

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EVALUACIÓN DE FORMULACIONES DE RIZOBACTERIAS
SOBRE EL PARASITISMO DE NEMÁTODOS EN VIDES SOBRE
SUELO NATURALMENTE INFESTADO**

PÍA CONSTANZA CORREA URIBE

Santiago, Chile
2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EVALUACIÓN DE FORMULACIONES DE RIZOBACTERIAS
SOBRE EL PARASITISMO DE NEMÁTODOS EN VIDES SOBRE
SUELO NATURALMENTE INFESTADO**

**EVALUATION OF FORMULATED RHIZOBACTERIA ON THE
PARASITISM OF NEMATODES ON VINES IN NATURALLY
INFESTED SOIL**

PÍA CONSTANZA CORREA URIBE

Santiago, Chile
2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**EVALUACIÓN DE FORMULACIONES DE RIZOBACTERIAS
SOBRE EL PARASITISMO DE NEMÁTODOS EN VIDES SOBRE
SUELO NATURALMENTE INFESTADO**

Memoria para optar al Título Profesional de: Ingeniera Agrónoma

PÍA CONSTANZA CORREA URIBE

PROFESOR GUÍA	Calificaciones
Sr. Erwin Aballay E. Ingeniero Agrónomo, M. S. Ph. D.	6,8
PROFESORES EVALUADORES	
Sr. José Luis Henríquez S. Ingeniero Agrónomo, M. S. Ph. D.	6,5
Sr. Herman Silva R. Prof. de Biología y Ciencias, Mg. Sc. Dr.	6,3

Santiago, Chile
2016

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer a mis padres por todo el apoyo que me han brindado, por su paciencia y contención durante los momentos duros que viví en mi vida universitaria, por permitirme estudiar sin tener que endeudarme y por darme los valores que hoy me constituyen como persona.

A Felipe, por ser el mejor compañero que la vida pudo haberme dado. Por su completa dedicación, por su ayuda incondicional desde el establecimiento del ensayo hasta las últimas correcciones de los borradores. Por toda su paciencia y amor infinitos, sin los cuales todo esto no tendría sentido.

A mi profesor guía Erwin Aballay, por darme la oportunidad de trabajar con él y por su buena disposición y acogida en todo momento. También quisiera agradecer al profesor José Luís Henríquez, por dejarme siempre una puerta abierta para responder mis dudas y por incentivar-me a aprender y realizar un buen trabajo.

A todos los integrantes del Laboratorio de Nematología, que me abrieron las puertas como una familia. A Silvia, Camila, Karla, Jacobo e Ignacio, que me enseñaron y guiaron durante el desarrollo de mi investigación. A Giselle y Jorge, por su ayuda y buena disposición. A Carlos por su constante alegría y motivación que se me contagiaron en los momentos más cansadores de las evaluaciones.

A Simona, por los conocimientos que me transmitió durante mi investigación, por su paciencia, entrega, contención y palabras de aliento en momentos dolorosos de este proceso.

A Luis y Marcelo, porque además de ser grandes amigos, siempre entregaron su compromiso y dedicación para corregir mis escritos y tuvieron paciencia con mis inseguridades académicas.

A Catalina, María José y Tania, por su contención, complicidad y compañía. Por ser de las mejores personas y amigas que conocí en la universidad.

A todos los amigos que gané en Antumapu y que no dejaron de creer en mí, dándome siempre ánimos para salir adelante.

Finalmente, quisiera agradecer a todos aquellos que pasaron por mi vida durante estos años de formación, los que siguen y los que ya no están. Gracias por ser parte de mi vida y por todos los recuerdos que me llevo al final de este camino.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
Hipótesis:.....	5
Objetivo:.....	5
MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
Lugar de estudio.....	6
Tratamientos.....	6
Trasplante y aplicación.....	8
Evaluaciones.....	9
Análisis nematológico.....	10
Número de lesiones.....	11
Diseño experimental y análisis estadístico.....	11
RESULTADOS.....	13
Efecto de los tratamientos sobre la densidad poblacional de la especie <i>Xiphinema index</i>	13
Efecto sobre los daños provocados por la especie <i>Xiphinema index</i>	15
Efecto sobre la densidad poblacional de nemátodos del género <i>Meloidogyne</i>	17
Efecto sobre daños provocados por nemátodos del género <i>Meloidogyne</i>	19
Peso fresco aéreo y radical.....	21
DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIONES.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	28
APÉNDICE.....	33

RESUMEN

En Chile, los nemátodos fitoparásitos constituyen uno de los principales problemas sanitarios que enfrenta el cultivo de la vid (*Vitis vinífera* L.). Su control se realiza mediante el uso de nematicidas químicos altamente tóxicos, los cuales generan problemas medioambientales, como la contaminación del suelo de napas subterráneas. Pese a que existen otras alternativas para estos productos, tales como portainjertos resistentes, enmiendas orgánicas y control biológico, no han sido implementados de forma masiva en el país debido a que no existe un desarrollo importante de ellos. Una alternativa de gran potencial es el uso de rizobacterias, las cuales ejercen un efecto antagónico sobre los nemátodos a través de diversos mecanismos de acción. El objetivo de este estudio fue comparar la efectividad de dos formulaciones en base a mezclas de diferentes cepas de rizobacterias en plantas francas de vid cv. Cabernet Sauvignon establecidas sobre suelo naturalmente infestado. Para ello se realizó un ensayo en macetas bajo sombreadero, utilizando suelo proveniente de una viña en la localidad de Casablanca, el cual se encontraba infestado con nemátodos del género *Meloidogyne* y de la especie *Xiphinema index*. Se evaluaron tres mezclas de cepas en dos formatos de formulación (líquido y polvo), y como caldos o suspensiones bacterianas. Estas fueron comparadas con un nematicida comercial (Rugby® 200 CS, i.a. Cadusafos) y con un testigo absoluto donde solo se aplicó agua corriente. Los resultados obtenidos indicaron que las formulaciones fueron capaces de controlar las poblaciones y reducir daños de *X. index*, sin embargo, para el caso de *Meloidogyne* sólo controlaron poblaciones y no fueron capaces de reducir daños con respecto al testigo absoluto ($p < 0,05$). Cabe mencionar que no se detectó algún efecto sobre el crecimiento de las plantas. Con el presente estudio es posible determinar que las formulaciones en base a mezclas de rizobacterias ejercen un control efectivo sobre poblaciones y daños de nemátodos fitoparásitos en vid vinífera, pudiendo llegar a obtener resultados similares a un nematicida comercial.

Palabras clave: control biológico, *Meloidogyne*, nemátodos fitoparásitos, rizobacterias, *Xiphinema index*.

ABSTRACT

In Chile, plant-parasitic nematodes are one of the main phytosanitary problems that affect vineyards (*Vitis vinifera* L.). The control of this pest is carried out by the use of highly toxic chemical nematicides, which generate environmental problems, such as soil and groundwaters contamination. Although there are alternatives to these products, such as resistant rootstocks, organic amendments and biological control, they have not been implemented in a massive way in the country because there is no significant development of them. A high potential alternative of great potential is the use of rhizobacteria, which perform an antagonistic effect on nematodes through several mechanisms of action. The objective of this study was to compare the effectiveness of two formulations based on mixtures of different strains of rhizobacteria in non-grafted vines of cv. Cabernet Sauvignon, which were established on naturally infested soil. This was done by a potting test under shade using soil from a vineyard in Casablanca, which was infested with nematodes of the genus *Meloidogyne* and the species *X. index*. Three mixtures of rhizobacterial strains were evaluated as formulations in two formats (liquid and powder) and also as bacterial broths or suspensions. These were compared with a commercial nematicide (Rugby ® 200 CS, a.i. Cadusafos) and with an absolute control where only potable water was applied. The results indicated that the formulations controlled populations and reduced *X. index* damage. However, in *Meloidogyne* case, they only controlled populations, but did not reduce plant damage in regard to the absolute control ($p < 0.05$). It should be mentioned that no effect was detected on plant growth. Based on the present study was possible to determine that the rhizobacteria formulations generate an effective control over populations and plant damage of plant-parasitic nematodes, being able to reach similar results to a commercial nematicide.

