. Fase vegetativa:

En esta fase transcurre la germinación y se extiende hasta la etapa de prefloración, incluyendo la formación de raíz, tallo y hojas; esta etapa dura aproximadamente de 90 días. Una semana después de la germinación, aparece la segunda hoja verdadera y el tallo guía. Cuando se siembra en semillero una semana después de germinación es el momento más apropiado para el traslado a sitio definitivo. Tiene crecimiento vegetativo, floración y fructificación continua durante todo el año, aunque en las épocas de máxima precipitación su productividad biológica es menor (Gómez, 2004).

b. Fase reproductiva:

Comprende desde el inicio de la formación de las estructuras florales, hasta el desarrollo y obtención de los frutos maduros; dura aproximadamente de 120 días

que se encuentra distribuida entre brote inicial de inflorescencia, diferenciación de flores masculinas y femeninas, formación de frutos y maduración de frutos.

La maduración de los frutos dura entre 25 a 30 días. El fruto maduro adquiere un color marrón, y se puede diferenciar perfectamente cada una de las capsulas en las que se localizan las semillas de manera individual. En resumen, a partir del séptimo mes se empieza a obtener frutos maduros (Gómez, 2004).

1.2.5. Condiciones edafoclimáticas del cultivo

- a. **Altitud:** Sacha Inchi se adapta desde los 100 a 2000 msnm; registrándose así mismo las mejores semillas (> 12mm) en plantaciones establecidas desde los 600 m.s.n.m. el rango óptimo para que obtenga buenos rendimientos es de los 100 m.s.n.m. hasta 1500 m.s.n.m. (Manco, 2005; citado por Nima, 2007).
- b. **Temperatura:** La temperatura óptima para su crecimiento, oscila con un mínimo 10°C y un máximo de 36°C. Si las temperaturas son superiores por una fracción de tiempo prolongado puede generar caída de flores y frutos pequeños, principalmente aquellos recién formados (Calram, 2007).
- c. **Luz;** mientras más luz reciba la planta, mayor es la población de brotes, flores y frutos; si la intensidad de luz es baja, va a requerir mayor número de días para completar sus fases de crecimiento y desarrollo (Tasso et al, 2013).
- d. **Suelos:** Se adapta a diferentes tipos de suelo, pero se deben elegir los suelos que posibiliten su mejor desarrollo y productividad. Pero lo óptimo sería un suelo con textura franco-arcillosa a franco y con un pH que oscile en un rango de 5,5 a 7,5. en cuanto al pH tolera suelos ácidos y su crecimiento y desarrollo se ve reflejado en suelos de 5,5 a 6,5. Si el pH es muy alcalino puede presentar susceptibilidad a este tipo de suelos. Además, el contenido de materia orgánica debe ser de medio a alto, la pedregosidad de media a baja y lo ideal es que en cuanto a fertilidad del suelo sea de media a alta (Andrade y Calderón, 2009).

1.2.6. Importancia

En las áreas rurales de la Región San Martín los pobladores utilizan la almendra de *P. volubilis* L., en su alimentación por su alto contenido en ácidos grasos

insaturados como el ácido linolénico y linoléico. Además contiene proteínas, aminoácidos, antioxidantes y un menor porcentaje de grasas saturadas (Brack, 1999).

Hazen y Stodwesand en Cornell (USA) y Uelos en Florida (USA) (1980), encontraron que la almendra de *P. volubilis* L., contiene porcentajes de grasa y proteína ligeramente superiores a los cultivos de Soya, Maní, Girasol y Algodón. Así mismo (Hamaker, 1992) menciona que *P. volubilis* L., cuyas semillas presentan altos contenidos de proteínas, ácidos grasos esenciales (omegas 3; 6; y 9) y vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles) en cantidades significativamente mayores que otras semillas de oleaginosas como el maní, palma, soya, maíz, colza y girasol.

1.2.7. Producción y rendimiento.

La producción en la región San Martín tiene un promedio de 750 hectáreas cultivadas de *P. volubilis* L., También se detalla que estos cultivos se encuentran en las provincias de Lamas, El Dorado, Picota y Bellavista, cuyo clima y geografía son apropiados para este cultivo. Además de conocer que en la Región San Martín son aproximadamente 1 330 los agricultores que se dedican a cultivar “Sacha Inchi”, cuyo rendimiento para el 1 año: 1 000 kg/ha; 2 año: 4 000 kg/ha; 3 año: 5 000 kg de cápsula/ha (Drasam, 2016).

De acuerdo al levantamiento catastral y topográfico realizado por la Dirección de Productividad Agraria de San Martín, existe un claro potencial en la región para la siembra de sachá inchi de aproximadamente 220 000 Ha. En la actualidad, según datos del proyecto Sachá inchi en San Martín, existen alrededor de 252.8 Ha en producción; y 503.17 has sembradas; Lamas que ocupa el 51,8 % del total del área instalada en el departamento de San Martín, con 295 ha, y el 48,2 % restante corresponde a las provincias de Picota, El Dorado y Bellavista con 62, 41 y 172 ha, respectivamente. (Goresam 2015).

1.2.8. Problemas fitosanitarios de Sachá Inchi

Es altamente susceptible al ataque del nemátodo del nudo de la raíz *Meloidogyne* sp., principal problema fitosanitario que ocasiona alta mortandad en el segundo

año de producción, así mismo también se han reportan daños considerables por el ataque de *Fusarium* spp., en estado de plántula (Manco, 2006)

Nemátodo del nudo (*Meloidogyne* spp.)

1.1.1. Caracterización del género *Meloidogyne*

El género *Meloidogyne*, agrupa a los nemátodos formadores de agallas radicales y comprende a más de 90 especies descritas. (Perry y Moens, 2009).

La morfología del nemátodo cambia durante su ciclo de vida. El primer estado juvenil se forma en el huevo al final de la embriogénesis. El segundo estadio juvenil surge al eclosionar el huevo, inicialmente es vermiforme y con motilidad para posteriormente pasar a un estado sedentario. Los machos son vermiformes, móviles y no se alimentan. En las especies más comunes de *Meloidogyne* los machos no son necesarios para la reproducción ya que por lo general se reproducen por partenogénesis (Eisenback, 1985).

Su sistema digestivo está especializado para mantener la relación parásito-hospedero la mayor parte de los nutrientes obtenidos son destinados a la reproducción (Eisenback, 1985).

El nemátodo se fija en las raíces y provoca la aparición de células gigantes que forman agallas dificultando la absorción de elementos del suelo. Los síntomas ocasionados por el ataque de este nemátodo son similares a los producidos por deficiencias nutricionales e invasión de hongos del suelo (Agrios, 2004).

Las discusiones sobre *Meloidogyne*, se concentran en las cuatro mayores especies: las tres especies tropicales, *M. incognita*, *M. arenaria* y *M. javanica*, y la especie de clima templado, *M. hapla*. Cada una tiene un extenso rango de hospederos y están distribuidas alrededor del mundo. Estas cuatro especies comprenden el 99% de todas las especies identificadas de una colección de 662 aislamientos de 65 países (Perry y Moens, 2009).

1.1.2. Aspectos ecológicos importantes del *Meloidogyne*.

La temperatura es determinante en el desarrollo, reproducción y sobrevivencia de los nematodos; la óptima para la embriogénesis fluctúa entre 25 y 30 °C para las cuatro especies más importantes (Van Gundy, 1985).

Hábitat Según Perry y Moens (2009), las poblaciones de *Meloidogyne* spp. son habitantes de suelos agrícolas: puede reproducirse constantemente en la presencia de un hospedero y humedad favorable en el suelo, con suficiente aireación y una adecuada humedad necesarios para el movimiento y la infección, suelos arenosos o bien estructurados y drenados, combinados con un régimen apropiado de irrigación o suficiente lluvia, favorece la reproducción del nemátodo. *Meloidogyne* spp. (Taylor y Sasser, 1983).

El PH y la salinidad del suelo pueden afectar la densidad de la población del nemátodo, pero en general, si los hospederos del nemátodo pueden desarrollarse satisfactoriamente en condiciones donde el pH del suelo y la salinidad no sean las adecuadas para *Meloidogyne* spp., la reducción de la población de *Meloidogyne* spp., será insignificante; se encuentran generalmente de los 5 a 30 centímetros debajo de la superficie del suelo, decreciendo su densidad hasta 1 metro de profundidad (Taylor y Sasser, 1983).

Las especies de *Meloidogyne* se caracterizan por producir agallas a nivel de las raíces de su hospedero. Sus huevos están incorporados dentro de una matriz gelatinosa depositada generalmente sobre la agalla. Dicha matriz puede contener hasta 1500 huevos. El desarrollo embrionario de éstos va a depender de la temperatura ocurriendo entre 9 y 31 días. Una vez que los juveniles de segundo estado eclosionan de las masas de huevos infestan las raíces de las plantas susceptibles, estos no se mueven al azar, ya que sus movimientos obedecen a estímulos emanados por las raíces, que son captados por eficientes quimiorreceptores. Luego de la penetración el juvenil migra por el interior de la raíz sin romper células. Cuando se establecen, para alimentarse y protegerse causan hiperplasia e hipertrofia del tejido vegetal (Hussey, 1985).

1.1.3. Reproducción.

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, aun cuando la espermatoteca contiene esperma (Triantaphyllou, 1962).

Cuando las condiciones ambientales son óptimas, el ciclo desde huevo hasta adulto es de 3 a 4 semanas. A más baja la temperatura más tiempo se requiere para alcanzar la madurez sexual. 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 tienen 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 citado por Leiva 2009).

1.1.4. Ciclo de vida.

El ciclo es esencialmente el mismo de todas las especies de *Meloidogyne*, sin embargo, algunos autores indican que el tipo de hospedero y condiciones ambientales como luminosidad, temperatura, altitud, pH, textura del suelo, etc, hacen variar el ciclo de estos nemátodos. El ciclo comienza a partir de huevo (ovoide, alargado cerca del doble de largo por ancho), en estado unicelular, ya sea libres en el suelo o embebidos en una matriz gelatinosa, que pueda estar adherida a los tejidos de la raíz de la planta hospedante o a la hembra, la que produce de 500 a 1000 huevos (Cepeda, 1996)

Los estados juveniles son delimitados por las mudas; el primer estado juvenil (J1) y la primera muda, ocurren dentro del huevo, la duración es variable desde dos días hasta meses, generalmente tres a cuatro semanas (Canto y Palomo, 1996).

El ciclo de vida del nemátodo concluye a los 25 días a una temperatura de 27 °C pero tarda más tiempo a temperaturas más bajas o más altas (Agrios, 1995).

En general en todos los nemátodos el ciclo de vida consta de seis estados: huevo, cuatro estados juveniles o larvarios y el adulto. Al pasar de un estado a otro hay una muda de piel; la primera muda se produce dentro del huevo (Guiñez y González, 1993).

1.1.5. Síntomas de una planta infestada con *Meloidogyne spp.*

En la parte aérea, los síntomas de una planta infestada con *Meloidogyne* son similares a los que presenta una planta con otro tipo de daño en las raíces. Estos pueden ser:

inhibición de la brotación, disminución del crecimiento, clorosis del follaje, marchitez temporal a pesar de haber humedad adecuada en el suelo, ya que los elementos vasculares en los nódulos se rompen y se deforman interrumpiendo mecánicamente el flujo normal de agua y nutrientes; y finalmente disminución de la producción (Magunacelaya y Dagnino, 1999).

Los nudos o agallas no son los únicos síntomas del ataque de *Meloidogyne* pues puede haber formación de escobillas, reducción en el crecimiento, clorosis y otros. Este nemátodo ataca a la mayoría de los vegetales y suele ser voraz y destructivo cuando las condiciones le favorecen (Cepeda, 1996).

Plantas infectadas muestran un desarrollo deficiente y una menor cantidad y hojas pequeñas, de color verde pálido o amarillento que tiende a marchitarse cuando el clima es cálido. Las raíces infectadas se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas de agallas de 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 alguna 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. Sin embargo, es frecuente que las raíces infectadas sean más pequeñas y muestren varios grados de necrosis (Agrios, 1995).

Los síntomas en las plantas y su severidad varían de acuerdo a la especie del nemátodo y a la especie, la edad, y la parte de la planta donde se presenta la lesión (Guiñez y González, 1993). Se ha observado ataques tempranos de *Meloidogyne* en suelos ácidos, alcalinos, franco arenosos con más del 70% de arena, arcilloso con más del 50% de arcilla y contenido medio de materia orgánica.

Las plantas atacadas se atrofian y presentan entrenudos cortos, hojas pequeñas, luego se vuelven cloróticas. Asimismo, estos parásitos ingresan a las raíces produciendo heridas por donde fácilmente penetra los hongos, dañando los tejidos y produciendo la pudrición total de las raíces, causando finalmente la muerte de las plantas (Arévalo, 1995)

Los nemátodos infestan y dañan las plantas, disminuyendo los rendimientos y la calidad de los frutos además alteran la fisiología de los tejidos afectados, predisponiéndolos al ataque de otros patógenos (González, 1984).

Las raíces altamente infestadas son mucho más cortas que las raíces sanas, tiene menos raíces laterales y menos pelos radicales (Taylor y Sasser, 1983).

Los nemátodos causan ciertos desordenes en las raíces y de esta forma se producen: Raíz de escobilla, si las raicillas logran tener cierta longitud antes que se detenga su crecimiento; raíz tosca, raicillas no lograron crecer antes de la lesión, raíces carente de ramificaciones; Punta rizada, lesión en un lado de la raíz, cerca del extremo, puede retardar el crecimiento de ese lado (Christie, 1970).

1.1.6. Susceptibilidad de las plantas al género *Meloidogyne*.

Cuando las plantas susceptibles son infectadas en la etapa de plántulas, las pérdidas son consideradas y pueden dar lugar a la destrucción total del cultivo. Las infecciones que sufren las plantas adultas pueden tener solo efectos ligeros sobre la producción o pueden disminuir en forma considerable la producción (Agrios, 1995)

En 1998 en la Estación Experimental “El Porvenir,” el programa Nacional de Investigación de Recursos Genéticos inició las investigaciones en Sacha Inchi. Con la colección y evaluación de 36 accesos. Las evaluaciones son realizadas en 6 accesiones nos indican que este cultivo es muy susceptible a *Meloidogyne spp.* nemátodo del nudo de la raíz y a *Fusarium spp* (Arévalo, 1995).

1.1.7. Patogenicidad en nematología.

El término patogenicidad se emplea habitualmente en Patología Vegetal para expresar la capacidad de un organismo de inducir enfermedad o bien la cantidad de perjuicio fisiológico causado al huésped por la presencia de un microorganismo patógeno (Shaner et al., 1992). Si bien persiste la controversia acerca de si los nemátodos que atacan a las plantas deben ser considerados como microorganismos parásitos o patógenos, la Nematología aplica la terminología utilizada por la Fitopatología para hongos y bacterias (Triantaphyllou, 1987). Por esa razón el término “patogenicidad”, en el ámbito de la Nematología, conserva una significación ambivalente que expresa por un lado un concepto cualitativo (caracterización de la capacidad de una especie dada para establecer una relación huésped-parásito compatible con una planta determinada) y por otro un concepto cuantitativo (definición de diferencias en la expresión del perjuicio causado en la planta). A fin

de establecer una diferenciación entre los conceptos que convergen en la definición se recomienda, en Nematología, distinguir entre patogenicidad propiamente dicha (mayor o menor capacidad de un nemátodo fitoparásito de reducir el crecimiento de una planta huésped) y agresividad (capacidad de una población o raza de nemátodo fitoparásito para reproducirse sobre el huésped) (Shaner et al., 1992). Esta última definición enlaza el concepto de agresividad con el de “capacidad reproductiva”, término vinculado estrechamente con el concepto clásico de patogenicidad en nematología y que describiremos posteriormente con más precisión.

En conclusión, podemos decir que el concepto amplio de patogenicidad en nematología involucra el establecimiento de una relación patogénica en el huésped y la puesta en marcha de fenómenos propios del parasitismo que desembocan en un perjuicio de la fisiología de la planta huésped. Por tanto, a continuación consideraremos los aspectos nematológicos generales que se encuadran dentro del término amplio de patogenicidad, como son el concepto de capacidad reproductiva y las bases citológicas y fisiológicas asociadas a la reducción del crecimiento y el rendimiento de la planta.

1.1.8. Capacidad reproductiva en nematología.

En Nematología “patogenicidad” implica, en primer lugar, considerar el establecimiento de una relación huésped-parásito compatible. Es decir, podemos afirmar que una especie o población de nemátodo fitoparásito puede considerarse patógena de una determinada especie o cultivar de planta sólo cuando entre ambos se establece una relación huésped-parásito compatible. Por otra parte, hablamos, de compatibilidad cuando la asociación entre ambos organismos, planta y nemátodo, permite al parásito desarrollarse y reproducirse de forma considerable en el huésped (Lewis, 1986). De esta forma, la capacidad reproductiva de un nemátodo dado en una planta se convierte en una medida del grado de resistencia o susceptibilidad de la planta huésped sobre la que establece la relación de parasitismo (Seinhorst, 1969; Taylor, 1971).

1.1.9. Resistencia de las plantas al género *Meloidogyne spp.*

En la evaluación de resistencia de un tubérculo las pruebas de macetas y de platos petri son las más precisas, mientras que la prueba en campo es utilizada mayormente

para confirmar resistencia y estimar el valor agronómico y de adaptación de los clones. En ambos casos se requieren inóculo (quistes viables) en cantidades adecuadas. Entre las aplicaciones mencionadas de la tasa de multiplicación del nemátodo, una de las más frecuentes e importante, es la selección de genotipos resistentes en programas de mejoramiento, donde generalmente se emplea una población general estándar como inóculo y luego de establecer la población final se calcula la tasa de multiplicación (González y Franco, 2001)

La susceptibilidad, tolerancia y resistencia de la planta huésped a los nemátodos depende de las propiedades de la célula y los tejidos de las plantas. Las investigaciones futuras sobre resistencia, serán acerca de su efecto sobre la reproducción del nemátodo. En el mejoramiento de plantas para resistencia y en la declaración de la resistencia relativa de algunas variedades, la tasa de reproducción es un criterio básico. Hay plantas inmunes en las que un nemátodo particular no puede reproducirse y hay otras susceptibles en las que este se reproduce bien (Cepeda, 1996).

La identificación de genes que confieren resistencia frente a un patógeno es el punto de partida para cualquier programa de mejora genética. Existen tres fuentes potenciales de resistencia a nemátodos y son:

- a) Especies silvestres, que constituyen la principal fuente de genes que confieren resistencia para su utilización en fruticultura, cuya incorporación se efectúa por hibridaciones naturales o cruzamientos dirigidos.
- b) Mutaciones, la inducción de mutaciones por medio de irradiación o con compuestos químicos ha sido utilizada para obtener resistencia a nemátodos, aunque la estabilidad genética de estas mutaciones es dudosa.
- c) Biotecnología, la regeneración de plantas a partir de células tejidos u órganos puede ser un método potencialmente efectivo para obtener variantes clonales con caracteres de resistencia mejorados y genéticamente más estables que las obtenidas por inducción de mutaciones (Pinochet, 1994).

El empleo de cultivares resistentes al nemátodo del nudo ha probado ser un método de control efectivo y barato. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los cultivares resistentes no son inmunes y por lo tanto, pueden ser severamente afectados cuando son cultivados en campos con poblaciones muy altas de nemátodos y bajo

condiciones que favorecen su virulencia. Existe evidencia que el uso continuo de cultivares resistentes pueden seleccionar patotipos con mayor virulencia sobre los mismos, como sucede con las razas que rompen la resistencia (Vásquez, 1989)

Plantas inmunes, son aquellas que no son atacadas por el nemátodo y Plantas resistentes, son aquellas que pueden ser invadidas por el nemátodo, aunque esta tiene dificultad o manifiesta incapacidad para completar su desarrollo y su reproducción. En casos de resistencia moderada o parcial, el parásito se puede reproducir, aunque su multiplicación es restringida o retardada. Plantas tolerantes, describe la sensibilidad de un hospedador al parasitismo o la magnitud del daño medible en términos de disminución en rendimiento.

Plantas susceptibles, el nemátodo es capaz de reproducirse en ellas con facilidad causando un daño que puede ser medido y que normalmente va en relación con el aumento de la población. Plantas intolerantes, con una alta susceptibilidad que pueden ser dañadas severamente por, poblaciones relativamente bajas del nemátodo a las que el parásito puede ocasionalmente causar la muerte (Cook y Evans, 1987).

1.1.10. Hospederos

A nivel mundial la gama de hospederos de *Meloidogyne* comprende más de 2000 especies de plantas que representan casi todas las familias en vegetales como: algodón, alfalfa, calabaza, cafeto, cebolla, col, maíz, plátano, papaya, sandía, tabaco, tomate, vid y otros (Cepeda, 1996; Agrios, 1995).

Para cada especie de nemátodos de nódulos radiculares se tienen plantas que son huéspedes apropiados y otras que no lo son. Muchos de los vegetales quedan situados entre estos dos extremos, formando así una serie que representa distintos grados de amplitud. Si se compara distintas plantas, se observa que, al pasar de las que les son francamente propias a las que son menos adecuadas, aumenta el tiempo necesario para que las hembras alcancen su madurez (Christie, 1970).

1.1.11. Control

Las prácticas culturales como barbechos, inundaciones, aplicación de abonos orgánicos, cultivos de plantas de cobertura y rotación de cultivos entre otras, reducen bastante las poblaciones de nemátodos parásitos de plantas cultivadas. El propósito

del control de los nemátodos es el de aumentar el rendimiento de las cosechas. El método más efectivo y económico para el control de nemátodos es el uso de variedades resistentes (Cepeda, 1996).

Realizar un análisis del suelo antes de la siembra, para determinar la cantidad y tipo de nemátodo presente; esto con la finalidad de aplicar medidas de control antes de instalar el cultivo.

1.1.12. Caracteres utilizados para la identificación de *Meloidogyne*.

a. Caracteres morfológicos.

En el caso de hembras, los caracteres utilizados son los patrones perineales, según Eisenback (1985) constituye el rasgo morfológico más importante en la identificación de especies; las posición del poro excretor diferencias entre largo y ancho de metacarpus, diferencias morfológicas de la región cefálica en general de pigmentación oscura, aunque para apreciar detalles debe usarse microscopio de barrido, la forma del estilete, especialmente de los nódulos ; y, en algunos grupos de especies, el orificio de la glándula esofágica dorsal entre otras. En los machos los caracteres morfológicos utilizados son: largo del cuerpo, poro excretor, campo lateral, cefálicas, metacarpus, región cefálica, estilete y orificio de las glándulas esofágicas dorsales.

b. Patrones perineales.

El patrón perineal comprende el área del extremo de la cola, fasmidios, líneas laterales, ano, y vulva, todo rodeado por pliegues cuniculares o estrías. Las características más comunes a visualizar en los patrones perineales corresponden a la forma global (circular, oval, piriforme reloj de arena), la presencia o ausencia de marcas o líneas en el espacio lateral y de puntuaciones en el extremo de la cola, a forma de la estría (lisa, quebrada, ondulada, zigzag) y esta puede o no formar alas en uno o ambos lados del patrón (Eisenback, 1985).

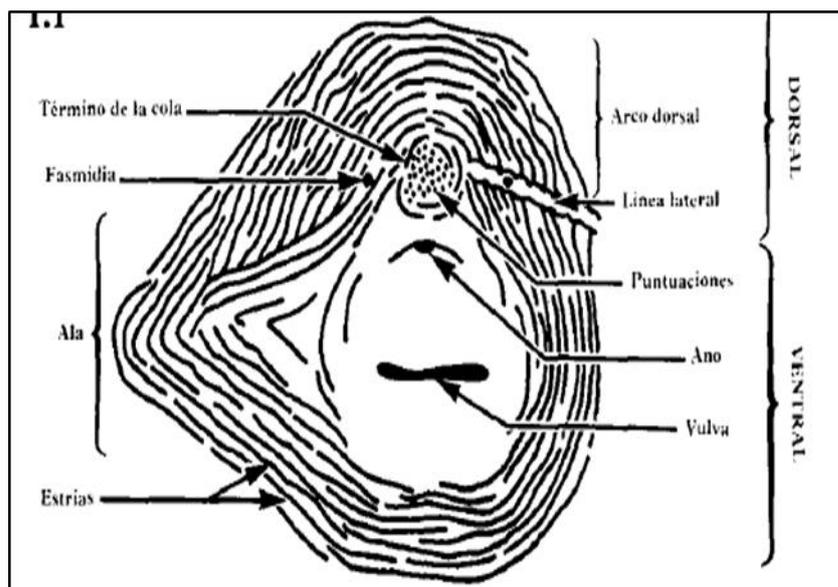


Figura 1: Morfología general de un modelo perineal (Eisenback, 1985).

Según Eisenback, (1985): menciona las siguientes características más relevantes para el diagnóstico de las especies más importantes de *Meloidogyne*:

a. *Meloidogyne hapla*;

Se caracteriza por su forma hexagonal redondeada a ovoide achatada, presenta estrías muy finas y puntuaciones subcuticulares en el área lisa del extremo de la cola. El arco dorsal es relativamente bajo y redondeado, pero puede ser alto y cuadrado las líneas laterales están ausentes pero el espacio lateral está marcado por estrías irregulares. Las estrías dorsales y ventrales a menudo se unen en un ángulo, y son lisas a levemente onduladas. Algunos patrones pueden formar alas en uno o ambos lados.

b. *Meloidogyne incognita*

Presenta un arco dorsal alto y cuadrado. Las líneas laterales están ausentes y el espacio lateral está cubierto por estrías con quiebres y bifurcaciones. Las estrías son lisas a onduladas a veces, en zigzag y a menudo se pliegan a los extremos de la vulva.

c. *Meloidogyne javanica*;

El patrón perineal es el único que posee una línea lateral que separa las estrías dorsales de las ventrales. Generalmente la línea cubre el ancho del patrón, pero

va desapareciendo gradualmente hacia el extremo de la cola. El arco dorsal es bajo y redondo a alto y cuadrado. Las estrías son lisas a ligeramente ondulas.

d. *Meloidogyne arenaria*;

Presenta un arco dorsal bajo, ligeramente dentado hacia el espacio lateral formando hombros redondeados. Las estrías dorsales y ventrales, a menudo, se unen en un ángulo. Las líneas laterales están ausentes, pero estrías cortas, irregulares y bifurcadas cubren el espacio lateral. Las estrías son lisas a onduladas. A veces, los patrones se extienden lateralmente y forman una o dos alas.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Metodología del proyecto de investigación

2.1.1. Tipo de método de investigación

Por las características de la investigación se considera como experimental y prospectivo, por el hecho que los datos provienen de mediciones realizadas a propósito de la investigación (fuente primaria).

El nivel de investigación y de acuerdo a la naturaleza del estudio, la investigación se ubica en el nivel explicativo, puesto que es un estudio donde se plantean relaciones de causalidad (estudios de causa y efecto).

2.1.2. Diseño de investigación

Para la identificación de especies de *Meloidogyne*, asociados al cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la región San Martín se empleó un cuadro comparativo de frecuencia en las cuales se realizó cortes perineales a nemátodos hembras obtenidas del sistema radicular de las plantaciones muestreadas en 4 provincias, en cada una de ellas se seleccionaron 3 localidades. Se realizó 30 cortes perineales por cada localidad y obteniendo un total de 360 en todo el estudio.

Se utilizó un Diseño Completo al Azar (DCA), con 7 tratamientos y 3 repeticiones por cada tratamiento, se emplearon 7 unidades experimentales por repetición; haciendo un total de 147 unidades incluyendo un testigo absoluto que no fue infestado con *Meloidogyne incognita*. Los datos obtenidos en cada evaluación fueron procesados usando el programa estadístico InfoStat, realizando el análisis de varianza (ANVA), sometidos a la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0,05$ de probabilidad.

Tabla 1*Tratamientos en estudio.*

Tratamientos		Descripción
T0	0	nemátodos J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> /maceta
T1	1 500	nemátodos J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> /maceta
T2	3 000	nemátodos J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> /maceta
T3	4 500	nemátodos J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> /maceta
T4	6 000	nemátodos J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> /maceta
T5	10 000	nemátodos J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> /maceta
T6	20 000	nemátodos J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> /maceta

Fuente: Elaboración propia

2.1.3. Población

La población de nemátodos muestreada en el presente trabajo, provino de plantaciones Sacha inchi de las provincias de Lamas, El Dorado, Bellavista y Picota ubicadas en la región San Martín. De cada provincia se seleccionaron aleatoriamente 3 parcelas de sachá inchi, todas en edad productiva (> 2 años).

2.1.4. Muestra

La muestra estuvo formada de raíces con presencia de agallas y/o nódulos colectadas en los sitios de muestreo, para la extracción e identificación de especies de *Meloidogyne*.

**Figura 2:** Agallas recolectadas de las zonas de muestreo.

2.1.5. Unidades de análisis.

- a. ***Meloidogyne* sp;** extraídas de las raíces con agallas y utilizadas para identificar a que especie pertenece, a través de análisis morfológico de dibujos perineales obtenidos por cada zona de muestreo.
- b. **Juveniles 2 (J2) de *Meloidogyne* sp;** Estadio infectivo del *M. incognita*, fueron utilizados en las pruebas de patogenicidad, a través de la infestación en plantas de Sacha Inchi, bajo diferentes niveles o densidad poblacional.
- c. **Unidad experimental;** Estuvo conformada por una (01) planta de Sacha Inchi germinada en una maceta de 3 kg con sustrato estéril (agrícola y arena de río en proporción 2:1), infestada a los 21 d.d.s (días después de la siembra y evaluada a los 30 y 60 días respectivamente después de la infestación (d.d.i)

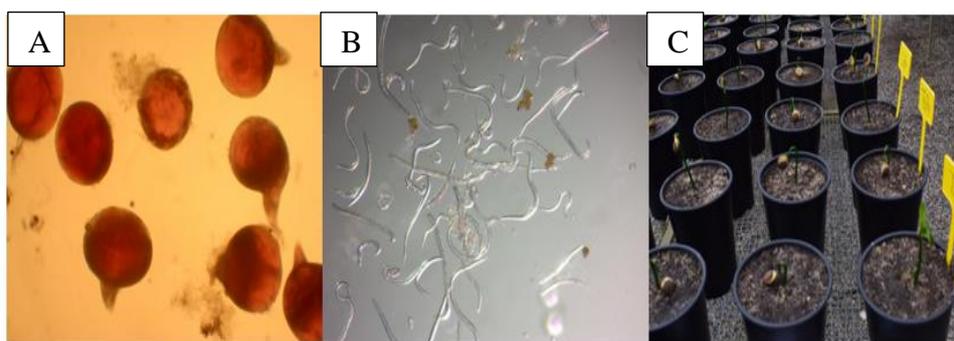


Figura 3: Unidades de análisis **A:** Hembras de *Meloidogyne*, **B** J2, (juveniles infectivos provenientes de cultivos puros), **C:** Macetas con plántulas de Sacha inchi.

2.1.6. Sistema de hipótesis

H_a: El cultivo de Sacha Inchi es afectado por especies de nemátodo del género *Meloidogyne*; y, el daño que estas causen dependerá de la densidad poblacional.

H₀: El cultivo de Sacha Inchi no es afectado por especies de nemátodo del género *Meloidogyne*.

2.2. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.2.1. Área en estudio.

Se recolectaron muestras de 12 localidades de la región, ubicadas en 4 provincias de la Región San Martín; como se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 2

Ubicación georreferencial de los sectores de muestreo

Provincia	Sector	Altitud (m.s.n.m.m)	Coordenadas UTM
El Dorado	Barranquita	318	18m 320454 UTM 9254512
	Santa Rosa	309	18m 0323423 UTM 9254206
	Santa Cruz	436	18m 308197 UTM 9268560
Lamas	Churuzapa	389	18m 0319706 UTM 9297936
	Aucaloma	795	18m 0340884 UTM 9290331
	SARM*	507	18m 0306953 UTM 9286825
Bellavista	Dos De Mayo	350	18m 0330168 UTM 9248867
	Nuevo Progreso	262	18m 0348230 UTM 9248013
	Barranca	307	18m 0342302 UTM 9194909
Picota	Alfonso Ugarte	468	18m 0371728 UTM 9227542
	San Antonio	244	18m 0365759 UTM 9224777
	Huañipo	554	18m 0369493 UTM 9220841

Fuente: Elaboración propia (*) SARM = San Antonio Del Rio Mayo.

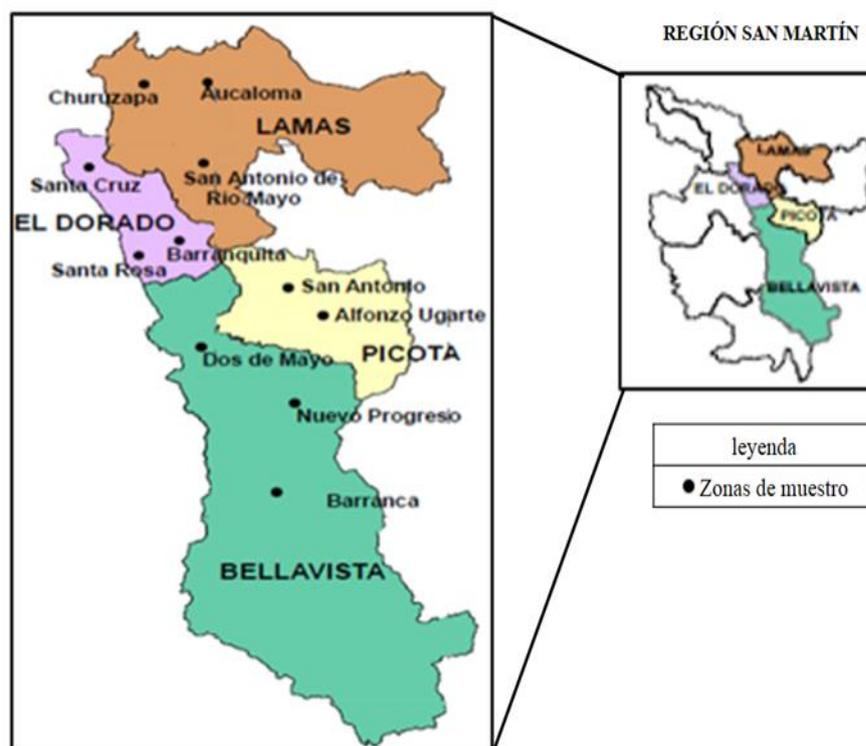


Figura 4: Mapa de región San Martín mostrando la ubicación de las zonas de muestreo.

2.2.2. Ubicación del ensayo.

El trabajo de investigación se desarrolló en el vivero, perteneciente al “Laboratorio de Biología Y Genética Molecular (LBGM)”, ubicado en la “Facultad de Ciencias

Agrarias” de la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto (UNSM-T). Fue establecido bajo condiciones controladas en el invernadero; con temperatura mínima 25°C media 27°C y máxima de 33°C la humedad oscila entre 40 % y 85%.

a) Ubicación política		b) Ubicación geográfica	
Distrito	: Morales	Latitud Sur	: 06°35'28"
Provincia	: San Martín	Longitud Oeste	: 76°18'47"
Departamento	: San Martín	Altitud	: 230 m.s.n.m.m.