Key words: biological control, *Meloidogyne*, plant-parasitic nematodes, rhizobacteria, *Xiphinema index*.

INTRODUCCIÓN

En Chile el cultivo de la vid (*Vitis vinifera* L.) es de gran importancia económica. Éste se encuentra distribuido desde la Región de Atacama hasta la Región de Los Lagos, abarcando una superficie total de 198.019 hectáreas, dentro de las cuales un 74% tiene como finalidad la producción de vino y pisco, mientras que el 26% restante se destina a la producción de uva de mesa (Buzzetti y Banfi, 2016). En el año 2015 las exportaciones de vino y pisco alcanzaron un volumen en conjunto de 887.449 litros, los cuales reportaron ingresos de 1.883 millones de dólares (Buzzetti y Banfi, 2016). Junto con esto, la uva de mesa fue la fruta más exportada por el país en 2015, con 751.039 toneladas, las cuales generaron ingresos de 1.324 millones de dólares, correspondientes a un 34% de los ingresos por exportación de fruta fresca (Muñoz, 2016). Los principales destinos para uva (de mesa y bebidas alcohólicas) han sido Estados Unidos, Reino Unido, Japón, China y Europa, entre otros (Buzzetti y Banfi, 2016; Muñoz, 2016).

Chile presenta condiciones ideales para el desarrollo de este cultivo, dentro de las cuales predominan: factores edafoclimáticos tales como, gran variabilidad de suelos y microclimas, que permiten el desarrollo de una amplia gama de variedades. Así también, existen menores problemas fitosanitarios en relación a otros países productores, como la ausencia de filoxera (*Daktilosphaera vitifoliae* Fitch), plaga de la vid más importante a nivel global, permitiendo que parte considerable de la superficie cultivada no esté injertada. Sin embargo, una de las principales problemáticas que enfrenta este cultivo corresponde al daño ocasionado por infestaciones de nemátodos fitoparásitos. Estos organismos pertenecen al reino animal y, están descritos como organismos pseudocelomados microscópicos similares a gusanos no segmentados, filiformes o con forma de hilo. Pueden encontrarse en casi todos los hábitats como parásitos de plantas y animales, pero la mayor parte son acuáticos de vida libre (Perry y Moens, 2006). Para el caso de la vid, los géneros de mayor importancia son *Xiphinema*, *Meloidogyne*, *Mesocriconema* (en especial *M. xenoplax* (Raski) Loof and Grisse), y *Tylenchulus*, debido a que el 100% de la superficie con viñedos en la zona central de Chile presenta algún grado de infestación por uno o más de estos géneros (Aballay et al., 2009).

Estos fitoparásitos ocasionan un daño directo en las plantas por medio de su alimentación, a través de la cual consumen parte de los compuestos producidos en la fotosíntesis y dañan las raíces interfiriendo en su capacidad para absorber agua y nutrientes. Además se produce un daño secundario debido al ingreso de otros microorganismos patógenos, como hongos y bacterias, por medio de las heridas causadas en la raíz al alimentarse. Lo anterior se traduce en un escaso crecimiento y desarrollo de las plantas, junto con pérdida de vigor, llegando a causar la muerte en variedades sensibles (Aballay et al., 2009; Pastenes et al., 2001). También son transmisores de virus, en el caso de *Xiphinema index* (Thorne and Allen), que se caracteriza por ser vector natural de Grapevine fanleaf virus (GFLV) y se encuentra presente en todas las regiones productoras de vid en Chile (Fiore et al., 2008).

El control de estas plagas se realiza principalmente con nematicidas químicos organofosforados y carbamatos, cuyo mecanismo de acción consiste en la inhibición de la enzima acetil-colinesterasa, lo que impide la repolarización de las membranas neuronales, generando una interrupción de los impulsos nerviosos que desencadenará en la muerte del organismo. La vida media de estos productos depende de la actividad de los microorganismos del suelo, la humedad y el pH, siendo más rápida su degradación en suelos alcalinos (Perry y Moens, 2006). Estos productos tienen como desventaja su alta toxicidad, implicando un riesgo importante al momento de realizar la aplicación. Además, generan problemas residuales y contaminación de suelo y aguas subterráneas. Por lo tanto, es conveniente implementar nuevas formas de control que fomenten el desarrollo sustentable y que persistan en el tiempo sin generar daños al medio ambiente.

En la actualidad, existen distintas opciones para manejar la presencia de nemátodos fitoparásitos, además del control químico, dentro de las cuales cabe mencionar el uso de portainjertos resistentes (Aballay y Montedónico, 2001), productos en base a quitosano (Radwan et al., 2012) y control biológico (p.e. *Paecilomyces lilacinus* (Thom)) (Yang et al., 2010), entre otros. Dentro de esta última categoría se presenta como una alternativa promisoriosa el uso de rizobacterias, descritas como microorganismos que se encuentran en la rizósfera de plantas establecidas en suelos supresivos o con baja infestación de nemátodos (Kloepper et al., 1991). Estas ejercen una acción antagonica sobre los nemátodos fitoparásitos mediante la producción de toxinas (Dong et al., 2006), interferencia en el reconocimiento del hospedero y producción de enzimas (p.e. quitinasas) (Tian et al., 2007). La efectividad de estos microorganismos para disminuir la densidad poblacional de nemátodos ha sido evaluada a través de diversas investigaciones realizadas en cultivos de tomate, lenteja, arroz y cucurbitáceas, centrándose principalmente en el control de endoparásitos tales como *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood) (Akhtar and Panwar, 2012; Burkett et al., 2008) y *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood (Siddiqui et al., 2002; Siddiqui et al., 2007). También se han realizado evaluaciones sobre ectoparásitos del género *Trichodorus* (Insunza et al., 2002).

Particularmente en Chile el uso de alternativas biológicas es escaso, debido a que no existe un desarrollo importante de productos de este tipo. Sin embargo, se han realizado estudios con el fin de identificar y evaluar cepas nativas de rizobacterias, aisladas a partir de plantas de *V. vinifera*, establecidas en la zona central del país. En ellos se determinó la existencia de cepas con el potencial para ser utilizadas en programas de control biológico que contemplen la reducción de densidad poblacional y del daño directo ocasionado por las especies *Xiphinema index* (Aballay et al., 2011; Aballay et al., 2012) y *Meloidogyne ethiopica* (Ordenes, 2012).

Sin embargo, previo a la integración de las rizobacterias en programas de control biológico, se deben realizar pruebas en condiciones similares al campo. Además, no es factible realizar aplicaciones directas de estos microorganismos en caldos nutritivos o bien en un medio de cultivo ya que, son soluciones de compleja obtención y de fácil contaminación.

Por lo tanto, es necesario desarrollar un producto que favorezca la sobrevivencia de los microorganismos y que sea de fácil aplicación para el productor (Nakkeeran et al., 2005). Junto con esto, también es conveniente considerar el uso de mezclas de rizobacterias, ya que según lo planteado por Raupach y Kloepper (1998), pueden generar mejores resultados en contraste con el uso de cepas individuales, debido a que “se asemeja más a las condiciones presentes en un suelo supresivo natural y se amplía el espectro de acción antagonica al ser una mezcla conformada por distintas cepas”. Además, al utilizar mezclas de microorganismos se puede “asegurar que al menos uno de los mecanismos de antagonismo ejercido por las cepas, pueda operar bajo las condiciones medioambientales variables que existen en el campo” (Nakkeeran et al., 2005).

En base a esta información se evaluó la efectividad de diferentes formulaciones, líquidas y en polvo, preparadas con mezclas de rizobacterias nativas seleccionadas a partir de los estudios de Aballay et al. (2012) y Ordenes (2012), sobre las poblaciones y daños causados por nemátodos fitoparásitos en plantas de vid establecidas en macetas con un suelo naturalmente infestado.

Hipótesis

Las formulaciones o formulados de rizobacterias en base a las cepas nativas seleccionadas presentan un efecto supresor sobre las poblaciones de nemátodos fitoparásitos, en vides establecidas sobre suelo naturalmente infestado.

Objetivo

Comparar la efectividad de dos formulaciones en base a diferentes cepas de rizobacterias en plantas francas de vid vinífera cv. Cabernet Sauvignon, establecidas en macetas sobre suelo naturalmente infestado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Nematología del Departamento de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicado en Av. Santa Rosa n° 11315, comuna de La Pintana, Santiago de Chile. El ensayo se extendió desde el mes de diciembre de 2013 hasta mayo de 2014.

Tratamientos

Las cepas de rizobacterias utilizadas en este trabajo provienen de la colección del Laboratorio de Nematología de la Universidad de Chile. Estas fueron previamente evaluadas en otros estudios por medio de ensayos *in vitro* e invernadero, donde presentaron resultados satisfactorios en el control de nemátodos fitoparásitos en vid (Aballay et al., 2012; Aballay et al., 2012; Castañeda, 2014 y Ordenes, 2012). Las cepas seleccionadas se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Cepas de rizobacterias seleccionadas para el estudio.

N°	Especie	Cepa
1	<i>Brevibacterium frigoritolerans</i>	FB37BR
2	<i>Bacillus megaterium</i>	FB133M
3	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	FB25M
4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	FR203A
5	<i>Bacillus thuringiensis</i>	FS213P
6	<i>Bacillus thuringiensis</i>	FB833T
7	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	FP805PU

Los tratamientos consistieron en formulaciones líquidas, en polvo y caldos bacterianos. Estos fueron preparados a partir de mezclas de rizobacterias compuestas por 3 – 4 cepas. (Cuadro 2). Las formulaciones utilizadas en este ensayo fueron elaboradas por la empresa Biogram a partir de las cepas entregadas por el Laboratorio de Nematología, mencionadas en el Cuadro 1. No se entregaron detalles de la composición química de las bases de las formulaciones (líquida y polvo) por secreto industrial.

Por otra parte, los caldos bacterianos se obtuvieron a partir de la multiplicación de las cepas en una solución estéril de TSB (Tryptic Soy Broth) para luego ser incubadas durante 24 horas en un agitador a 170 rpm. El caldo bacteriano obtenido fue centrifugado a 3.000 rpm por 15 minutos para la obtención de un pellet bacteriano (Johansson et al., 2003). Este pellet fue ajustado a una concentración final de 10^8 ufc mL⁻¹, en una solución isotónica de MgSO₄ 0,01M, la cual fue utilizada para la posterior inoculación de las plantas.

Por último, se utilizó un testigo químico (nematicida) correspondiente al producto Rugby[®] 200 CS (ingrediente activo: Cadusafos, organofosforado, formulación comercial 200 g L⁻¹, suspensión de microencapsulado) y un testigo absoluto donde solo se adicionó agua corriente a las macetas.

Cuadro 2. Esquema de tratamientos aplicados en el ensayo.

Tratamientos	Mezcla de cepas	Formulación
T1	<i>B. frigoritolerans</i> FB37BR, <i>B.</i>	Líquido
T2	<i>megaterium</i> FB133M, <i>B.</i>	Polvo
T3	<i>weihenstephanensis</i> FB25M, <i>B.</i>	Caldo bacteriano
	<i>thuringiensis</i> FB833T	
T4	<i>B. amyloliquefaciens</i> FR203A,	Líquido
T5	<i>B. thuringiensis</i> FS213P, <i>P.</i>	Polvo
T6	<i>fluorescens</i> FP805PU	Caldo bacteriano
T7	<i>B. frigoritolerans</i> FR37BR, <i>B.</i>	Líquido
T8	<i>weihenstephanensis</i> FB25M, <i>B.</i>	Polvo
T9	<i>thuringiensis</i> FS213P, <i>P.</i>	Caldo bacteriano
	<i>fluorescens</i> FP805PU	
Rugby [®] 200 CS ¹		Suspensión de microencapsulado
Testigo absoluto		

¹Nematicida químico empleado como control positivo.

El laboratorio de nematología realizó un ensayo simple entre las rizobacterias, con el fin de descartar algún tipo de incompatibilidad entre ellas. Para esto, cultivaron las cepas en placas Petri sobre un medio de agar y Tryptic Soy Broth al 75%. Su crecimiento se revisó cada 24 horas durante un periodo de 10 días. No detectaron indicios de incompatibilidad o inhibición entre las rizobacterias evaluadas ya que todas crecieron en las placas, sin embargo, la cepa de *Bacillus weihenstephanensis* FB25M, presentó dos particularidades, (1) fue capaz de colonizar más rápido el medio y (2) evitaba notoriamente las colonias de *Bacillus thuringiensis* FS213P y *B. thuringiensis* FB833T y en menor medida a la cepa de *Brevibacterium frigoritolerans* FB37BR (Figura 1), pero no detuvo su crecimiento.

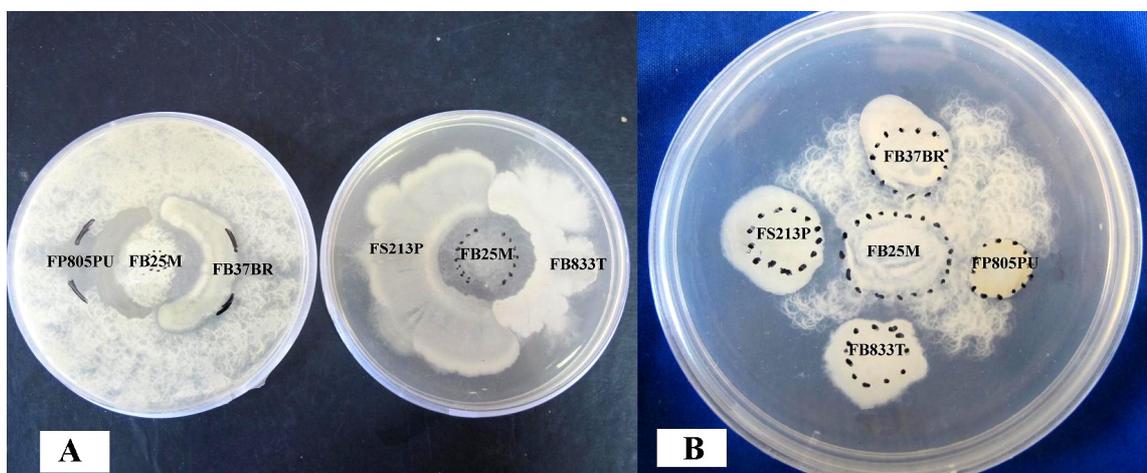


Figura 1. Prueba de compatibilidad entre bacterias. (A): Comportamiento de la cepa FB25M frente a diferentes cepas, (B): Compatibilidad de bacterias a las 72 horas.

Trasplante y aplicación

Se utilizaron plantas de vid vinífera de la variedad Cabernet Sauvignon obtenidas a partir de la propagación de sarmientos provenientes de plantas vigorosas de una viña ubicada en la comuna de Buin, Región Metropolitana, Chile.

En el mes de octubre de 2013, se establecieron sarmientos de 5 yemas en bandejas de 42,5 x 15 x 28 cm sobre sustrato de perlita, previamente autoclavada a 121°C por 30 minutos. Se dejaron 3 yemas en superficie y dos bajo el sustrato, a las cuales se les aplicó un enraizante en polvo (IBA (ácido indolbutírico) 0,15 g; captan 6 g; ingredientes inertes 100 g). Los riegos se efectuaron cada dos días con agua destilada hasta la aparición de raíces y luego fueron efectuados adicionándoles una solución nutritiva Hoagland una vez por semana.

En el mes de diciembre de 2013, se recolectaron aproximadamente 600 kg de suelo naturalmente infestado proveniente de un viñedo en la localidad de Casablanca, Región de Valparaíso. Este material fue utilizado como sustrato para las plantas, depositándose equitativamente en macetas de 5 L. Previo al trasplante, se tomaron muestras de 250 cm³ por cada maceta para determinar las poblaciones iniciales y especies de nemátodos presentes. El trasplante se realizó la tercera semana del mes de diciembre, seleccionando las plantas más uniformes en cuanto a peso y tamaño. Durante este proceso se llevó a cabo la aplicación de los tratamientos.