2.3. Instalación del ensayo

2.3.1. Fase de campo

a) Recolección de raíces con agallas

En cada una de las parcelas de sachá inchi, se seleccionaron cinco puntos de muestreo, de donde se tomaron 5 plantas de sachá inchi al azar, tratando de abarcar toda la parcela, es decir; se muestreó 25 plantas/ha, en cada planta se colectó suelo de cuatro puntos equidistantes, a una distancia de 30 cm de la base del tallo de cada planta y a una profundidad de 0 a 20 cm, se extrajo las raíces con agallas. Las raíces con agallas se recolectaron en bolsas de polietileno debidamente codificadas en forma independiente, estas fueron colocadas en una nevera, para ser transportadas hasta el laboratorio de biología y genética molecular de la UNSM-T, para su estudio y procesamiento.

b) Colecta de sustrato. Como sustrato se utilizó tierra agrícola y arena de río. La colecta del sustrato (tierra agrícola) se realizó del fundo Aucaloma, propiedad de la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto. La arena de río se colectó de las orillas del río Cumbaza.

c) Recolección y desinfección de semillas. La semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.); se colectaron en localidad de Lamas, sector Shanantina, en la parcela del señor Alberto Sinarahua Sangama.

2.3.2. Fase de laboratorio

- a) **Esterilización de sustrato.** La tierra y arena recolectada de campo fue tamizada, luego, se procedió a esterilizar en autoclave Modelo Since 1889 (YAMATO – ATERILIZER SM511) 121°C a 12 PSI por 30 minutos, así mismo la arena se tamizó y se lavó con una solución de hipoclorito de sodio (1%).
- b) **Extracción y conservación de hembras de *Meloidogyne*.** En el laboratorio y con ayuda de un estereomicroscopio, de cada sitio de muestreo se realizó la extracción manual de hembras de *Meloidogyne*; haciendo cortes transversales de las agallas con bisturís luego, con pinzas y agujas de disección se aisló hembras del tejido radicular y se conservaron en ácido láctico al 45% en tubos criogénicos de 2 ml. Se extrajeron de 40 a más hembras por sitio de muestro; de diferentes agallas escogidas al azar, para luego realizar los cortes perineales. Previamente etiquetado con los datos del lugar de recolección.

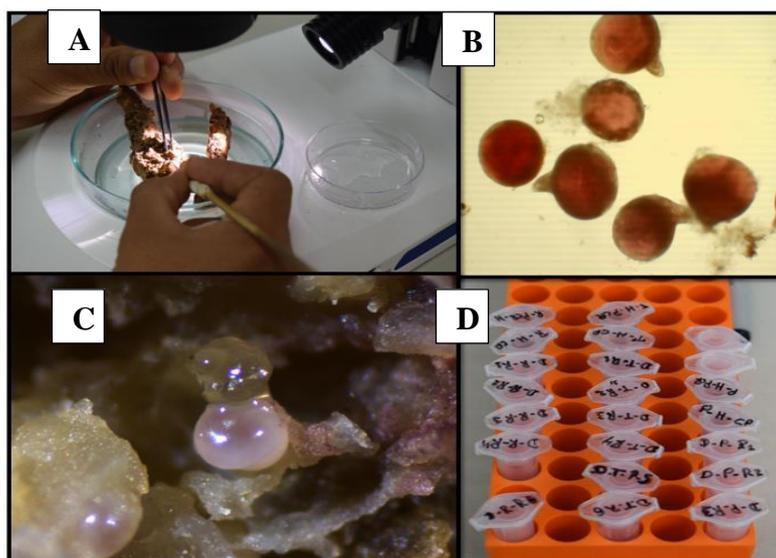


Figura 5: Extracción y conservación de hembras de *Meloidogyne* **A:** Disección de las raíces y extracción de hembras en el estereomicroscopio, **B:** hembra de *Meloidogyne* y su masa de huevos, **C:** Hembras de *Meloidogyne* y **D:** almacenamiento y conservación de hembras.

c) **Identificación de las especies de *Meloidogyne*.**

Para identificar las especies de *Meloidogyne*, se realizaron 480 cortes perineales de hembras para su identificación mediante análisis morfológico. Se utilizó la metodología descrita por Sasser y Carter (1985) con modificaciones:

- Corte de la cabeza y vaciado del contenido de la hembra, corte de la cutícula posterior de la hembra,
- Ubicación del dibujo perineal y recorte del exceso de cutícula,
- Limpieza de corte de restos viscerales con ácido láctico al 45%,
- Tinción del corte con tinta Parker al 5%.
- Los cortes serán organizados en filas en la lámina portaobjetos y sellados con una gota de PVLG con la lámina cubreobjetos y etiquetado.
- Posteriormente se realizó el Fotografiado de dibujos perineales en el microscopio para realizar la identificación de especies de *Meloidogyne* comparando con claves pictórica de Eisenback, et al. (1981; 1985) y (Taylor y Sasser, 1983).

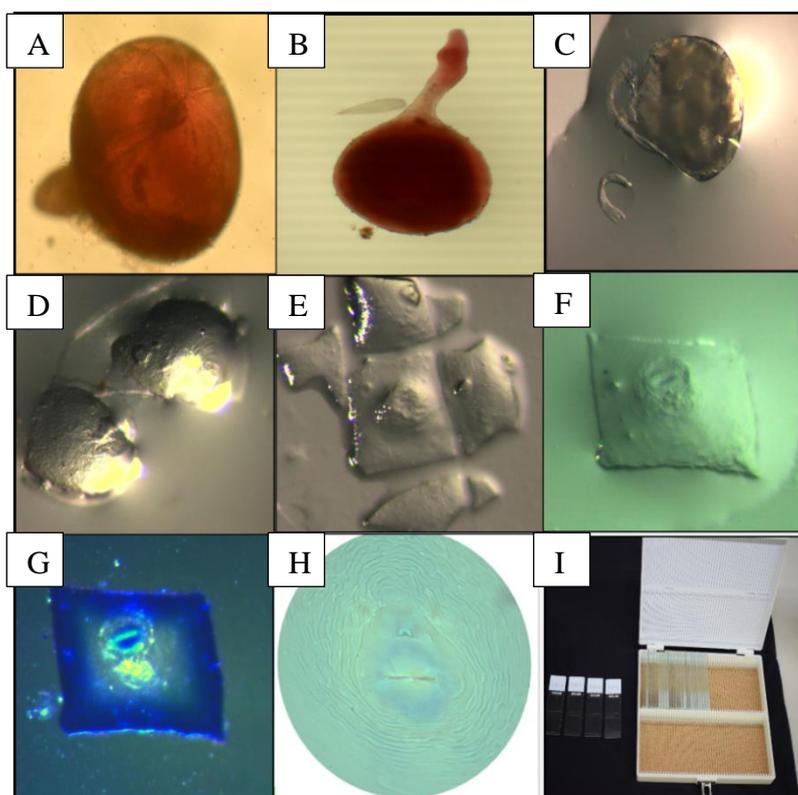


Figura 6: Procedimiento de la obtención de cortes perineales para el análisis morfológico de *Meloidogyne*, **A** y **B**: hembras de *Meloidogyne* sp., **C**: corte de la cabeza, **D** y **E**: corte de exceso de cutícula y limpieza de vísceras, **F**: corte completamente limpio, **G**: tinción de corte con tinta Parker al 4%, **H**: Fotografía de un dibujo perineal, **I**: conservación de cortes.

d) Obtención de cultivos puros de *Meloidogyne*.

Los cultivos puros de *Meloidogyne* sp, se obtuvieron según la técnica descrita por Jepson (1987); en plántulas de tomate (*Lycopersicon sculentum*) mantenidas en

sustrato estéril (suelo estéril y vermiculita 2:1 v/v), se infestó con una única masa de huevos de la población deseada de *Meloidogyne* sp. Las masas de huevos se aislaron de las raíces de Sacha Inchi con agallas; siguiendo técnicas habituales de disección directa descritas por Shurtleff y Averre, 2000; a través del estereomicroscopio. Las plántulas de tomate se obtuvieron de semillas cv. Susceptible; las semillas se desinfectaron superficialmente con NaOCl al 1% durante 10 min, se lavaron con agua destilada y secadas a temperatura ambiente. Luego se realizó la siembra directa en macetas de plástico con vermiculita y suelo estéril proporción 2:1. (V/V), hasta que la planta presentaron los dos primeros pares de hojas verdaderas para ser inoculadas.

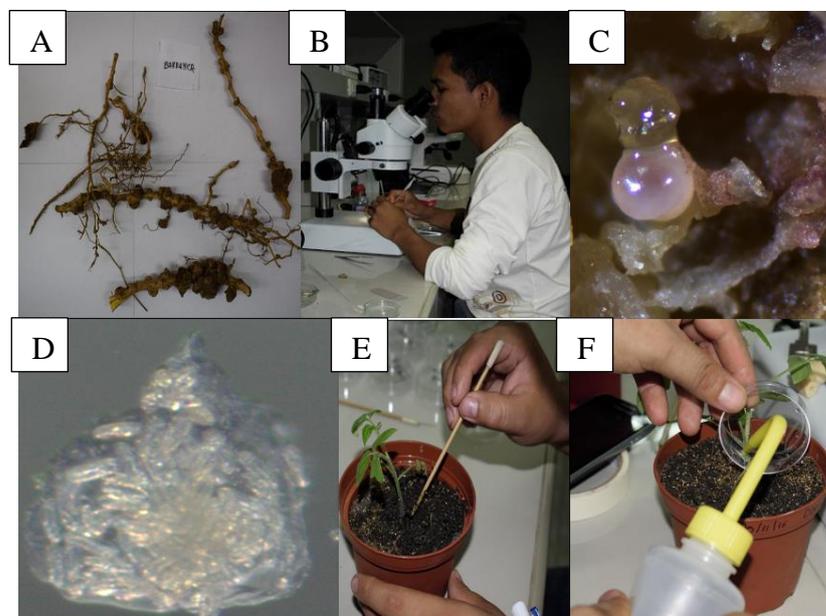


Figura 7. Metodología para obtener cultivos puros de *M. incognita* **A:** agallas recolectadas de campo, **B:** extracción de masas de huevo, **C:** hembra de *Meloidogyne* con su masa de huevos, **D:** masa de huevos, **E** y **F** infestación con una sola masa de huevos.

Posteriormente cumplidos 45 a 60 días después de la inoculación con una sola masa de huevos por maceta, se procedió a examinar las raíces de las plantas y corroborar la existencia de agallas, del sistema radicular, y aislar hembras de *Meloidogyne* sp y para realizar cortes perineales e identificar que especie se está reproduciendo en las diferentes macetas.

e) Obtención de fuente de inóculo

Para obtener la cantidad necesaria de *M. incognita* e instalar las pruebas de patogenicidad en plantas de sachá inchi. Se procedió a la multiplicación masiva de los cultivos puros (50 macetas), usando como cultivo trampa tomate y sachá inchi; sembradas en sustrato estéril y mantenidas en condiciones de invernadero hasta los 60 D.D.I.

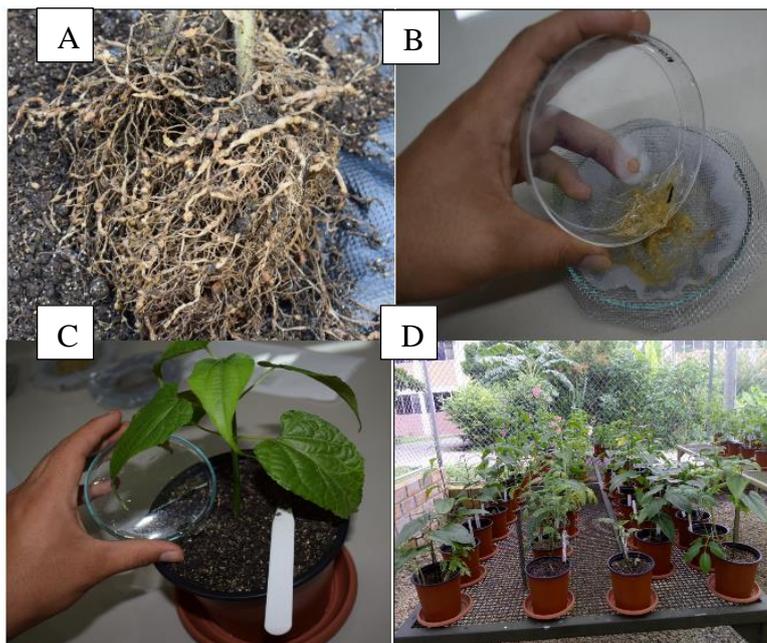


Figura 8. Multiplicación cultivos puros. **A** (raíces infestadas con *M. incognita*), **B** (extracción de J2), **C** (infestación de plantas de tomate con J2 de *M. incognita*) y **D** (plantas infestadas con *M. incognita*)

f) Extracción de huevos de *Meloidogyne* para obtener J2 (fuente de inóculo)

Debido en parte a que los huevos de *Meloidogyne* no eclosionan simultáneamente y porque, al tener hábito endoparásito, pasa la mayor parte de su ciclo dentro de raíces, esto según lo reportado por Taylor y Sasser (1983), Eisenback (1985); Eisenback y Triantaphyllou (1990) y necesitando obtener para los ensayos poblaciones homogéneas de inóculo infeccioso; juveniles (J2) para las pruebas de patogenicidad se desarrolló el siguiente proceso:

1. Se extrajeron las raíces con nódulos de plantas de tomates infestadas con nemátodos (*Meloidogyne incognita*) y se lavó con abundante agua potable suavemente, para quitar el suelo y evitar perder masas de huevos de las raíces.

2. Luego se aisló los huevos del tejido radicular, empleando el método descrito por Hussey y Barker (1973), con modificaciones donde, las raíces de tomate con nódulos se cortaron en trozos de aproximadamente de 2 cm; luego, se colocó aproximadamente 100 g en el vaso de licuadora donde se agregó NaOCl al 0,5 % hasta cubrirlos totalmente, luego, contenido se licuó 3 veces consecutivas de 2 minutos cada repetición.
3. Finalmente se tamizó el contenido utilizando 3 tamices, de 37; 53 y 67 μm respectivamente, lavando con abundante agua con la finalidad de eliminar los residuos de NaOCl y recolectar la muestra del tamiz de 37 micras donde se encuentran los huevos de nemátodos (*Meloidogyne incognita*).



Figura 9. Proceso de extracción de huevos **A** (raíces infestadas con *M. incognita*), **B** (lavado de raíces), **C** (picado de raíces), **D** (licuado de raíces con NaOCl al 0,5%), **E y F** (Tamizado).

g) Obtención de juveniles infectivos (J2) y alícuotas

Luego para obtener solo J2 del producto del tamizado se dejó eclosionar los huevos de *Meloidogyne*, usando embudos de Baermann con modificaciones (Martínez de Ilarduya, 2001); ésta técnica consistió, en utilizar placas Petri estériles, sobre esta colocó una malla de metal con papel toalla, donde se vació la solución conteniendo los huevos de *Meloidogyne* y se encubó a temperatura ambiente por 48 horas, agregando agua destilada para evitar la pérdida de humedad.

Finalmente se colectó los J2 en vasos de precipitación en 500 ml de agua destilada y fueron conservados a 4°C hasta que se logró obtener el inóculo necesario.

Para obtener las alícuotas para la inoculación para cada maceta según el tratamiento se estimó el número de J2 por mililitro usando el estereomicroscopio (Hunsey y Barker, 1973).

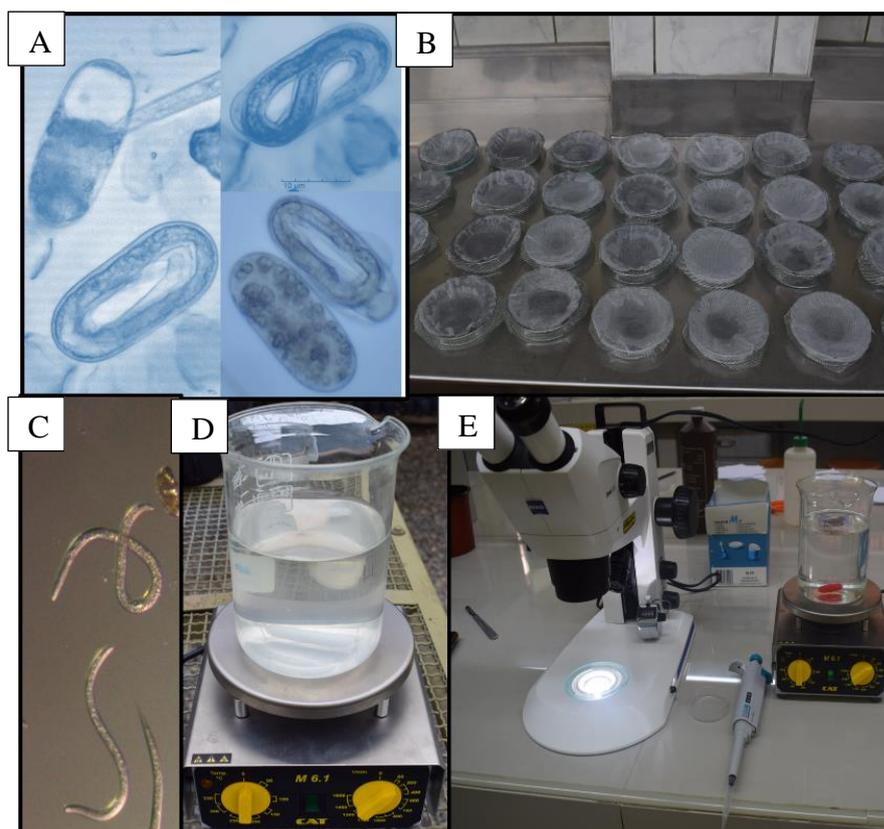


Figura 10. Metodología para obtener J2 de *M. incognita* **A** (huevos), **B** (cámaras de eclosión de huevos), **C** (J2), **D** (J2 en agua destilada) y **F** (Determinación de j2 en alícuotas)

2.3.3. Fase de invernadero

a) Preparación de sustrato

En el experimento se utilizó tierra negra y arena (2:1) las cuales fueron previamente esterilizadas.

b) Llenado y acondicionamiento de macetas

Para ello se utilizaron macetas de polietileno de 6x9 pulgadas, las cuales se llenará con sustrato estéril (suelo más arena en proporción 2:1 V/V) y colocadas sobre mesas metálicas de 1 x 5 m. y 1m. de altura, según el diseño del experimento.

c) Siembra de semillas de Sacha Inchi

Se seleccionó las semillas buscando que sean homogéneas en tamaño y eliminó las que presentaron defectos que puedan perjudicar la germinación y alterar los resultados de la investigación. Se sembró una semilla por maceta, para ello se hizo un hoyo en el sustrato de 2x6 cm y se colocó la semilla de Sacha inchi; luego, se tapó la semilla con el sustrato y se regó hasta saturar el sustrato. La semilla previamente a la siembra se colocó en agua destilada por 48 horas para incentivar la germinación.



Figura 11. Siembra de semillas pre germinadas en las macetas.

d) Infestación

Los tratamientos se aplicaron 21 días después de la siembra, cuando las planta presentó un buen desarrollo radicular, durante estos días se realizó riegos interdiarios según las condiciones ambientales lo requieran, para la inoculación, se seleccionaron plantas homogéneas en tamaño y vigor ya que todas no mostraron las mismas características (ver anexo 1) y esto puede alterar los resultados de la investigación, luego en cada maceta se efectuó cuatro orificios equidistantes al tallo de la planta; de aproximadamente de 0,5 cm de diámetro y 10 cm de profundidad en el sustrato de las macetas con ayuda de una varilla de vidrio y se infestó con su respectiva alícuota a cada planta en el fondo de los orificios, según cada tratamiento.

Finalmente se regó todas las macetas infestadas con agua destilada, de esa manera crear condiciones para que el nematodo tenga movilidad y de esa manera ubique los sitios de la infección (Raíz).

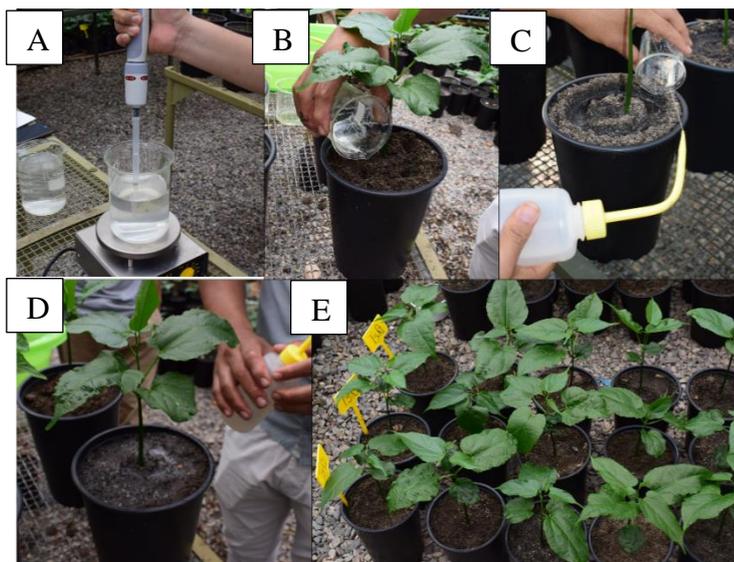


Figura 12. Proceso de infestación de plantas de sachá inchi con J2 de *M. incognita* **A** (toma de alícuota según tratamiento), **B y C** (aplicación de alícuota), **D y E** plantas infestadas.

e) Manejo cultural

Después de la infestación, los plántones se mantuvieron en invernadero por un periodo de 60 días. En este periodo se realizó 3 aplicaciones de fertilización foliar cada 15 días con fertilizante compuesto (20-20-20) y también la aplicación de insecticida y fungicida, el riego se realizó cada dos días.

f) Tutorado

Se instaló un sistema de tutoraje, tipo espaldera, el guiado se realizó permanentemente después de los 30 d.d.s.



Figura 13 Sistema de tutorado.

2.4. Parámetros evaluados

2.4.1. Identificación y frecuencia de especies de *Meloidogyne*.

Se calculó mediante la fórmula: $I_x(\%) = N_x/N \times 100$ Donde; I_x : incidencia de la especie “x” en la muestra; N_x : número de muestras donde estaba presente la especie “x” y N : número de muestras totales.

2.4.2. Parámetros de crecimiento de la planta

a) Altura de planta (cm).

Para la evaluación de altura de la planta se tomó desde la base del tallo de la planta hasta la yema terminal superior del tallo con la ayuda de una regla milimetrada de 100 cm, se evaluará cada 30 días, hasta los 60 después de la infestación con nemátodos.

b) Contenido de clorofila (SPAD)

El contenido de clorofila se evaluó a los 60 d.d.i para ello se utilizó un medidor de clorofila “MEDIDOR DE CLOROFILA” marca” SPAD “KONICA MINOLTA”, para ello se tomó datos de 10 hojas/planta de la parte central, es decir; se dejó de lado las hojas muy viejas y las nuevas, por cada repetición se obtuvo el contenido de clorofila de 40 hojas, haciendo un total de 120 hojas por tratamiento

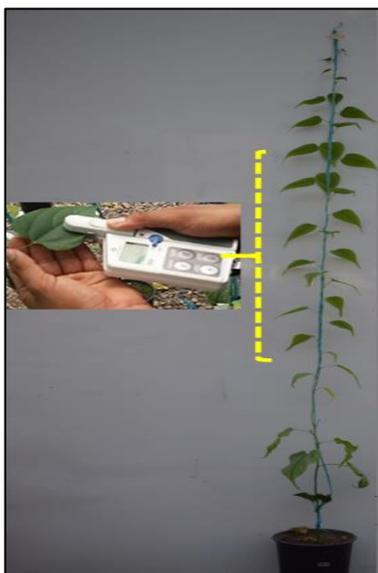


Figura 14: Proceso de medición de clorofila.

c) Número de hojas

Se contó el número total de hojas por planta, desde la base del tronco hasta el ápice terminal, esta evaluación se realizó a los 60 d.d.i

d) Área foliar (cm²)

Se recolecto aleatoriamente 30 hojas por tratamiento, maduras y tratando que sean lo más homogéneas posible, luego se las escaneo, finalmente se determinará el área foliar utilizando el programa especializado llamado FIGI para determinar el área foliar en cm².

e) Peso fresco aéreo (g)

Para la evaluación se cortó la parte aérea de la planta (follaje) desde la base del tronco, luego con una balanza de analítica electrónica se pesó cada planta por tratamiento, cuyos pesos fueron expresados en gramos/planta. Dicha evaluación se realizó a los 60 días después de haber infestado con J2 de *Meloidogyne incognita*.

f) Peso seco aéreo (g)

Para obtener el peso seco aéreo y radicular se colocó a secar en una estufa a 60°C el tejido vegetal hasta que el peso de esto se mantenga constante.

g) Peso radicular (g)

Al final del experimento 60 d.d.i, las raíces fueron extraídas de las macetas cuidadosamente, para ser lavadas con agua, de esa manera eliminar los residuos de suelo, y luego secadas con toallas de papel absorbente, con el fin de eliminar el exceso de agua. Finalmente, cada una de las raíces fue pesada en una balanza digital, con una precisión de decimas de gramo.



Figura 15: Pesado de Raíces.

2.4.3. Parámetros de respuesta del hospedante al nemátodo *M. incognita*

a) Índice de nodulación o grado de infestación.

Para determinar el grado de infección se utilizó la escala de Bridge y Page (1980), citado por Volcy (1998), la cual considera valores de 0 a 10: 0= raíces sanas, 1-4= agallas sobre raíces secundarias solamente, 5-10= agallas sobre raíces laterales (5,50% de raíces con agallas y 10, máxima infección).

Esquema valorativo de severidad del daño sobre las raíces causado por nemátodos del tipo *Meloidogyne* según BRIDGE, J. y PAGE, S.L.J

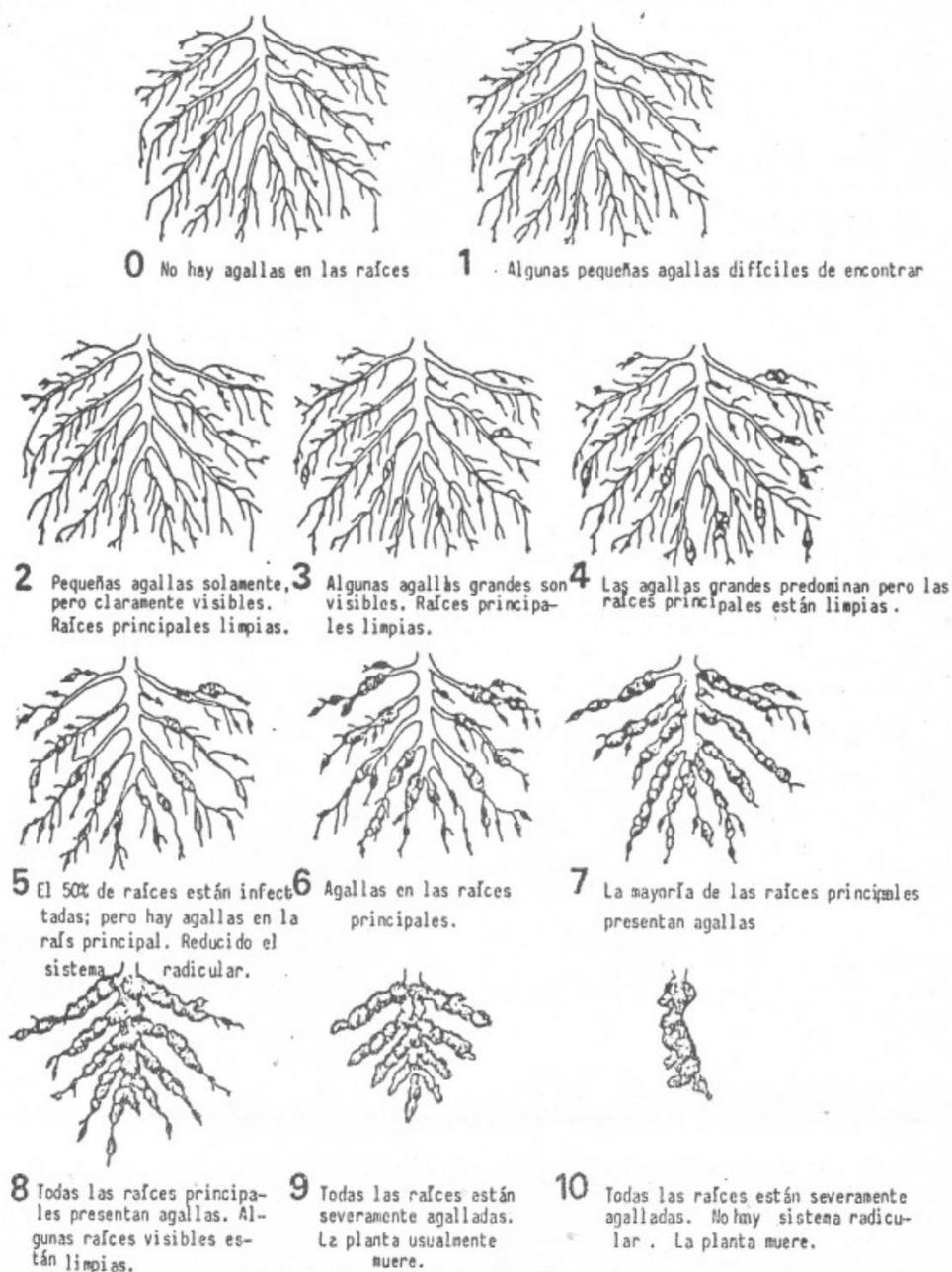


Fig. 1. Root-knot nematode rating chart.

Figura 16: Escala para medir severidad según BRIDGE y PAGE

b) Población final de nemátodos (suelo + raíz)

Para determinar la población final de nemátodos se evaluó la población de nematodos en suelo y raíz a 60 d.d.i, se utilizó las bandejas de Whitehead (Coyne 2007) , para lo cual se usó 100 g de suelo de cada de uno de los tratamientos, el suelo se colocó en una bandeja sobre un papel toalla, después se le agregó agua destilada hasta cubrir el suelo, estas bandejas se las dejó por un periodo de 48 horas; luego se procedió al tamizado y finalmente estimar el número de nemátodo en 100 g de suelo.



Figura 17. Extracción de nemátodos del suelo, método de la bandeja.

c) Población final de nemátodos por planta

Para determinar la población final de nemátodos (huevos + J2), en el sistema radicular de cada planta por tratamiento; al final del ensayo, después de evaluar el grado de infestación de nemátodo, se aisló los nematos de las raíces de las plantas siguiendo la metodología descrita anteriormente donde se hace uso del método descrito por Hussey y Barker (1973) con modificaciones, usando hipoclorito de sodio NaOCl al 1%.

d) Índice o "tasa de reproducción" (Rf)

Esta población final resulto de la suma del número de nemátodos presentes en la raíz (**Nr**) más el número de nemátodos presentes en el suelo (**Ns**). Ambos parámetros se estimaron realizando un recuento directo sobre las extracciones efectuadas, según los métodos descritos anteriormente. El índice o tasa de reproducción se calculó según la siguiente expresión:

$$Rf = pf/pi$$

Dónde: **Rf** = índice o tasa de reproducción; **Pf** = población final (Nr + Ns)

Pi = población inicial

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Identificación y frecuencia de las especies de *Meloidogyne*.

Para identificar las especies de *Meloidogyne* asociadas al cultivo de *Plukenetia volubilis* L. se realizó análisis morfológico de patrones perineales obtenidos a partir de hembras, se realizó 30 cortes perineales por cada localidad haciendo un total de 90 cortes perineales por cada provincia. En la figura 20 se aprecia las características más relevantes de los cortes obtenidos y la tabla 3 muestra la evaluación de *Meloidogyne* sp, en cada provincia y 12 localidades.

Tabla 3: Especies de *Meloidogyne* asociadas a las plantaciones de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), en la región San Martín.

Provincias	Localidad	<i>Meloidogyne</i> sp (%)			
		<i>M. Incognita</i>	<i>M.Javanica</i>	<i>M.arenaria</i>	<i>M.hapla</i>
El Dorado	Barranquita	100	--	--	--
	Santa Rosa	100	--	--	--
	Santa Cruz	100	--	--	--
Lamas	Churuzapa	100	--	--	--
	Aucaloma	100	--	--	--
	SARM	100	--	--	--
Bellavista	Dos De Mayo	100	--	--	--
	Nuevo Progreso	100	--	--	--
	Barranca	100	--	--	--
Picota	Alfonso Ugarte	100	--	--	--
	San Antonio	100	--	--	--
	Huañipo	100	--	--	--

La **tabla 3**, presenta las especies de *Meloidogyne* y frecuencia encontradas en las localidades de Barranquita, Santa Rosa Santa Cruz, Churuzapa, Aucaloma, San Antonio Del Rio Mayo (SARM), Dos de Mayo, Nuevo Progreso, Barranca, Alfonso Ugarte, San Antonio Y Huañipo estudio, comprendidas en las 4 provincias más representativas de la región San Martín, tanto en producción y áreas establecidas. La única especie encontrada en esta prospección de las 12 localidades fue *Meloidogyne incognita* (incidencia de 100 %), no fueron encontrados patrones perineales con características para las especies de *M. hapla*, *M. javanica* y *M. arenaria*

Para identificar las especies de *Meloidogyne* se utilizó la técnica de cortes perineales, siguiendo el procedimiento descrito por Hartman y Sasser (1983) con ligeras modificaciones. Todos los patrones perineales obtenidos presentaron las características que coinciden, con las descritas para *M. incognita*, las mismas que presenta un modelo perineal típico, arco dorsal alto y cuadrado, sus estrías son onduladas y en zigzag, algunas veces forman un espiral. No presentan campos laterales y muestra una zona vulvar lisa (Taylor y Sasser, 1983). Estos resultados concluyen que la especie de nemátodo del género *M. incognita* predomina en las plantaciones de sacha inchi en la Región San Martín, datos que coinciden con los reportados por Leiva (2009), donde menciona haber obtenido patrones perineales con las características antes descritas, obtenidas de plantaciones de sacha inchi del instituto de investigación de la amazonia peruana (IIAP- Tarapoto).

Algunas hembras extraídas de las raíces presentaron un color rojo con diferentes tonalidades: este detalle también fue observado por Wang, Y; Xie, Y and Dang (2012), luego al inocular plantas de tomate con masa de huevos provenientes de nódulos de sacha inchi, los autores mencionan que podría deberse a algún contenido bioquímico desconocido adquirido del huésped, ya que no se reporta este caso para otros cultivos.