Fue necesario realizar las mezclas para cada tratamiento al momento de la aplicación, debido a que las siete cepas se entregaron de forma individual, en formato líquido y polvo por separado. Las formulaciones en base a polvo fueron preparadas mezclando 6 g de cada cepa, según la mezcla de cada tratamiento (Cuadro 2), con 6 L de agua destilada. Una vez homogenizada la mezcla se sumergieron en ella las raíces de 6 plantas durante 20 minutos y posteriormente se aplicó 1 L de ésta a cada maceta en el trasplante, ya que la aplicación de las rizobacterias a través de distintos sistemas de entrega, incrementa la carga poblacional de éstas en los sitios de acción (Nakkeeran et al., 2005).

Para la preparación de las formulaciones en base líquida se mezclaron 250 mL de cada cepa, según tratamiento, con agua destilada hasta llegar a un volumen de 6 L. Luego se repitió el procedimiento anterior, sumergiendo las raíces de 6 plantas en la mezcla por 20 minutos y finalmente aplicando 1 L de esta solución a cada maceta. Las diferencias en las cantidades a aplicar de cada cepa, según las bases de las formulaciones, quedaron determinadas en función de la concentración inicial y de la concentración final de 10^6 ufc mL^{-1} a la que se ajustó la mezcla. Luego, los caldos bacterianos se prepararon para la aplicación mezclando 250 mL de cada cepa, según tratamiento, con agua destilada hasta llegar a un volumen de 6 L, con el fin de ajustar la concentración final a 10^6 ufc mL^{-1} .

Finalmente el nematicida Rugby® 200 CS se aplicó tomando en cuenta la dosis recomendada (15 L ha^{-1}) y un marco de plantación supuesto de $1,5 \times 2 \text{ m}$, determinándose un volumen de 4,5 mL de producto para a cada planta. A partir de esto, se mezclaron 27 mL del nematicida en 6 L de agua y luego se aplicó 1 L de esta solución directamente a las macetas. Por otra parte, para el testigo absoluto se adicionó un litro de agua corriente a cada planta.

Las plantas se mantuvieron sobre mesones en un sombreadero cubierto con malla Raschel con un 30% de interceptación, a fin de evitar aumentos excesivos de temperatura. Cabe destacar que las temperaturas máximas y mínimas promedio durante el periodo de duración del ensayo (enero a mayo de 2014) se mantuvieron en un rango de $31,1^\circ\text{C}$ - $20,2^\circ\text{C}$ y $14,1^\circ\text{C}$ - $6,5^\circ\text{C}$ respectivamente.

Evaluaciones

Las evaluaciones se realizaron una vez transcurridos cinco meses del inicio del experimento, a partir del mes de mayo, luego de que todas las plantas entraron en receso. Se extrajo la parte aérea de cada planta, separando el crecimiento nuevo del tallo y pesando ambas estructuras por separado. Luego se retiraron las raíces de cada maceta, se lavaron con agua corriente y se secaron con papel absorbente para retirar el exceso de agua. Posteriormente se pesaron y se guardaron en bolsas plásticas rotuladas para su conservación en frío a 4°C .

Análisis nematológico

Se determinó la población inicial (P_i) y final (P_f) de nemátodos en el suelo a partir de muestras de 250 cm³ extraídas por maceta previo al establecimiento de las plantas y luego de terminado el ensayo. Éstas fueron evaluadas según el método descrito por Christie y Perry (1951), utilizando tamices de 850, 180, 75 y 45 μ m. Se separó el filtrado obtenido del tamiz de 180 μ m depositándolo sobre un filtro dentro de recipientes pequeños y luego se adicionó agua corriente hasta formarse una película de agua sobre éstos. Posteriormente, se dejaron decantar las muestras por 24 horas y se evaluaron 100 mL de cada recipiente para detectar la presencia de nemátodos de mayor tamaño, como por ejemplo los del género *Xiphinema*. El resto de las muestras filtradas hasta el tamiz de 45 μ m se depositaron en embudos de Baerman dejándolas filtrar por 48 horas. Una vez transcurrido este tiempo se contaron e identificaron los nemátodos presentes en 10 mL de filtrado. Ambas muestras se evaluaron en placas cuadrículadas con una lupa estereoscópica a 90X (Carl Zeiss, Stemi 200-C, Göttingen, Germany).

La identificación de los nemátodos presentes en el suelo se llevó a cabo mediante una caracterización morfológica de los estados móviles, destacándose la presencia de tres especies de gran importancia: *Xiphinema index* Thorne and Allen, *Meloidogyne ethiopica* Whitehead y *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. Éstas últimas, fueron previamente identificadas en el lugar de procedencia del suelo por el Laboratorio de Nematología y en esta investigación se evaluaron en conjunto como género *Meloidogyne*.

Para la cuantificación de nemátodos de la especie *Xiphinema index*, se consideraron todos los estados móviles presentes en las muestras ya que son individuos ectoparásitos, es decir, que desarrollan su ciclo de vida fuera de la raíz, por lo cual es posible encontrar tanto estados juveniles como adultos en el suelo. Por otro lado, en el caso de las especies del género *Meloidogyne*, se cuantificaron individuos J2 o segundo estado juvenil, ya que es el único estado móvil detectable en el suelo durante el ciclo de vida de los nemátodos pertenecientes a este género, los cuales a diferencia de la especie anterior, son endoparásitos sedentarios (Perry and Moens, 2006).

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre las poblaciones de nemátodos se consideró el nivel máximo de individuos tolerado en el suelo por plantas adultas en producción, siendo 200¹ individuos/ 250 cm³ de suelo para *Xiphinema index* y 250¹ J2/ 250 cm³ de suelo para nemátodos del género *Meloidogyne*, ya que si se superan estos parámetros poblacionales, se estará generando un daño irreversible en la planta y una merma importante en los rendimientos. También, se construyeron índices reproductivos (R) (Ecuación 1), donde valores inferiores a uno indican que la población decrece en el tiempo

¹ Aballay, E. Ing. Agrónomo, Ph.D. Nematólogo. Niveles máximos de daño en plantas de vid adultas. 2015, ago. [Comunicación personal] Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

(Oostenbrink, 1966). Por último, los valores obtenidos de R, se utilizaron para calcular porcentajes de control poblacional contrastando cada tratamiento con el testigo absoluto.

Ecuación 1:

$$R = \frac{P_f}{P_i}$$

donde:

R = índice reproductivo.

P_f = población final (nº nemátodos/250 cm³ suelo).

P_i = población inicial (nº nemátodos/250 cm³ suelo).

Número de lesiones

Para determinar los daños causados por los nemátodos presentes, se cuantificó el número de lesiones por gramo de raíz. Este parámetro fue medido mediante observación directa de las raíces previamente almacenadas, con una lupa estereoscópica a 50X (Carl Zeiss, Stemi 200-C, Göttingen, Germany). También, se calcularon los porcentajes de reducción de daños contrastando los resultados de cada tratamiento con el testigo absoluto.

Los daños característicos provocados por nemátodos del género *Xiphinema* en las raíces están descritos como necrosis, agallas en ápices de crecimiento y falta de crecimiento lateral (Perry and Moens, 2006). Para los efectos de este estudio se identificaron agallas o deformaciones en ápices, los cuales fueron expresados como número de lesiones por gramo de raíz.

El género *Meloidogyne* se caracteriza por producir agallas en las raíces producto de la alimentación de hembras (Magunacelaya y Dagnino, 1999), junto con masas de huevos, las que en ocasiones pueden encontrarse sobre las raíces sin estar asociados a agallas (Perry and Moens, 2006). Los daños de este género se cuantificaron como número de agallas por gramo de raíz.

Diseño experimental y análisis estadístico

El ensayo tuvo un diseño completamente aleatorizado con 11 tratamientos (Cuadro 2), compuestos por 3 formulaciones en polvo, 3 formulaciones líquidas y 3 caldos bacterianos basados en 3 mezclas de rizobacterias, además de un testigo químico y un testigo absoluto. Se realizaron 6 repeticiones por tratamiento y cada unidad experimental correspondió a una planta de vid establecida en una maceta de 5 L.

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía con el software estadístico InfoStat para la detección de diferencias entre tratamientos. Las medias fueron separadas utilizando la prueba LSD de Fischer ($p < 0,05$). Fue necesario normalizar los datos de daños (nº de lesiones/ g de raíz) y los Índices reproductivos (R) utilizando la transformación logarítmica ($\text{Log}(x)$). Sin embargo, para el caso de R, se utilizó la transformación logarítmica en la ecuación (Ecuación 2).