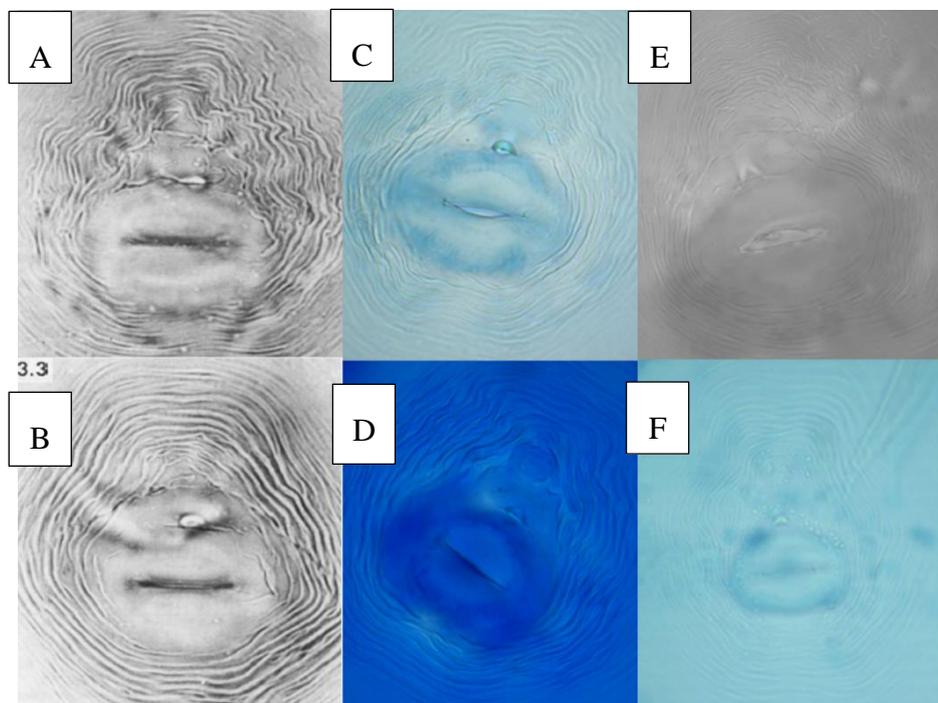


Figura 18: Especies de *Meloidogyne* identificados **A** y **B**: Especies de *M. incognita* tomado de Eisenback et al. (1983); **C**, **D**, **E** y **F**: cortes perineales de *M. incognita* de muestras colectadas en la región San Martín.

3.2. Parámetros de crecimiento de la planta

3.1.1. Altura de planta a los 30 días después de la infestación (d.d.i)

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para la altura de planta de *P. volubilis* L., a 30 d.d.i, mostrado en la **tabla 4**, indica que existe diferencia altamente significativa entre tratamientos, mostrando una media de 146,24 cm, con coeficiente de determinación (R^2) de 94 % y coeficiente de variabilidad (C.V.) de 1,5%.

Tabla 4

Análisis de varianza de altura (cm) de planta de sachá inchi a los 30 D.D.I con M. incognita en condiciones de vivero

F.Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	835,92	6	139,32	28,87	<0,0001
Repeticiones	13,13	2	6,57	1,36	0,2934
Error	57,92	12	4,83		
Total	906,97	20			

** = Altamente Significativo \bar{X} =146,24 cm R^2 = 94% CV = 1,5%

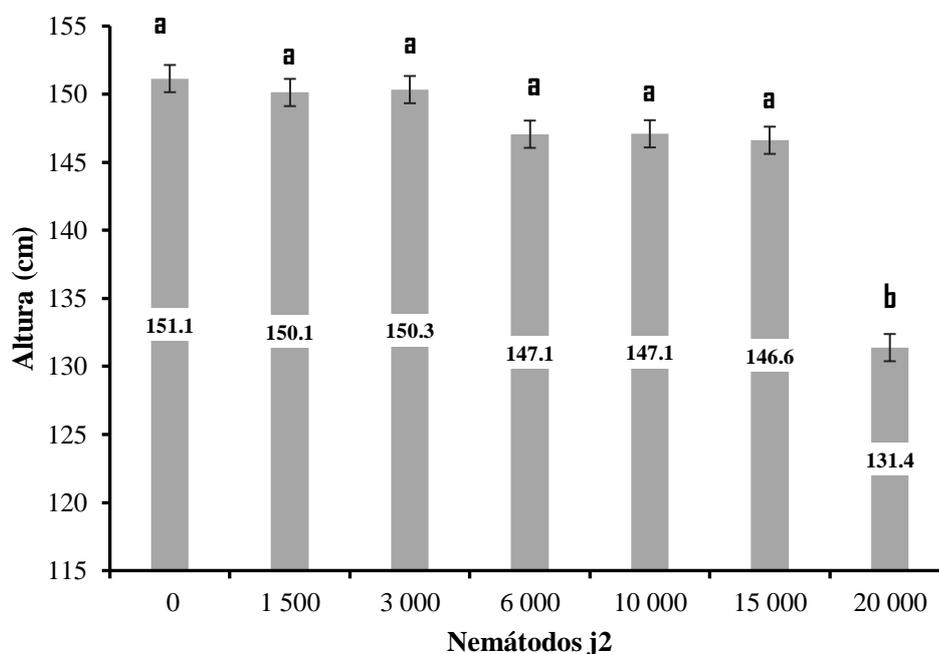


Gráfico 1: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) altura (cm) de plantas *P. volubilis* L. 30 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%)

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Gráfico 1) muestra que el tratamiento T0 (Testigo 0 J2), sin infestar son estadísticamente igual a los tratamientos T1 (1500 J2), T2 (3000 J2), T3 (6000 J2), T4 (10 000 J2) y T5 (15 000 J2) infestados con juveniles J2 de *M. incognita*; lo contrario sucedió con el tratamiento T6 infestado con 20 000 J2; que fue afectado en su crecimiento significativamente (131,7 cm), con respecto a los demás (T1 con 150,1 cm, el T2 con 150,3 cm; el T3 con 147,3 cm ; T4 con 147,1 cm y T5 con 146,6 cm respectivamente). Por lo tanto; podemos afirmar que la infestación o el ataque de nemátodos de *Meloidogyne incognita* en plantas de sachá inchi con densidades bajas no puede ser determinado, no se observa las síntomas o efectos en el tamaño de la planta a inicios de la infección, salvo que presente poblaciones muy altas que afecten el sistema radicular de la planta produciendo nódulos que impide el normal funcionamiento de la planta causando una deficiencia en la absorción de nutrientes y agua; así como lo corrobora **Marquez (2007)**, quien 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.

En el presente estudio se logró determinar, que las síntomas referidas al crecimiento de la planta, recién se observan, cuando la infección este muy avanzada o cuando la población tenga varias generaciones, tal como lo menciona **Manco (2006)**; donde aparte de mencionar que el Instituto Nacional de Investigación Agraria de la Estación Experimental Agraria el “Provenir” Tarapoto, mantiene una colección de 47 ecotipos, habiéndose identificado materiales genéticos promisorios por sus altos contenidos de aceite; sin embargo, tienen bajos rendimientos y son altamente susceptibles a *Meloidogyne incognita*, principal problema fitosanitario, y recién ocasiona elevada mortandad de plantas al segundo año de producción.

3.1.2. Altura de planta 60 d.d.i.

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para altura de plantas de sachá inchi 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 5**, indica que existe diferencias altamente significativa entre tratamientos, con una media de 193,63 cm, con coeficiente de determinación (R^2) de 99 % y coeficiente de variabilidad (C.V) de 1,45%

Tabla 5

Análisis de varianza de altura (cm) de planta de sachá inchi a los 60 d.d.i con M. incognita en condiciones de vivero.

F .Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	12333,41	6	2055,57	261,88	<0,0001
Repeticiones	124,14	2	62,07	7,91	0,0064
Error	94,19	12	7,85		
Total	12551,75	20			

** = Altamente Significativo $\bar{X} = 193,63 \text{ cm}$ $R^2 = 99\%$ $CV = 1,45\%$

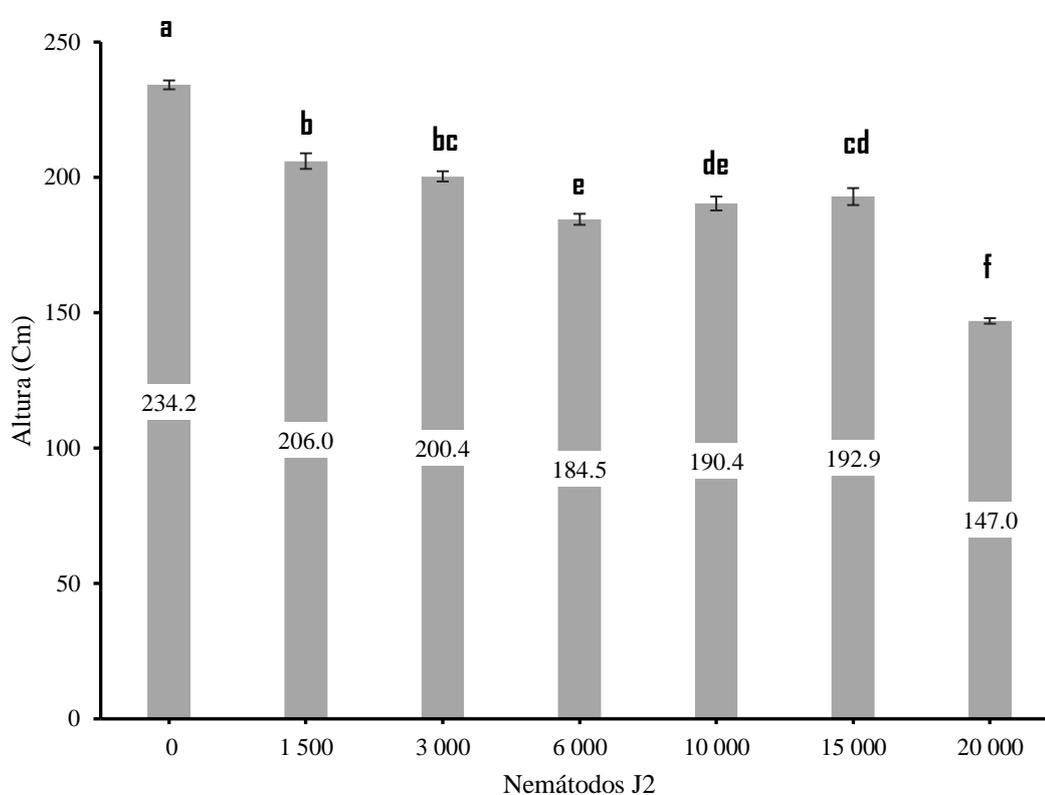


Gráfico 2: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la altura de planta de sachá inchi evaluados a 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, T° media de 30°C y HR de 75%.

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (**Gráfico 2**) muestra que el tratamiento **T0** (testigo) obtuvo la mayor altura (234,2 cm); presentando un desarrollo normal ya que no fue inoculado con J2 de *Meloidogyne Incognita*, y diferenciándose de los tratamientos que fueron infestados con J2 de *M. incognita*.

El tratamiento más afectado por efecto del parasitismo de *Meloidogyne incognita* fue el **T6** (20 000 J2), que fue inoculado con la densidad más alta de nemátodos, encontrando una altura de 147 cm, menor con respecto al resto de tratamientos (ver figura 19).

A partir de este resultado podemos afirmar que el crecimiento de la planta es afectado por el parasitismo de *Meloidogyne incognita* y que está directamente relacionado con densidad poblacional presente en el suelo; tal como lo afirma Dropkin, (1989), que el efecto más aparente del parasitismo de nemátodos sobre la planta es una reducción general del crecimiento y que los mecanismos que explican esta disminución, y la merma consecuente en los rendimientos, son de naturaleza múltiple y compleja y afectan tanto a las células directamente expuestas al parasitismo como a la planta entera. Por su parte Sidhu y Webster (1981), menciona que los nemátodos reducen el crecimiento de las plantas debido a que destruyen la estructura de las células y consumen o eliminan sus contenidos, interfiriendo en los procesos fisiológicos normales y modifican la expresión genética en el huésped.



Figura 19: Plantas según tratamiento 60 D.D.I con *M. incognita*

3.1.2. Contenido de clorofila

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para el contenido de clorofila de las hojas de sachá inchi 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 6**, indica que existe diferencias altamente significativas entre los tratamientos, una media de 18 %,

coeficiente de determinación (R^2) de 96 % y un coeficiente de variabilidad (C.V.) de 7,46%.

Tabla 6

*Análisis de Varianza para el contenido de clorofila de las hojas de sachá inchi., 60 d.d.i con *M. incognita*.*

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	475,54	6	79,26	44,27	<0,0001
Repeticiones	2,72	2	1,36	0,76	0,4896
Error	21,49	12	1,79		
Total	499,75	20			

* = Altamente Significativo $\bar{X} = 18$ $R^2 = 96 \%$ $CV = 7,46 \%$

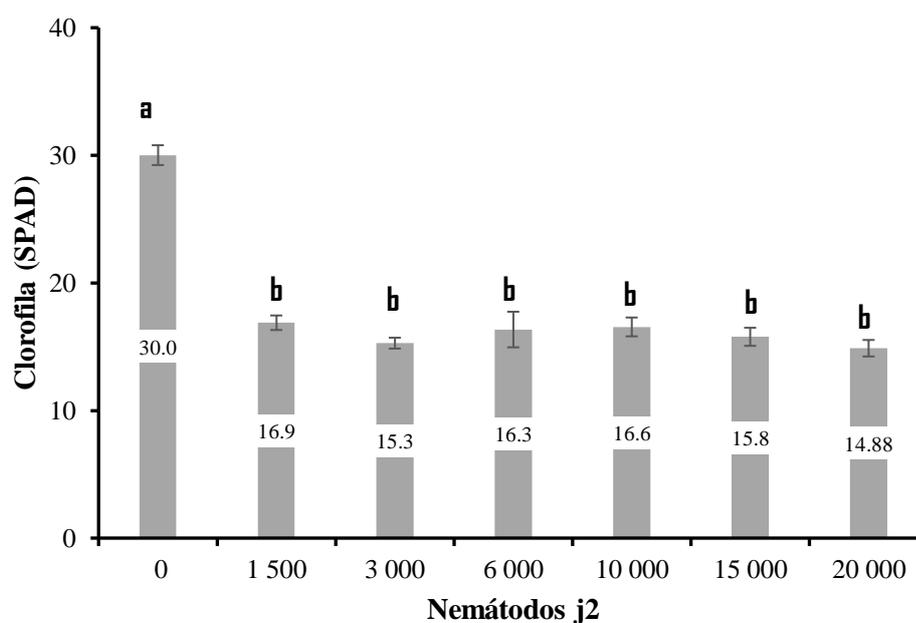


Gráfico 3: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el contenido de clorofila en hojas de sachá inchi 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, (T° media de $30^{\circ}C$ y HR de 75%).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (**Gráfico 3**) muestra que el tratamiento **T0** (testigo) fue el que presentó mayor contenido de clorofila respecto al resto de tratamientos (30%), estadísticamente diferentes al resto de tratamientos que fueron infestados con *M. incognita*.

Los resultados se puede evidenciar que el contenido de clorofila se ve notablemente reducido por efecto ya sea directo o indirecto del parasitismo de *Meloidogyne incognita* independientemente de la población inicial presente en el suelo y que logre infestar la planta, la actividad fotosintética será reducida.

Investigadores como Poskuta et al., (1986), menciona que la reducción en la función fotosintética obedece, entre otras razones, a la reducción del área foliar, a una menor concentración de clorofila como consecuencia del déficit de N (Melakerberhan et al., 1985) y a la reducción de las tasas de intercambio gaseoso como consecuencia del estrés hídrico y alteraciones en la función estomática normal (Fatemy et al., 1985; Saeed et al., 1997). Podemos afirmar con estos resultados, que este parámetro sería el más importante y efectivo para determinar el daño de raíces y tal vez la forma más adecuada de diagnosticar ataques tempranos de *Meloidogyne incognita* en sachá inchi.

3.1.2. Número de hojas por planta

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para el número de hojas por planta de sachá inchi a los 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 7**, indica que existe diferencias altamente significativas entre tratamientos, con una media de 25,4 hojas/planta, coeficiente de determinación (R^2) de 98 % y coeficiente de variabilidad (C.V.) de 5,82%.

Tabla 7: Análisis de Varianza número de hojas por planta de sachá inchi, 60 d.d.i con *M. incognita*.

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	1 329,72	6	221,62	100,27	<0,0001
Repeticiones	3,72	2	1,86	0,84	0,4551
Error	26,52	12	2,21		
Total	1 359,96	20			

** = Altamente Significativo \bar{X} = 25,4 R^2 = 98 % CV = 5,82 %

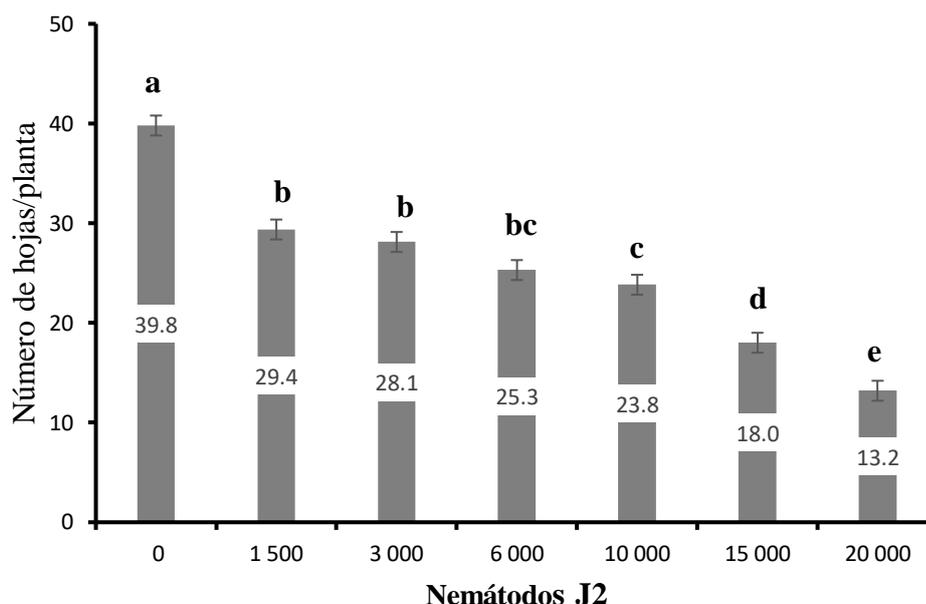


Gráfico 4: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el número de hojas por planta de sachá inchi 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (**Gráfico 4**) muestra que el tratamiento **T0** (testigo) presentó mayor número de hojas con respecto al resto de tratamientos con un promedio de 39,8 hojas/planta. Se observó **T5** (15 000 J2) con 18 hojas /planta y **T6** (20 000 J2) con un promedio de 13,2 hojas/planta, fue el que más afectado resultó por efecto del parasitismo del *Meloidogyne incognita*, tal como se puede evidenciar en la figura 21, entonces podemos deducir que el efecto del parasitismo de *M. incognita* en plantas de sachá inchi a 60 días después de la infestación directa y proporcional a la densidad de *M. incognita* en plantas de sachá inchi causa defoliación y que a medida que la población inicial aumenta la diferencia es más notable; tal como; como lo menciona Agrios, 2004 y Talavera et. al., 1999. donde concluyen que las plantas infestadas por *Meloidogyne sp.*, 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 atrofan reduciendo la producción. Por otro lado Taylor y Sasser, (1983) mencionan que la deformación en las raíces y su ineficiencia causan un desarrollo limitado; con una menor cantidad de hojas, las cuales son pequeñas y de color verde pálido o amarillento; se observa marchitez y otros síntomas propios de la deficiencia de agua y nutrientes, aun cuando éstos abundan en el suelo

3.1.3. Área foliar

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para el área foliar de las plantas de sachá inchi 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 8**, indica que existe diferencias altamente significativas entre tratamientos, con una media de 24,6 cm², con coeficiente de determinación (R²) de 99 % y coeficiente de variabilidad (C.V.) de 6,47 %.

Tabla 8

Análisis de Varianza para el Área foliar Cm² de las plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con M. incognita en condiciones de vivero.

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	3 497,35	6	582,89	232,67	<0,0001
Repeticiones	5,6	2	2,8	1,12	0,3586
Error	30,06	12	2,51		
Total	3 533,01	20			

** = Altamente Significativo $\bar{X} = 24,6$ $R^2 = 99 \%$ $CV = 6,47 \%$

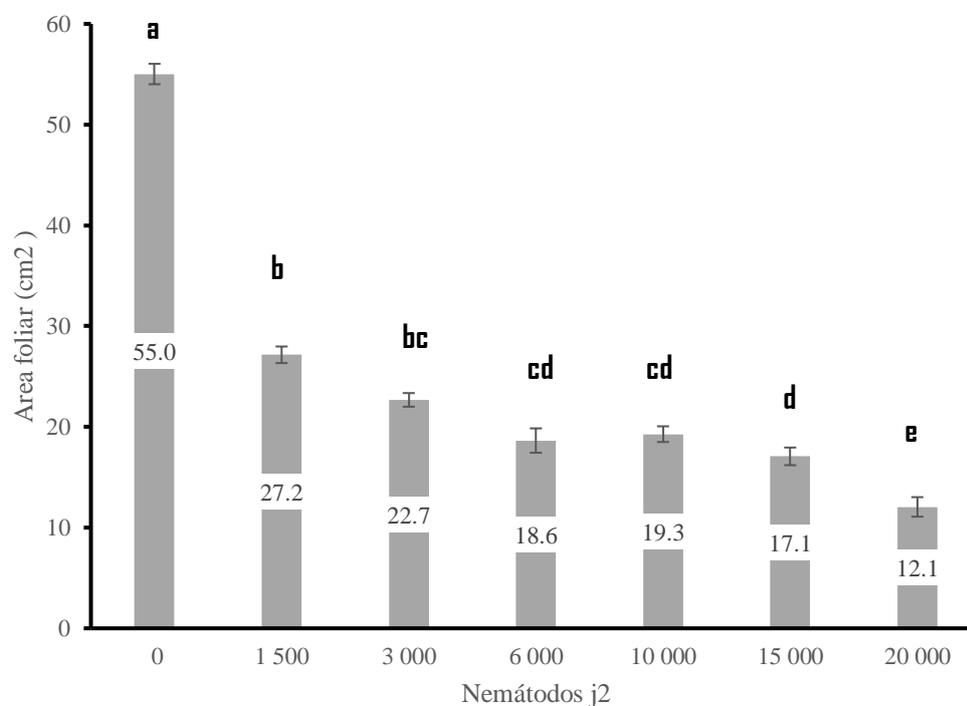


Gráfico 5: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el Área foliar de las plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p<0,05$) (**Gráfico 5**) muestra que el tratamiento **T0** (testigo) fue el que presentó mayor área foliar respecto, al resto de tratamientos (55 cm^2). Los tratamientos más afectados fueron **T5** (15 000 J2) con $17,1 \text{ cm}^2$ y **T6** (20 000 J2) con un promedio de $12,1 \text{ cm}^2$, tal como se puede evidenciar en la figura 20 donde se observa que las hojas pequeñas y alargadas con características de algunas deficiencias nutricionales completamente diferente a las hojas producidas por plantas del testigo.

Meloidogyne incognita en plantas de sacha inchi reduce notablemente el área foliar haciéndose más notable a medida que la población inicial y la infección aumenta este parámetro es más notorio y el daño aumenta; esto es corroborado por Nico, A (2002), donde menciona, que las tasas de crecimiento de la planta en general o de algún órgano diferente al de la cosecha disminuyen en toda ocasión que exista parasitismo.

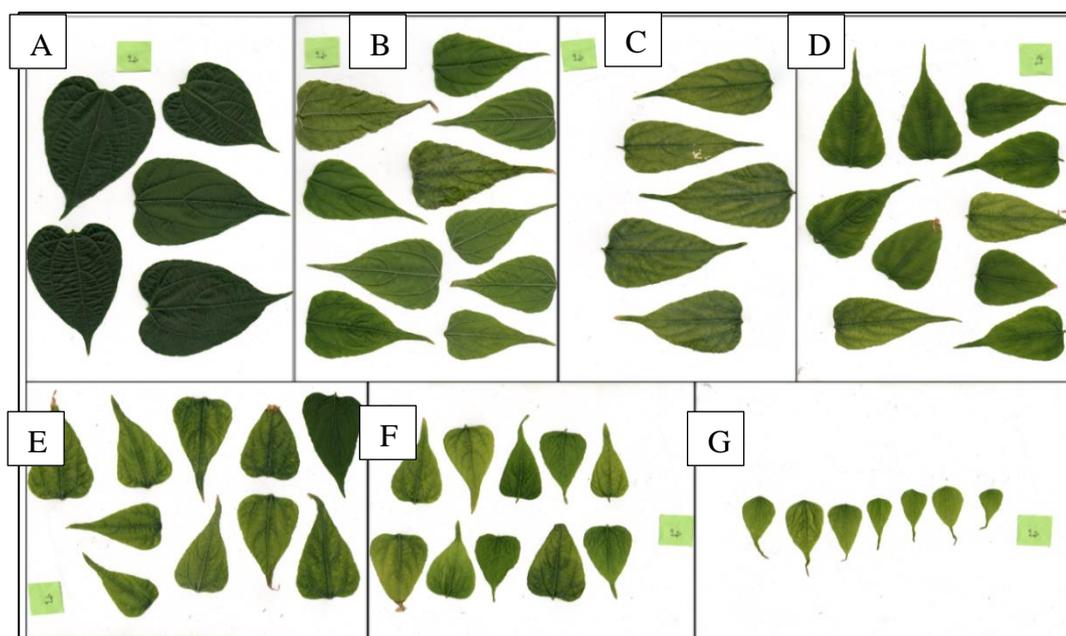


Figura 20: Características de los síntomas causados por *M. incognita* en las hojas según Tratamiento **A:** Testigo, **B:** 1 500 J2, **C:** 3 000 J2, **D:** 6000 J2, **E:** 10 000 J2, **F:** 15 000 J2 y **G:** 20 000 J2.

3.1.4. Peso fresco de la parte aérea

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para el peso fresco de la parte aérea de las plantas de sacha inchi a los 60 d.d.i, el cual se muestra en el **tabla 9**, indica que existe diferencias altamente significativas entre tratamientos, con una media

de 10,9 g, con un coeficiente de determinación (R^2) de 99 % y un coeficiente de variabilidad (C.V.) de 6,68 %.

Tabla 9

*Análisis de Varianza para el peso fresco de la parte aérea de plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero.*

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	496,67	6	82,78	155,41	<0,0001
Repeticiones	9,95	2	4,97	9,34	0,0036
Error	6,39	12	0,53		
Total	513	20			

** = Altamente Significativo $R^2 = 99\%$ CV = 6,68% $\bar{X} = 10,9$ g

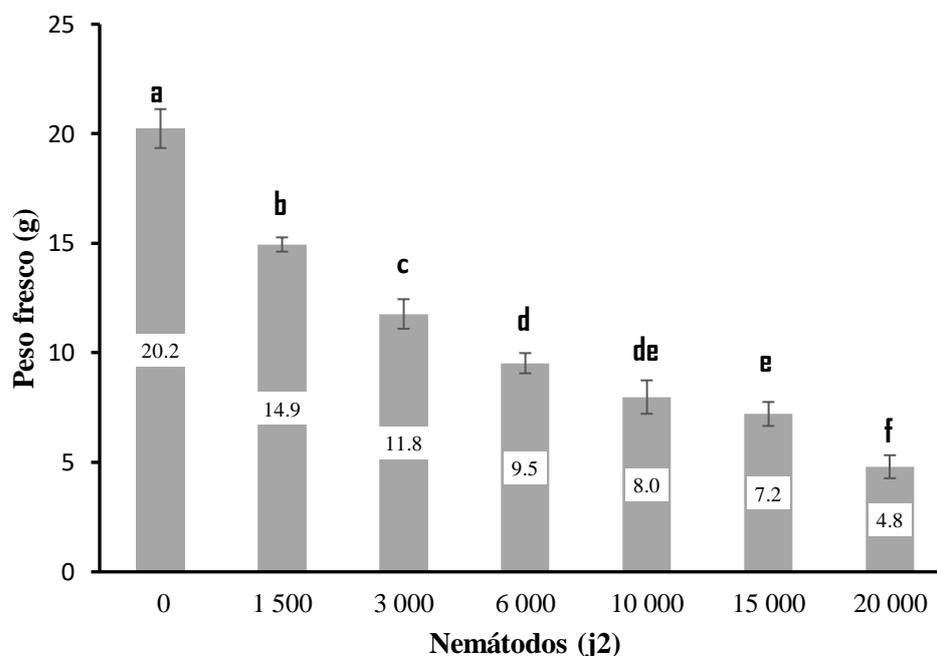


Gráfico 6: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el peso fresco aéreo de plantas de sachá inchi a 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (**Gráfico 6**) muestra que el tratamiento **T0** (testigo) fue el que presentó el mayor peso fresco con respecto al resto de tratamientos que fueron inoculados con diferentes densidades de juveniles infectivos (J2) de *Meloidogyne incognita*, pues presenta un promedio de 20,2 g, estadísticamente

diferente al resto de tratamientos como el **T1** (1 500 J2) con 14,9 g , **T2** (3 000 J2) con 11,8g , seguidos del tratamiento **T3** (6 000 J2) 9,5 g y **T4** (10 000 J2) 8 g y **T5** (15 000 J2) 7,2 g estadísticamente iguales. El **T6** (20 000 J2) con un promedio de 4,8 gr/planta fue el que resulto más afectado; por efecto del parasitismo del *Meloidogyne incognita*, esto se debe a que los nemátodos atacaron el sistema radicular de la planta impidiendo que las plantas logren absorber de manera eficiente agua y los nutrientes que necesita para realizar los procesos bioquímicos; estos resultados concuerdan, con el estudio realizado en la inoculación de ‘Ascolano’ y ‘Manzanillo’ con *M. incognita* determinó que las plantas mostraran un peso fresco final en la parte aérea inferior respecto a los controles no inoculados (Lamberti y Baines, 1969)

3.1.5. Peso seco de la parte aérea

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para el peso seco aéreo de las plantas de sachá inchi a los 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 10**, indica que existe diferencias altamente significativas entre tratamientos, mostrando una media de 2,20 g, con un coeficiente de determinación (R^2) de 99 % y un coeficiente de variabilidad (C.V.) de 5,57 %.

Tabla 10

Análisis de Varianza de para el peso seco de la parte aérea de las plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con M. incognita en condiciones de vivero.

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	21,27	6	3,54	224,06	<0,0001
Repeticiones	0,28	2	0,14	8,77	0,0045
Error	0,19	12	0,02		
Total	21,74	20			

** = Altamente Significativo \bar{X} = 2,20 g R^2 = 99 % CV = 5,71 %

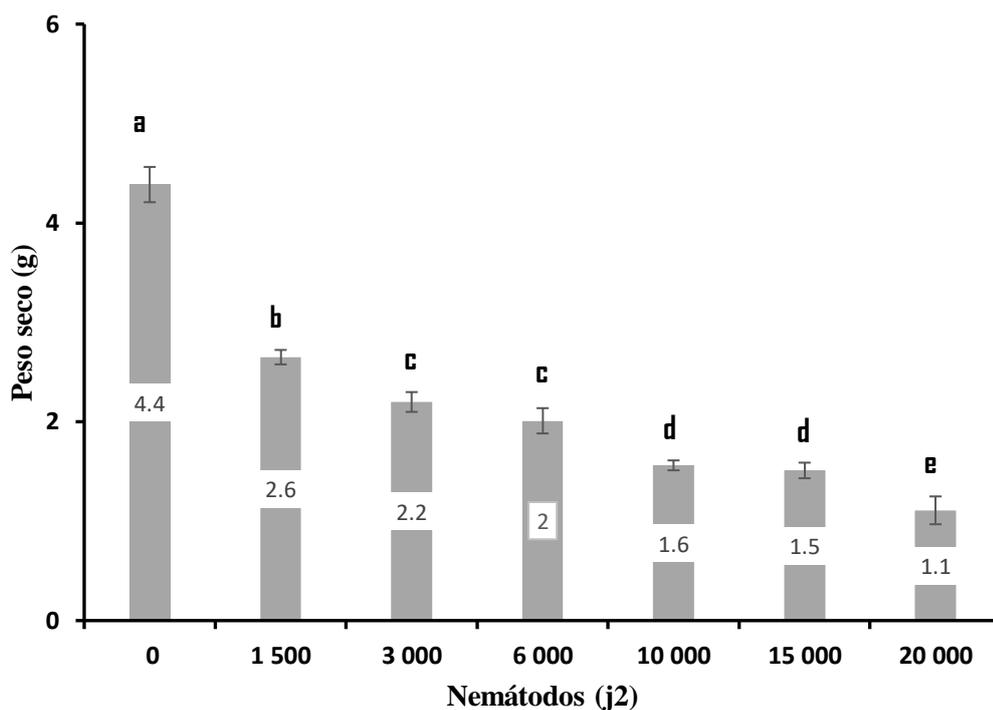


Gráfico 7: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el peso seco aéreo de plantas de sachu inchi 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (**Gráfico 7**) muestra que el tratamiento **T0** (testigo) fue el que presentó el mayor peso seco aéreo en comparación con el resto de los tratamientos que fueron inoculados con diferentes densidades de juveniles infectivos (J2) de *Meloidogyne incognita*, (4,4 g/planta). El tratamiento **T6** (20 000 J2) con un promedio de 1,1 gr/planta fue el que resultó más dañado; por efecto del parasitismo del *Meloidogyne incognita*, donde se demuestra que a medida que se incrementa la densidad poblacional de nemátodos por gramo de suelo el contenido de materia seca de las plantas va disminuyendo, esto se debe a que una planta que presenta problemas de nemátodos en la raíz no crece de manera óptima sus órganos principales tales como hojas que están directamente relacionadas con el proceso fotosintético y la producción de savia elaborada de las plantas tal como menciona Melakerberhan y Webster (1993) indican que una menor ganancia de materia seca en plantas infectadas puede deberse a una menor fotosíntesis neta, a una alteración en la relación fisiológica normal entre procesos anabólicos y catabólicos (fundamentalmente fotosíntesis y respiración), a una derivación de los fotosintatos para la satisfacción de las necesidades metabólicas de los organismos parásitos o a un efecto combinado de estos fenómenos.

3.1.6. Peso fresco de raíz

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para el peso fresco radicular de las plantas de sachá inchi a los 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 11**, indica que existe diferencias altamente significativas entre tratamientos, con una media de 6,26 g; con un coeficiente de determinación (R^2) de 93 % y un coeficiente de variabilidad (C.V.) de 4,99 %.