Ecuación 2:

$$R^* = \frac{\text{Ln}(P_f + 1)}{\text{Ln}(P_i + 1)}$$

donde:

P_f = población final (nº nemátodos/250 cm³ suelo).

P_i = población inicial (nº nemátodos/250 cm³ suelo).

R^* = índice reproductivo normalizado.

RESULTADOS

Efecto de los tratamientos sobre la densidad poblacional de *Xiphinema index*

La mayoría de las formulaciones y caldos bacterianos, ejercieron un efecto de control sobre las poblaciones de esta especie de nemátodos, en contraste con el testigo absoluto. A partir de los resultados presentados en el Cuadro 3, se puede observar que las poblaciones finales de todos los tratamientos se mantuvieron bajo el nivel máximo tolerado (200 individuos/250 cm³ de suelo) establecido para *X. index*. Además, las formulaciones líquidas (T1, T4 y T7), lograron disminuir significativamente sus índices reproductivos (R). Los dos primeros obtuvieron porcentajes de control, con respecto al testigo absoluto (R=2,83), sobre el 60%, mientras que T7 obtuvo un 46,5%. Los tres tratamientos fueron significativamente diferentes con ambos testigos (absoluto y químico), pero no entre sí.

Por otra parte, las formulaciones en polvo (T2, T5, T8) presentaron resultados contrastantes. El tratamiento 2 (R= 0,65) obtuvo un resultado similar al testigo químico (R= 0,5), alcanzando un 77,2% de control, el más alto dentro de los tratamientos compuestos por mezclas de rizobacterias. Junto con esto, fue el único, que logró reducir la población final de nemátodos con respecto a la inicial. Los tratamientos 5 y 8 no lograron diferencias significativas con el testigo absoluto, y particularmente T5, tuvo el mayor índice reproductivo de las formulaciones (R=3,4).

Al igual que en el caso de las formulaciones líquidas, los caldos bacterianos (T3, T6 y T9) no tuvieron diferencias significativas entre sí, sin embargo, el tratamiento 3 (R= 2) obtuvo un resultado similar al testigo absoluto ($p < 0,05$). Los tratamientos 6 y 9 fueron diferentes a ambos testigos y lograron un 60,2% y 43,8% de control, respectivamente. Cabe mencionar que los tratamientos 1, 4 y 6 no presentaron diferencias significativas con el tratamiento 2.

Cuadro 3. Índice reproductivo y poblaciones para *Xiphinema index*.

Tratamiento	Cepas	Formulado	N° individuos/250 cm ³ suelo		Índice reproductivo (R)	Porcentaje de control (%)
			Población inicial (P _i)	Población final (P _f)		
T1	<i>B. frigorigerans</i> FB37BR, <i>B. megaterium</i> FB133M,	Líquido	54	58,5	1,08 _{bc}	61,7
T2	<i>B. weihenstephanensis</i> FB25M, <i>B. thuringiensis</i> FB833T	Polvo	50,8	32,8	0,65 _{ab}	77,2
T3		Caldo bacteriano	21,3	42,6	2 _{cd}	29,4
T4	<i>B. amyloliquefaciens</i> FR203A,	Líquido	40,8	46,1	1,13 _{bc}	60,1
T5	<i>B. thuringiensis</i> FS213P, <i>P. fluorescens</i> FP805PU	Polvo	27	91,8	3,4 _e	0
T6		Caldo bacteriano	24,6	27,8	1,13 _{bc}	60,2
T7	<i>B. frigorigerans</i> FB37BR, <i>B. weihenstephanensis</i> FB25M, <i>B. thuringiensis</i> FS213P, <i>P. fluorescens</i> FP805PU	Líquido	36,1	54,8	1,51 _c	46,5
T8		Polvo	46,5	75,5	1,62 _{cd}	42,7
T9		Caldo bacteriano	42	66,8	1,59 _c	43,8
Testigo químico (Rugby® 200 CS)			38,8	19	0,5 _a	82,7
Testigo absoluto			38,3	109,5	2,83 _{de}	0

Los valores presentados corresponden a los promedios calculados en base a 6 repeticiones. Promedios con una letra en común no presentan diferencias significativas según prueba LSD de Fisher ($p < 0,05$).

Efecto sobre los daños provocados por *Xiphinema index*

Como se observa en la Figura 2, todas las formulaciones y caldos bacterianos fueron capaces de reducir el número de daños en relación al testigo absoluto ($p < 0,05$) y además, varios tratamientos tuvieron resultados similares al testigo químico. En el caso de las formulaciones líquidas (T1, T4 y T7) se observó que los tratamientos 1 y 7 no tuvieron diferencias entre sí, obteniendo 13,88 y 13,49 lesiones/g de raíz, respectivamente. El tratamiento 4, por otro lado, tuvo un resultado similar al testigo químico, con 7,89 lesiones/g de raíz, las cuales significaron un 76,6% de reducción de daños respecto al testigo absoluto.

Las formulaciones en polvo (T2, T5 y T8) también presentaron diferencias entre ellas. Los tratamientos 2 y 8 tuvieron resultados similares con el testigo químico ($p < 0,05$), alcanzando porcentajes de reducción de daños superiores al 70%. Por otro lado el tratamiento 5, presentó diferencias significativas con ambos tratamientos y con el testigo químico, además obtuvo uno de los mayores números de daños (15,69 lesiones/g de raíz) entre tratamientos con rizobacterias en su composición. No obstante, logró reducir los daños en un 40,3% con respecto al testigo absoluto. Por otro lado, no tuvo diferencias significativas con T1 y T7.

Por último, los caldos bacterianos (T3, T6 y T9), no fueron significativamente diferentes al testigo químico y entre sí. Los tratamientos 3 y 6 (9,81 y 9,95 lesiones/g de raíz, respectivamente) alcanzaron porcentajes de reducción sobre 62% y el tratamiento 9 (10,9 lesiones/g de raíz) fue capaz de reducir los daños en un 58,5%.