Tabla 11

*Análisis de Varianza del peso fresco de raíces de plantas de sachá inchi a los 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero.*

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	16,63	6	2,77	28,43	<0,0001
Repeticiones	0,09	2	0,05	0,49	0,6262
Error	1,17	12	0,1		
Total	17,89	20			

** = Altamente Significativo \bar{X} = 6,26 g R^2 = 93 % CV = 4,99 %

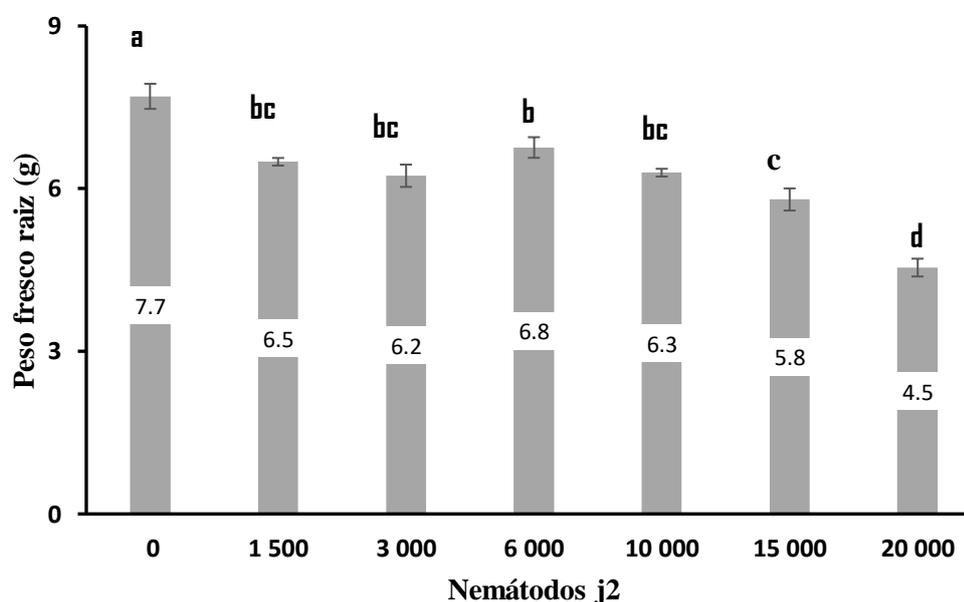


Gráfico 8: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el peso fresco radicular de las plantas de sachá inchi 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (**Gráfico 8**) muestra que el tratamiento **T0** (testigo) presentó el mayor peso radicular (7,7 g/planta) a diferencia

del resto tratamientos que fueron inoculados con diferentes densidades de juveniles infectivos (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Los tratamientos afectados, es decir; que se redujo el peso radicular en comparación con el testigo fue tratamiento **T5** (15 000 J2) 5,8 g y el tratamiento **T6** (20 000 J2) con un promedio de 4,5 g/planta; el efecto del parasitismo del *Meloidogyne incognita*, muestra que a medida que se incrementa la densidad poblacional de nemátodos por gramo de suelo el peso y desarrollo de las raíces es afectado, las plantas infestadas presentaron agallas en la raíces, impidiendo así la emisión de nuevas raíces y desarrollo de las mismas. Las plantas sin infestar presentaron raíces sin agallas, con gran cantidad de raíces secundarias activas y pelos adsorbentes y en pleno desarrollo tal como se logra apreciar en la figura 23.

Con la evaluación de este parámetro podemos concluir que el peso de la raíz también fue afectado por el parasitismo de nemátodos del tipo *Meloidogyne incognita*, con frecuencia se asume que las infecciones por *Meloidogyne* spp. deberían provocar un incremento en el peso de la raíz con respecto a plantas no infectadas, debido a que provocan sobre la misma un síntoma hiperplásico ; sin embargo, la respuesta en esta planta huésped no presenta ese comportamiento, tal como se han observado reducciones significativas respecto a los controles en el peso de raíces infectadas por *Meloidogyne* spp. en melocotonero (Huettel y Hammerschlag, 1993). Y como afirman Perry y Wesemael, (2008), que a mayor daño del nemátodo se presenta un mayor número de nódulos lo que se traduce en un mayor peso radicular.

3.3. Parámetros de respuesta del hospedante al nemátodo *M. incognita*

3.3.1. Grado de infestación

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para el grado de infestación de en las raíces de las plantas de sachu inchi 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 12**, indica que existe diferencias altamente significativas entre tratamientos, con una media de 5,53 %, coeficiente de determinación (R²) de 98 % y coeficiente de variabilidad (C.V.) de 5,23 %.

Tabla 12

Análisis de Varianza para el grado de infestación en las raíces de plantas de sachá inchi, 60 D.D.I con M. incognita en condiciones de vivero.

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	162,83	6	27,14	323,51	<0,0001
Repeticiones	0,05	2	0,02	0,28	0,7619
Error	1,01	12	0,08		
Total	163,89	20			

** = Altamente Significativo $\bar{X} = 5,53$ $R^2 = 98 \%$ $CV = 5,23 \%$

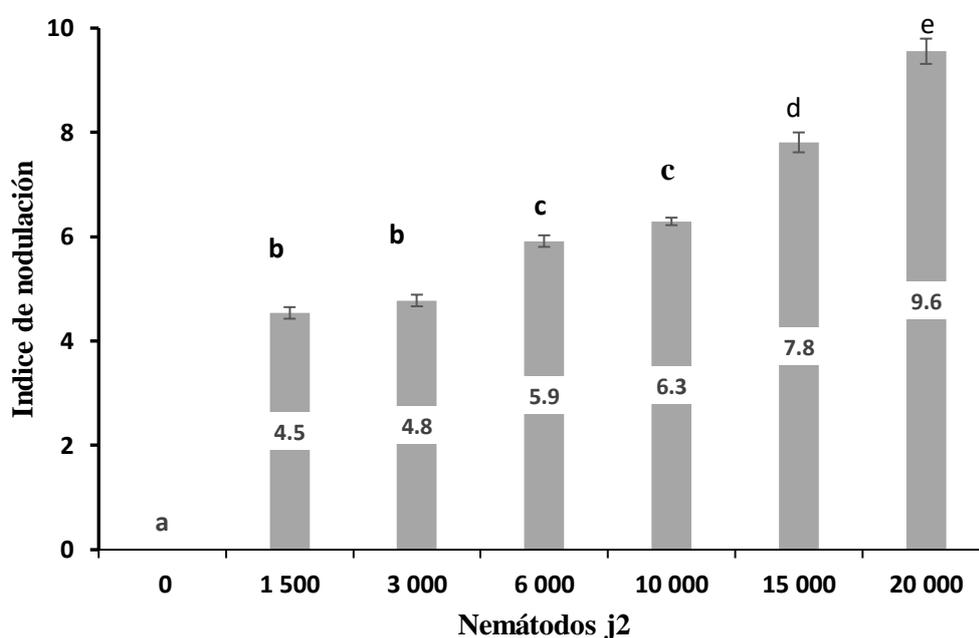


Gráfico 9: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el índice de nodulación en plantas de sachá inchi 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero (T° media de 30°C y HR de 75%)

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (**Gráfico 9**) muestra que el tratamiento **T0** (testigo) presenta un índice de nodulación 0 significativamente diferente al resto de tratamientos inoculados con diferentes densidades de juveniles infectivos (J2) de *Meloidogyne incognita*,

Los tratamientos más afectados, es decir; que presentaron mayor índice de nodulación según la escala Bridge y Page (1980), fue el tratamiento **T5** (15 000 J2) 7,8 y el tratamiento **T6** (20 000 J2) con un promedio de 9,6 por efecto del parasitismo del *Meloidogyne incognita*, este parámetro tiene una relación directa con las escalas de

nodulación, es decir que a menor población de J2 en suelo se relaciona con un menor daño en la raíz expresado con la presencia de mayor número de agallas; tal como se logra observar en la figura 21, algunas alteraciones anatómicas causadas directamente por el parasitismo son la presencia de agallas, algunos de estos visibles a simple vista exponiéndose en el sistema radicular como respuesta al daño mecánico directo que los nemátodos ejercen en las raíces de la papa; mientras que de manera indirecta genera la reducción en la absorción de nutrientes minerales que obedece fundamentalmente a que la superficie activa se ve reducida, también hace que disminuya la emisión de raíces laterales y la elongación de las ya existentes.

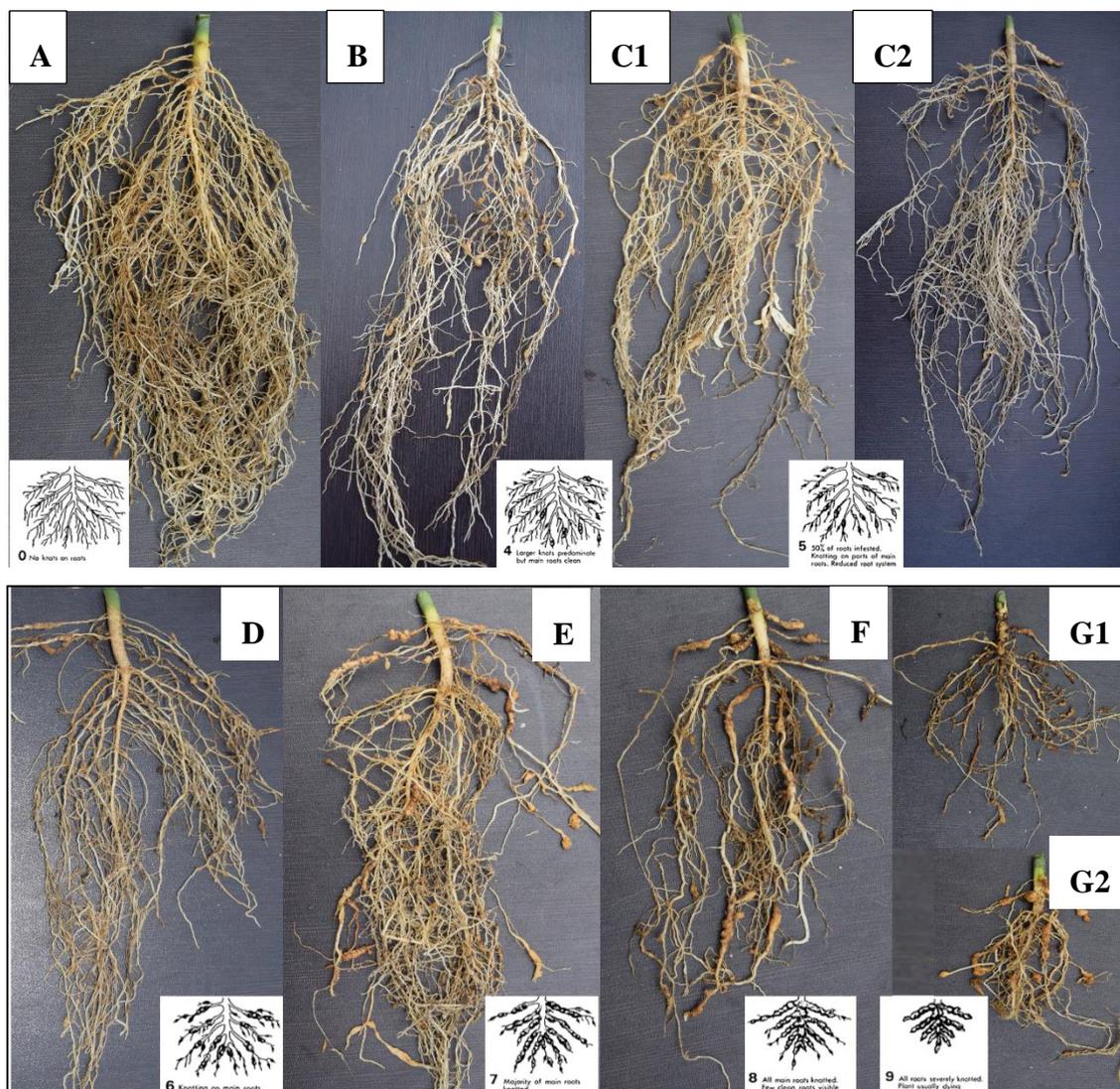


Figura 21. Especies Índice de nodulación de los tratamientos en estudio según la escala visual del índice de nodulación (Bridge y Page 1980). A (Testigo); índice 0, sin presencia de nódulos en las raíces. B (1500 J2); índice 4, predominan los nódulos grandes en las raíces principales. C₁ y C₂ (300 J2); índice 5, 50% del sistema radicular con nódulos y reducido. D (6000 J2); índice 6, la mayoría de las raíces con nódulos. E (10 000 J2); índice 7, la mayoría de las raíces principales con nódulos. F (15 000 J2); índice 8, todas las raíces principales con nódulos, pocas raíces limpias. G₁ y G₂ (20 000 J2); índice 9, todo el sistema radicular severamente nodulado, planta usualmente muriendo.

3.2.2. Población final de *M. incognita*.

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para la población final de *M. incognita* en las raíces de las plantas de sachá inchi 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 14**, indica que existe diferencias altamente significativas entre tratamientos, mostrando una media de 96 714,3 nemátodos, coeficiente de determinación (R²) de 99 % y coeficiente de variabilidad (C.V.) de 5,4 %.

Tabla 13

Análisis de Varianza para la población final de nemátodos en las planta de sachá inchi 60 D.D.I con M. incognita en condiciones de vivero.

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	39574073859	6	6595678976	318,81	<0,0001
Repeticiones	33526239,11	2	16763119,55	0,81	0,4677
Error	248262876,7	12	20688573,05		
Total	39855862974	20			

** = Altamente Significativo

\bar{X} = 96714,3 nemátodos

R² = 99 %

CV = 5,4 %

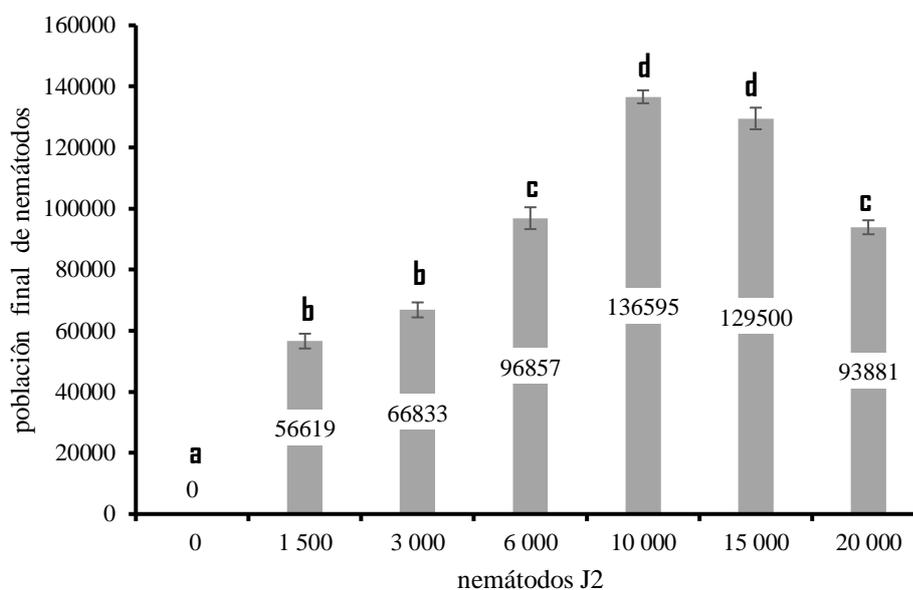


Gráfico 10: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la población final de nemátodos de *M. incognita* en las plantas de sachá inchi 60 D.D.I en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).

El análisis de comparación de medias Tukey ($p < 0,05$) (**Gráfico 10**), para el número de nemátodos en la raíz de plantas infestadas con J2, muestra que el tratamiento **T0** (testigo) presenta una población final de 0, libre de nemátodos significativamente diferente al resto de tratamientos inoculados con diferentes densidades de juveniles infectivos (J2) de *Meloidogyne incognita*. Los tratamientos que presentaron mayor número de nemátodos por raíz estadísticamente iguales fueron el **T4** (10 000 J2), con un promedio de 136 595 nemátodos y **T5** (15 000 J2) con un promedio de 129 500 nemátodos. El tratamiento infestado con la mayor densidad de nemátodos **T6** (20 000 J2) muestra un decrecimiento poblacional (93 881 nemátodos) a los 60 d.d.i probablemente debido a la falta de alimento ocasionado por la alta competencia a inicios de la infección.

Aquí podemos decir que posiblemente igual que el parámetro anterior que la población final en raíz por planta depende directamente del crecimiento de la raíces, es decir; disponibilidad de alimento e interacción con la población inicial con la que se infesto ya que de esa manera los J2 ubicaran con más rapidez el punto de infección, el parasitismo de *M. incognita* produce ausencia de raíces secundarias o muy escasas, casi todo el sistemas radicular con nódulos es decir ya no había más lugares para que se dé la infección y por ende existió un alto porcentaje de mortandad de nematos y así se evitó crear nuevos ciclos de reproducción y nuevas generaciones de nemátodos, tal como lo afirma Jones y Perry, citado por Trudgill y Phillips (1997); lo cual, menciona a que en poblaciones muy altas, por competencia en la invasión y por sitios de alimentación, puede ocurrir mortalidad de individuos y, de esta forma, haya reducción en su multiplicación.

3.2.3. Tasa de reproducción de *M. incognita*

El resultado de análisis de varianza (ANVA) al 5% de error, para la tasa reproducción de *Meloidogyne incognita* en plantas de sachá inchi 60 d.d.i, mostrado en la **tabla 15**, indica que existe diferencias altamente significativas entre tratamientos, mostrando una media de 16 nemátodos, con un coeficiente de determinación (R²) de 99 % y un coeficiente de variabilidad (C.V.) de 8,33 %.

Tabla 14

Análisis de Varianza para la tasa de reproducción de M. incognita en plantas de sachu inchi a los 60 D.D.I en condiciones de vivero.

F. Variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	3312,66	6	552,11	307,9	<0,0001
Repeticiones	2,88	2	1,44	0,8	0,4712
Error	21,52	12	1,79		
Total	3337,05	20			

** = Altamente Significativo $\bar{X} = 16$ $R^2 = 99 \%$ $CV = 8,33 \%$

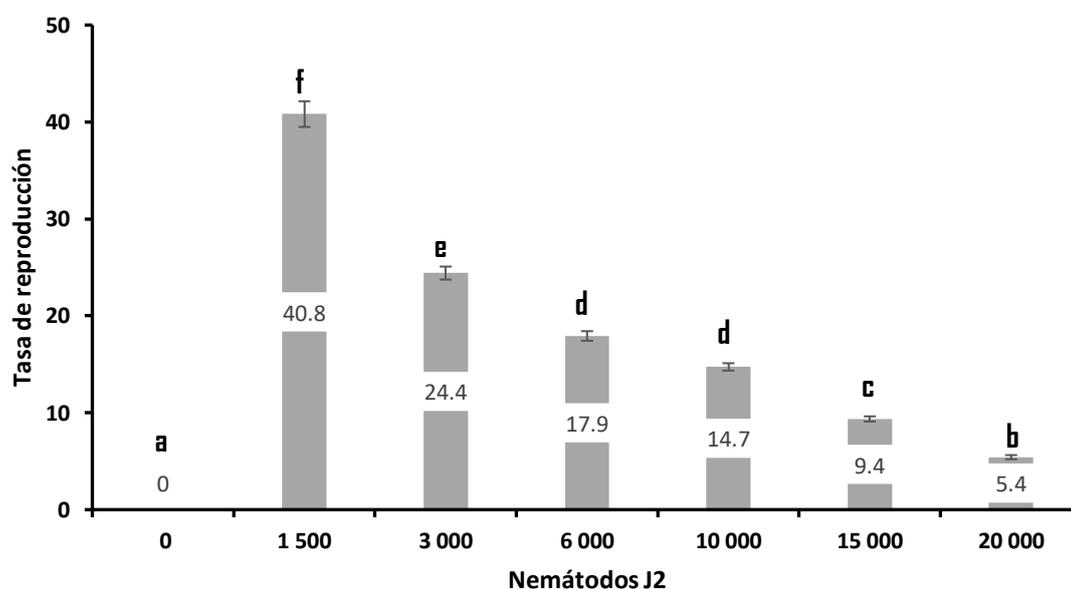


Gráfico 11: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la tasa de reproducción de *M. incognita* en plantas de sachu inchi 60 D.D.I con *M. incognita* en condiciones de vivero, (T° media de 30°C y HR de 75%).

El análisis de comparación de medias Tukey ($p < 0,012$) (**Gráfico 11**), la tasa o índice de reproducción de *Meloidogyne incognita*, muestra que el tratamiento **T0** (testigo), no presenta factor de reproducción ya que no se infestaron con nemátodos, es decir; la población inicial fue 0, significativamente diferente al resto de tratamientos inoculados con diferentes densidades de juveniles infectivos (J2) de *M. incognita*. El tratamiento que presentó el mayor tasa de reproducción fue el **T5** (15 000 J2) con 9,4 y finalmente el **T6** (20 000 J2) con 5,4 fue el que obtuvo el menor índice de reproducción. Como se puede

apreciar todos los tratamientos son estadísticamente diferentes y a medida que la población inicial de nemátodos aumenta el factor de reproducción disminuye; es decir, que ha menor población inicial el índice de reproducción es más alto estos datos concuerdan con estudios realizados en patrones susceptibles de *Prunus* spp., la capacidad reproductiva de *M. incognita* y *M. arenaria*, alcanzó valores superiores a 10 (Marull et al., 1991). Asimismo, en algunos frutales y a partir de poblaciones iniciales muy bajas (0,25 nemátodos por cm³ de suelo) se obtuvieron tasas de reproducción aún más altas; *M. incognita* alcanzó en kiwi, *Actinidia deliciosa*, un factor de reproducción cercano a 60 (Di Vito, et al., 1988) y *M. arenaria* alcanzó en morera blanca, *Morus alba* L., un valor cercano a 435 (Castillo, et al., 2001). Por lo tanto lo cual se podemos afirmar que en poblaciones muy altas, por competencia en la invasión y por sitios de alimentación, puede ocurrir mortalidad de individuos y, por ende, haya reducción en su multiplicación; esto de acuerdo a estudios de nemátodos sedentarios realizados por Jones y Perry, citado por Trudgill y Phillips (1997). Esto es corroborado por Khan, *et al.*, (1986), quien muestra que una población inicial alta causa una desaceleración en el incremento poblacional de *Meloidogyne*, argumentando que la disminución en la tasa de crecimiento poblacional se debe principalmente a la competencia intraespecífica de este organismo, la disponibilidad de espacio y el acceso a alimento, estos factores pueden afectar el patosistema patógeno-hospedero, creando condiciones adversas para el desarrollo de las poblaciones de *Meloidogyne* sp.

CONCLUSIONES

Según el análisis morfológico de los cortes perineales obtenidos en este estudio, la especie de nemátodo de género *Meloidogyne*, asociado al sistema radicular del cultivo de *Plukenetia volubilis* L., en la Región San Martín es *Meloidogyne incognita*.

Los resultados obtenidos la capacidad patogénica de *Meloidogyne incognita* en plantas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), en condiciones de vivero se ve reflejada es la reducción de altura, área foliar, número de hojas por planta, contenido de clorofila, peso fresco y seco del follaje además la reducción de masa radicular con respecto a las plantas (testigo) que no fueron inoculadas con *Meloidogyne incognita*.

- El sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), como respuesta al daño directo de *Meloidogyne incognita* causado en las raíces da como resultado un alto grado de infestación, es decir a mayor densidad poblacional de nemátodo el sistema radicular presentó mayor daño relacionado directamente con la población inicial del nematodos presente el suelo; dañando el sistema radicular afectando así la adsorción de agua y nutrientes ; impidiendo de esta manera la plantas absorban de manera óptima nutrientes y agua para el desarrollo eficiente de procesos bioquímicos que la planta desarrolla.

RECOMENDACIONES

- Los resultados obtenidos pueden ser tomados como base para el manejo integrado de *Meloidogyne incógnita* en el cultivo de sachá inchi y también para realizar otras investigaciones, por lo tanto es importante realizar prospecciones para el biocontrol de esta plaga.
- Realizar la confirmación de esta especie identificada en este estudio involucrando caracterización molecular, además ampliar la diferenciación con la evaluación y análisis de otras características morfológicas.
- Hacer análisis nematológicos en los campos donde se va a cultivar sachá inchi u otro cultivo susceptible a este patógeno; para evaluar la población inicial y según estos resultados generar un plan de manejo que permita reducir el futuros daños a las plantaciones, por que como se puede deducir en este trabajo que en poblaciones bajas la tasa de reproducción es muy alta, y como se trata de un cultivo perenne el daño no es significativo en los primeros meses y año a año se incrementa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. (2004). Plant Pathology. Fifth edition. Department of Plant Pathology, University of Florida. Florida, USA. 945 p.
- Agrios, G. (1995) “Fitopatología”. Pág: 734 – 745. Editor UTEHA; 2º Edición; Balderas - México 1995
- Andrade, L.; y Calderón, A. (2009). Manual de producción de Sacha Inchi para el biocomercio y la agroforestería sostenible. Proyecto Perú biodiverso – Pág. 5- 51.
- Arévalo, G. (1996). El cultivo de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*. L) en la amazonia. Instituto Nacional de Investigación Agraria. INIA. Lima Perú.
- Brack, A. (1999). *Plukenetia volubilis* L. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. PNUD. Cuzco – Perú. 550 p.
- Bridge, J. y Starr, J. (2007). Plant Nematodes of Agricultural Importance. Academic Press. Boston, EE.UU. 146 p.
- Cachique, D. (2006). Sistema de producción y mejoramiento genético de Sacha Inchi en San Martín. En: IIAP, Memoria Institucional 2006 (pp. 51-52). Loreto: IIAP.
- Calram S.A.C. Análisis y Recomendaciones de la Cadena de Valor de Sacha Inchi en la Región San Martín. Perú biodiverso. 2007. Lima, Perú.
- Castro Sánchez, M. M. (2012). Tolerancia del Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.), A Nemátodos fitoparásitos del Género *Meloidogyne* sp, bajo condiciones de Invernadero en la Estación Experimental Agraria “El Porvenir”- Juan Guerra. Universidad Nacional de San Martín.
- Coyne D, Nicol JM, (2007). Claudius-Cole B. Nematología práctica: Una guía de campo y laboratorio. 2da Edición, SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Cotonou, Benin. 82pp. (Versión Traducida por S. Verdejo-Lucas).
- Di Vito, M., Vovlas, N. y Simeone, A. M. (1988) Effect of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on the growth of kiwi (*Actinidia deliciosa*) in pots. Adv. Hort. Sci. 2:109-112.

- Eisenback, D., H. Hirschmann, J. Sasser y A. Triantaphyllou. (1981). Guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.). Plant Pathology and Genetics North Carolina State University and the United States Agency for International Development. Raleigh, North Carolina. pp. 321-348.
- Eisenback, J. D., H. Hirschmann, and A. C. Triantaphyllou. (1985). Morphological Comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. *J. Nematol.* 12:300-313.
- Fatemy, F., Trinder, K. E., Wingfield, J. N. y Evans, K. (1985) Effects of *Globodera rostochiensis*, water stress and exogenous abscisic acid on stomatal function and water use of Cara and Pentland Dell potato plants. *Rev. Nematol.* 8:249-255.
- Gallusser, J. S. (2005). Identificación de Muestras Botánicas del Género *Plukenetia* (Euphorbiaceae). Informe Final de Consultoría. AMC N° 012-2004/INIA-E.E.POV/CEP. Sub-Proyecto. Identificación de Material Promisorio, Recuperación Y Recolección de Germoplasma de *Plukenetia volúbilis* L. (Sacha Inchi). Co-Financiado por el Proyecto INCAGRO. Editorial Cordillera. 2da Edición. Tarapoto-Perú.
- Gaviola, J.C. (2013). Manual de producción de zanahoria. Capítulo 6. Plagas de la zanahoria y su manejo. INTA, Argentina. 152p.
- Gobierno Regional San Martín (Goresam). (2015). Plan de Desarrollo Regional Agrario San Martín 2016- 2021. Tarapoto.
- Gómez, M.E.J. (2004). Monografía y cultivo de Sacha Inchi, oleaginosas promisorias para la diversificación productiva en el trópico. Corporación Colombiana de Investigación agropecuaria CORPOICA. Primera edición.
- Guerrero, J. (2006). Investigaciones Realizadas del Sacha Inchi en San Martín. Perú. : Facultad de Ciencias Agrarias –UNSM.
- Hamaker, B. R., et ál. (1992). Perfiles de aminoácidos y ácidos grasos del «maní del inca» (*Plukenetia volúbilis* L.). Fayetteville, AR: Universidad de Arkansas.
- Hazen, y Duclos. (1980). Guidelines for the establishment and operation of vegetable oil factors. . Cornell University. E.E.U.U.

- Huettel, R. N. y Hammerschlag, F. A. (1993) Response of peach scion cultivars and roots to *Meloidogyne incognita* in vitro and in microplots. *J. Nematol.* 25:472-475.
- Hussey, R. S., & Barker, K. R. (1973). Comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* sp., including a new technique. *Plant disease reporter*.
- Instituto Nacional De Investigaciones Agrícolas (INIA), (2008). Resultados Consolidados de cosecha frutos de sacha inchi en el Departamento y Provincia de San Martín Distrito de Juan Guerra. San Martín-Perú. Editorial Cordillera. Edición III. San Martín-Perú.
- Jepson, S. (1983). Identification of *Meloidogyne*: a general assessment and a comparison of male morphology using light microscopy, with a key to 24 species. (En línea). *Nématol.* 6 (2). Consultado 2 mayo. 2017. Disponible en: http://horizon.documentation.ird.fr/exldoc/pleins_textes/pleins_textes_5/pt5/nematol/15585.pdf
- Kumar, S. (2009). Morphological and molecular characterization of root-knot nematode (*Meloidogyne* sp.) diversity in Fiji. Thesis MSc in Biology. University of the South Pacific. 119 p.
- Lamberti, F. y Baines, R. C. (1969). Pathogenicity of four species of *Meloidogyne* on three varieties of olive trees *J. Nematol.*
- Leiva, J.L (2009). “Evaluación del hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia*, en el control del nemátodo del nudo *Meloidogyne* sp, en el cultivo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) bajo condiciones de vivero.
- Manco, C. (2005). Instituto Nacional de Investigación y Extensión agraria. Dirección de Investigación Agraria. Subdirección de Recursos Genéticos Y Biotecnología Estación Experimental Agraria “El Porvenir”. Editorial Madriguera. II Edición. Juan Guerra - Tarapoto. Pág.8.
- Marquez. K, j. Cayotopa, e. Arevalo, u. Vivanco y j. Arevalo. (2007); “Diagnóstico y Niveles de Inóculo del Nemátodo que afecta a la Raíz de sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en Perú, Fitopatología”; N° 02, Volumen 42; Pág. 52 – 53.

- Martínez de Ilarduya, O., Moore, A. E., and Kaloshian, I. (2001). The tomato Rme1 locus is required for Mi-1-mediated resistance to root-knot nematodes and the potato aphid. *Plant J.* 27:417-425.
- Melakerberhan, H. y Webster, J. M. (1993) The phenology of plant-nematode interaction and yield loss. pp 26-41. En: *Nematode interactions* (Khan, M.W., ed.) Chapman & Hall, New York.
- Melakerberhan, H., Webster, J. M. y Brooke, R. C. (1985) The influence of *Meloidogyne incognita* on growth, nutrient content and physiology of *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant. Pathol.* 26:259-268.
- Nico, A. (2002). Incidencia y patogenicidad de nemátodos fitopatógenos en plantones de olivo (*Olea europea* L.) en viveros de Andalucía y estrategias para su control. Tesis Grado de Doctor. Córdoba, España. Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales ETSIAM, Universidad de Córdoba. Instituto de Agricultura Sostenible CSIC. 291 p.
- Nima, J.E. (2007). Estudio sobre sistematización de avances de investigación y propuesta de un modelo productivo competitivo para la Producción de Sacha Inchi en la Región San Martín. Gobierno regional de San Martín DIRCETUR. Moyobamba, Perú. Pág.1-51.
- Perry, R y Moens, M. (2009). *Root-Knot Nematodes*. First edition. CABI. London, United Kingdom.
- Poskuta, J. W., Dropkin, V. H. y Nelson, C. J. (1986) Photosynthesis, photorespiration, and respiration of soybean after infection with root nematodes. *Photosynthetica* 20:405-410.
- Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., De Wever A., Nieuwerkerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds. (2017). *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life*, 29th May 2017. Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858.

- Shapiama, (2008). Diagnóstico poblacional de nemátodos fitoparásitos en el cultivo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la región San Martín. Universidad Nacional de San Martín. Perú.
- Shurtleff, M. C. and C. W. Averre (2000). Diagnosing plant disease caused by plant parasitic nematodes. The American Phytopathological Society.
- Sidhu, G. S. y Webster, J. M. (1981) the genetics of plant-nematode parasitic systems. Bot. Rev.47:387-419.
- Talavera, M., Magunacelaya, J. C. y Tobar, A. (1999) Plant parasitic nematodes from a forest tree nursery in southern Spain with some notes about the influence of soil storage on the quantitative recovery of *Meloidogyne arenaria*. Nematology 1:261-266.
- Tasso, H.M.O., La Serna, H.V.M., Ventura, M.A.J.; Córdova, S.R., Castillo, S.A.M. (2013). Boletín técnico, cultivo de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Ministerio de Agricultura de Competitividad Agraria. Lima, Perú.
- Taylor, A. y Sasser, J. (1983). Biología, identificación y control de los nemátodos de nódulo de la raíz (especies de *Meloidogyne*). Departamento de Fitopatología de la Universidad del Estado de Carolina del Norte y la Agencia de Estados Unidos para el Desarrollo Internacional. 108 p.
- Tovar, A. (1994). Especies y razas de *Meloidogyne* en papa en una localidad de Guadalupe Victoria, (Puebla) y su comportamiento en cinco variedades. Tesis de maestría. Colegio de Posgraduados, Montecillos, México. 73 p
- Triantaphyllou, A.C. (1962). Oogénesis in the Root-Knot nematode *Meloidogyne javanica*. Nematológica 7. Pag105- 113.
- Wang, Y. Xie, H. D. Cui, and Y. Dong (2014). First Report of *Meloidogyne javanica* on Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) in China. Plant Disease. Vol 98. pag.165.

ANEXOS

A) Características morfológicas de las plantas de sachá incho 21 después de la siembra.

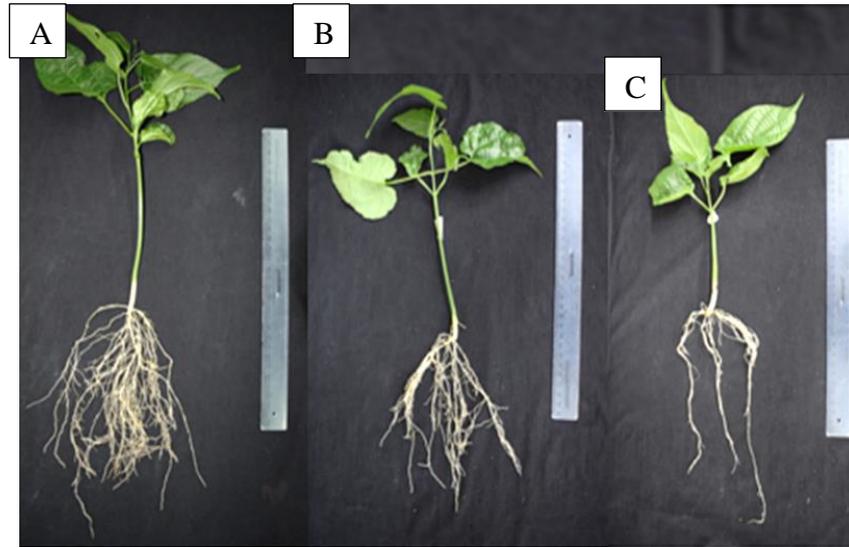


Figura 22 A (plantas aptas para ser infestada), B y C (plantas pequeñas descartadas para la infestación por presentar pobre desarrollo radicular)