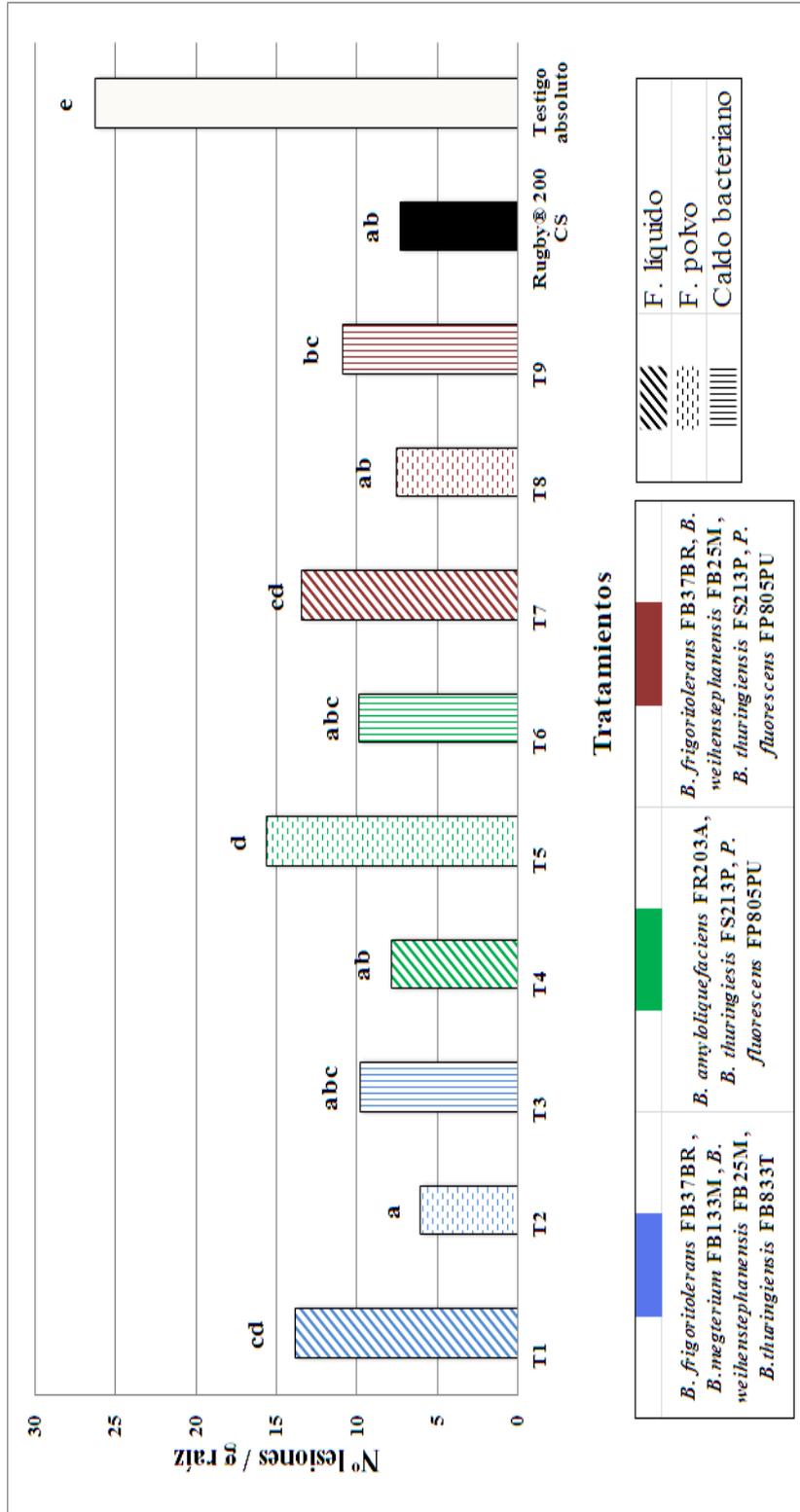


Figura 2. Número de lesiones por gramo de raíz de vid causadas por *Xiphinema index*. Promedios con una letra en común no presentan diferencias significativas según prueba LSD de Fischer ($p < 0,05$).

Efecto sobre la densidad poblacional de nemátodos del género *Meloidogyne*

Como se puede observar en el Cuadro 4, las poblaciones iniciales de éste género de nemátodos fueron mayores en comparación con las de *X. index*. Junto con esto, las poblaciones finales de los tratamientos 2, 3 y 5, superaron el nivel máximo tolerado de nemátodos en el suelo establecido para éste género (250 J2/ 250 cm³ de suelo). No obstante, solo T2 (R= 4,26) (formulado en polvo) no redujo las poblaciones respecto del testigo absoluto (R= 6,6), lo cual contrasta con su desempeño sobre las poblaciones de la especie *X. index*. Por otra parte, la mayoría de los tratamientos en base a rizobacterias obtuvo porcentajes de control superiores al 80%.

Las formulaciones líquidas (T1, T4 y T7) presentaron resultados similares al nematicida, y entre ellas. Los tratamientos 1 y 7 lograron un efecto supresor sobre las poblaciones de nemátodos obteniendo índices reproductivos de 0,56 y 0,98, respectivamente. Además alcanzaron sobre un 85% de control poblacional, respecto al testigo absoluto. Por otra parte, se observó que hubo diferencias entre las formulaciones en base a polvo (T2, T5 y T8), donde solo T8 obtuvo un resultado similar al testigo químico (R=0,82), además de ejercer un efecto supresor sobre las poblaciones. El tratamiento 5 (R= 2,09), no tuvo diferencias significativas con T2 (R= 4,26), sin embargo a diferencia de éste último, logró ejercer un efecto de control sobre las poblaciones respecto del testigo absoluto ($p < 0,05$).

Los caldos bacterianos (T3, T6 y T9), presentaron diferencias significativas con el testigo absoluto ($p < 0,05$). Los tratamientos 6 y 9 presentaron resultados similares al nematicida y entre sí ($P < 0,05$), con porcentajes de control superiores al 85% e incluso, T9 logró reducir las poblaciones finales con respecto a las iniciales (R= 0,87). Por otra parte, T3 tuvo uno de los mayores índices reproductivos (R= 3,29) y presentó diferencias con el testigo químico y con los dos tratamientos anteriores.

Cuadro 4. Índice reproductivo y poblaciones iniciales y finales para nemátodos del género *Meloidogyne*.

Tratamientos	Cepas	Formulado	N° J2/ 250 cm ³ suelo			
			Población inicial (P _i)	Población final (P _f)	Índice reproductivo (R)	Porcentaje de control (%)
T1	<i>B. frigoritolerans</i> FB37BR, <i>B.</i> <i>megaterium</i>	Líquido	313,3	175,3	0,56 _a	91,7
T2	FB133M, <i>B.</i> <i>weihenstephanensis</i>	Polvo	144,2	614,5	4,26 _{de}	0
T3	FB25M, <i>B.</i> <i>thuringiensis</i> FB833T	Caldo bacteriano	106,6	351,8	3,29 _{cd}	50,2
T4	<i>B.</i> <i>amyloliquefaciens</i>	Líquido	127,3	156,8	1,23 _{abcd}	81,4
T5	FR203A, <i>B.</i> <i>thuringiensis</i>	Polvo	166,6	348,8	2,09 _{bcd}	68,3
T6	FS213P, <i>P.</i> <i>fluorescens</i> FP805PU	Caldo bacteriano	89,8	102,8	1,14 _{abcd}	82,7
T7	<i>B. frigoritolerans</i> FB37BR, <i>B.</i> <i>weihenstephanensis</i>	Líquido	199,2	195,5	0,98 _{abcd}	85,2
T8	FB25M, <i>B.</i> <i>thuringiensis</i>	Polvo	270,2	191,6	0,7 _a	89,4
T9	FS212P, <i>P.</i> <i>fluorescens</i> FP805PU	Caldo bacteriano	114,6	95	0,82 _{ab}	87,6
Testigo químico (Rugby® 200 CS)			126,5	89,6	0,7 _a	89,4
Testigo absoluto			185,3	1232,5	6,6 _e	0

Los valores presentados corresponden a los promedios calculados en base a 6 repeticiones. Promedios unidos verticalmente con una letra en común no presentan diferencias significativas según la prueba LSD de Fisher ($p < 0,05$).

Efecto sobre daños provocados por nemátodos del género *Meloidogyne*.

En el caso de los daños provocados por nemátodos de este género, no se observó un efecto de control por parte de las formulaciones en base a rizobacterias ya que la mayoría de los tratamientos, no logró diferencias significativas respecto al testigo absoluto (Figura 4). Sin embargo, el tratamiento 6 (caldo bacteriano) logró un resultado similar al nematicida químico ($p < 0,05$). Por otra parte, se detectó la presencia de masas de huevos no asociadas a agallas en la superficie de raíces (Figura 3), lo que podría corresponder a un comportamiento poco común en especies de éste género.

Las formulaciones líquidas no tuvieron diferencias entre ellas y con el testigo absoluto ($p < 0,05$). Por otro lado las formulaciones en polvo tuvieron resultados diferentes entre sí, ya que T2 y T8 presentaron resultados similares al testigo absoluto mientras que, T5 obtuvo uno de los mayores números de daños entre los tratamientos con rizobacterias en su composición (17,4 agallas/g de raíz). Además, tuvo diferencias significativas con el testigo absoluto y las dos formulaciones en polvo mencionadas anteriormente ($p < 0,05$).

Por último, los tratamientos 3 y 9 no presentan diferencias entre sí, sin embargo solo el primero fue similar al testigo absoluto, mientras que T9 (12,8 agallas/g de raíz) tuvo un desempeño similar a T5 ($p < 0,05$), diferenciándose del testigo absoluto (7,42 agallas/g de raíz). Por otro lado, el tratamiento 6, obtuvo un resultado similar al testigo químico (4,64 agallas/g de raíz) con 3,77 agallas/g de raíz (49,2% de reducción) y fue el único tratamiento en base a rizobacterias que logró disminuir el número de daños con respecto al testigo absoluto ($p < 0,05$).

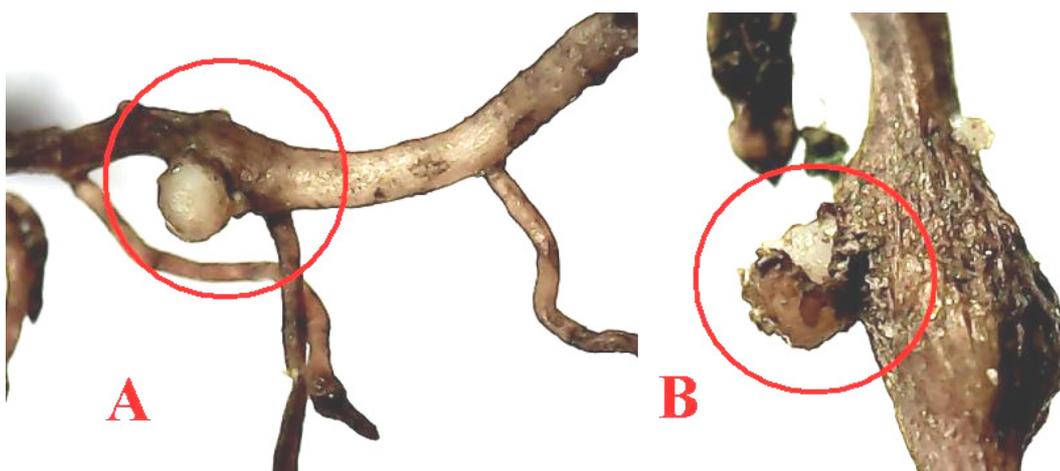


Figura 3. Lesiones provocadas por nemátodos del género *Meloidogyne* en raíces de *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon. (A): Masa de huevos en raíz sin agalla, (B): Masa de huevos en raíz con agalla.

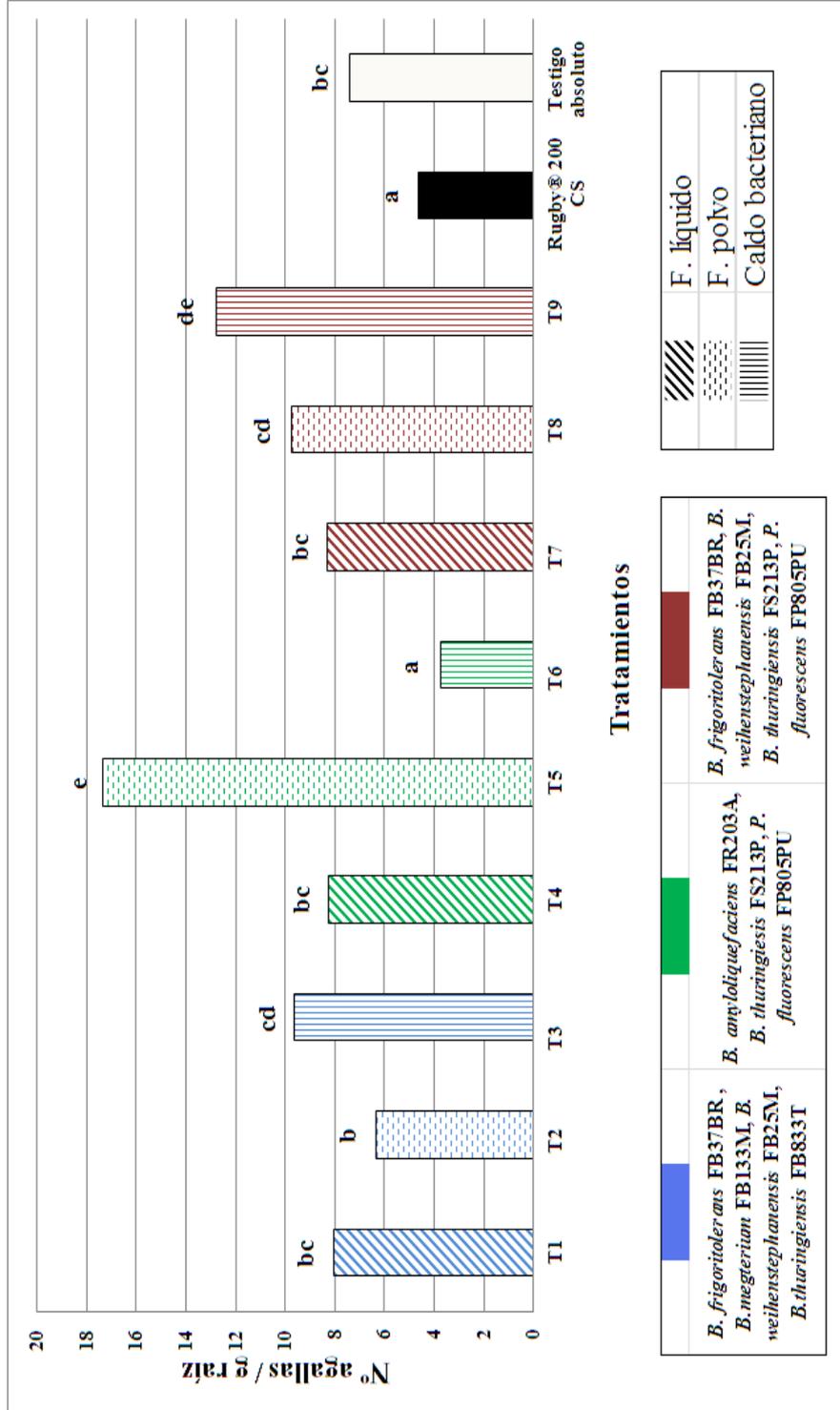


Figura 4. Daños provocados por nemátodos del género *Meloidogyne* en las raíces de las plantas (nº de agallas/g raíz). Promedio unidos horizontalmente con una letra en común no presentan diferencias significativas según prueba LSD de Fischer ($p > 0,05$).

Peso fresco aéreo y radical

No se observaron diferencias entre las plantas de los diferentes tratamientos ($p < 0,05$) (Apéndice 1 y 2), tanto para el peso aéreo como el peso de las raíces (Cuadro 5), por lo que se descartó un efecto promotor de crecimiento provocado por las rizobacterias durante el tiempo que duró el ensayo.

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos en la condición de las plantas expresado como peso fresco aéreo y radical.

Tratamiento	Cepas	Formulado	Peso aéreo (g)	Peso radical (g)
T1	<i>B. frigiditolerans</i> FB37BR, <i>B.</i> <i>megaterium</i>	Líquido	3,03 _a	20,65 _a
T2	FB133M, <i>B.</i> <i>weihenstephanensi</i>	Polvo	3,03 _a	19,22 _a
T3	s FB25M, <i>B.</i> <i>thuringiensis</i> FB833T	Caldo bacteriano	2,65 _a	18,67 _a
T4	<i>B.</i> <i>amyloliquefaciens</i> FR203A, <i>B.</i>	Líquido	3,03 _a	22,02 _a
T5	<i>thuringiensis</i> FS213P, <i>P.</i>	Polvo	2,87 _a	20,77 _a
T6	<i>fluorescens</i> FP805PU	Caldo bacteriano	2,67 _a	19,03 _a
T7	<i>B. frigiditolerans</i> FB37BR, <i>B.</i>	Líquido	3,12 _a	21,32 _a
T8	<i>weihenstephanensi</i> s FB25M, <i>B.</i> <i>thuringiensis</i>	Polvo	3,9 _a	25,58 _a
T9	FS212P, <i>P.</i> <i>fluorescens</i> FP805PU	Caldo bacteriano	3,12 _a	21,30 _a
Testigo químico (Rugby® 200 CS)			3,00 _a	21,68 _a
Testigo absoluto			3,22 _a	19,50 _a

Promedios calculados en base a 6 datos. Promedios unidos verticalmente con letras en común no presentan diferencias significativas según análisis de varianza ($p < 0,05$)

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos permitieron establecer que las formulaciones en base a las distintas mezclas de rizobacterias, fueron capaces de disminuir las poblaciones de nemátodos fitoparásitos en el suelo y a su vez, disminuir el nivel de daño provocado en plantas de vid, en contraste con un escenario donde no se estén aplicando productos para el control de nemátodos. La mayoría de las formulaciones tuvo resultados similares o mejores que los caldos bacterianos de igual mezcla de rizobacterias. También hubo tratamientos con desempeños similares al nematicida (Rugby[®] 200 CS). Cabe mencionar que no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, que indicaran un efecto positivo o negativo sobre el crecimiento, tanto aéreo como radical, de las plantas.

Por otra parte, al comparar formulaciones líquidas y en base a polvo, según la mezcla de rizobacterias, no se encontraron mayores diferencias en los resultados que permitan determinar la superioridad de una sobre la otra, salvo en los casos particulares de los tratamientos 4 y 5 (líquido y polvo), donde el segundo presentó el menor efecto de control en tres de los cuatro parámetros medidos. Pese a esto, fue posible identificar una tendencia entre las formulaciones líquidas, las cuales presentan porcentajes de control poblacional y de reducción de daños parecidos entre sí.

La mayoría de las formulaciones controlaron las poblaciones de nemátodos, tanto para la especie *X. index* como para el género *Meloidogyne*, alcanzando resultados similares a un nematicida comercial. Las bajas poblaciones finales de la primera especie se pueden explicar debido a la baja cantidad de individuos al momento de establecer el ensayo y, a que tal vez las condiciones de éste no hayan permitido una gran proliferación de los nemátodos en el suelo. Por otro lado, las poblaciones de *Meloidogyne* fueron mucho más numerosas en el suelo, lo que podría deberse a que las hembras de este género son altamente prolíficas, llegando a producir varios cientos de huevos durante su vida, en tasas de 30-80 huevos/día, y también porque a diferencia de *X. index*, estos huevos se encuentran protegidos en una matriz gelatinosa muy compleja, lo cual dificulta la incidencia de algún agente externo sobre ellos (Perry and Moens, 2006).

En el caso de los daños en raíces, se observó un escenario diferente al de las poblaciones, ya que para *X. index*, se observó que todos los tratamientos en base a rizobacterias disminuyeron las lesiones provocadas por este nemátodo. Además seis de ellos (Figura 2), no tuvieron diferencias significativas con el nematicida Rugby, alcanzando porcentajes de reducción sobre el 50%. Sin embargo, en el caso de *Meloidogyne* ocurrió lo contrario, ya que si bien existió un control sobre poblaciones, sólo un tratamiento (T6) logró reducir los daños (49,2%) y no tuvo diferencias con el testigo químico, mientras que en los demás, no se observaron diferencias significativas con el testigo absoluto, donde no se evidenció algún tipo de control.

Esta situación genera una controversia en torno al testigo absoluto, ya que se detectó una gran cantidad de nemátodos del género *Meloidogyne* en estado infectivo, presentes en el suelo de las macetas al finalizar el ensayo (1232,5 J2/250 cm³ de suelo), lo que naturalmente debió estar asociado a un mayor número de daños. Por otro lado, este tratamiento tuvo el índice reproductivo más alto (R= 3,13) y la mayor cantidad de daños de la especie *X. index* (26,27 lesiones/g de raíz). Estos datos podrían aportar un antecedente importante para explicar por qué el testigo absoluto presenta una alta cantidad de nemátodos en el suelo y baja cantidad de daños, apoyándose principalmente en la interacción de las especies de nemátodos fitoparásitos, las cuales pueden generar un efecto benéfico o desfavorable.

Eisenback (1993), estableció que “los nemátodos ectoparásitos se alimentan en los sitios de penetración preferidos por los estados juveniles de endoparásitos sedentarios. Junto con esto, pueden dañar el sistema radical y así, indirectamente reducir el número de sitios de alimentación disponibles para endoparásitos, o viceversa”. Los nemátodos del género *Xiphinema* (ectoparásitos) se alimentan principalmente de células superficiales cercanas a los ápices de crecimiento (Cohn, 1970) mientras que las especies del género *Meloidogyne* (endoparásito sedentario), ingresan a la raíz por las zonas cercanas a los ápices y luego ascienden con el objetivo de dirigirse hacia zonas cercanas al cilindro vascular, donde se convertirán en hembras adultas (Wyss and Grundler, 1992). Según lo establecido por Di Vito et al. (1985), existe la posibilidad de que los daños ocasionado por *Xiphinema* sobre las raíces de vides, sean más severos que el daño ocasionado por *Meloidogyne*, ya que, los nemátodos pertenecientes al primer grupo se alimentan extensivamente sobre los ápices de las raíces, atrofiando el crecimiento de estas, por lo cual podría entorpecer o dificultar el reconocimiento y posterior entrada de *Meloidogyne* a la raíz. Existen estudios donde este tipo de interacciones ha quedado en evidencia, por ejemplo en el trabajo de Sikora et al. 1979, donde se demostró que la influencia de los ectoparásitos *Paratrichodorus minor* y *Tylenchorhynchus agri*, redujo la infección de *Meloidogyne naasi* en la gramínea *Agrostis palustris*, debido a su efecto inhibitorio sobre las raíces, lo que consecuentemente disminuyó los sitios de penetración. Por otra parte, en el estudio de Norton (1969) se observó que la especie *Meloidogyne hapla* preponderó sobre *Xiphinema americanum* en un campo de alfalfa, durante cuatro años. Esto se atribuye a que pudo haber alterado la fisiología de las plantas, ejerciendo una influencia para que estas dejaran de ser un huésped adecuado para la otra especie.

Pese a las condiciones descritas anteriormente, T6 (caldo bacteriano), fue el único tratamiento que logró ejercer un control poblacional y reducir los daños en nemátodos del género *Meloidogyne*. Lo anterior se podría explicar a partir de lo establecido por Burges (1998), quien planteó que la mayor ventaja de los caldos bacterianos, es que los microorganismos se encuentran activos y pueden entrar a competir inmediatamente por la colonización del nicho con otros microorganismos autóctonos a diferencia de las formulaciones, donde se encuentran generalmente en estados latentes. Por lo tanto, las rizobacterias presentes en este tratamiento pudieron haberse adaptado rápidamente al ambiente de la rizósfera, otorgándole una protección oportuna a la raíz. No obstante, el uso de un caldo bacteriano en campo podría quedar restringido a superficies muy pequeñas

debido a que presentan importantes desventajas, como la desprotección ante fluctuaciones de temperatura durante el almacenaje, transporte y aplicación; las alteraciones en el medio de cultivo, tales como desecado y contaminación; el nivel específico de manipulaciones previas a su uso; la dificultad para cuantificar las concentraciones adecuadas de individuos y por último, que los microorganismos no tienen ningún tipo de protección frente a las condiciones variables del campo durante su proceso de adaptación (Burges, 1998; Stirling, 2014).

A partir de este estudio también fue posible corroborar los resultados obtenidos por otros autores que evaluaron, bajo condiciones controladas e *in vitro*, el desempeño individual de las cepas empleadas en esta investigación, en los cuales quedó establecido su potencial para controlar poblaciones y reducir daños de la especie *X. index* (Aballay et al., 2011; Aballay et al., 2012), y de especies del género *Meloidogyne* (Castañeda, 2014; Ordenes, 2012). Sin embargo, cabe mencionar que estos mismos autores plantean que algunas de ellas no ejercieron un efecto conjunto de control sobre poblaciones y daños en raíces, como por ejemplo las cepas FB25M y FS213P (presentes en la composición de los tratamientos comprendidos desde T1 a T6), las cuales controlaron poblaciones de *X. index*, pero no así los daños ocasionados en las raíces de vides (Aballay et al., 2012). Así mismo, Ordenes (2012) señaló que la cepa FR203A redujo los daños provocados por *M. ethiopica*, pero no las poblaciones de este nemátodo en el suelo, mientras que la cepa FS213P controló ambos parámetros.

Por otra parte, Castañeda (2014) determinó que las cepas FB25M, FB37BR, FR203A y FS213P lograron disminuir la eclosión de huevos de la especie *M. ethiopica*. Utilizar mezclas de microorganismos antagonistas que controlen distintos estados de desarrollo de una plaga puede ser una potencial aproximación para sobrepasar las limitaciones del control biológico (Kiewnick, 2010), además Duffy et al. (1996), establecieron que las formulaciones en base a mezclas de microorganismos que posean distintos mecanismos de control podrían asegurar la obtención del efecto deseado bajo condiciones variables.

El control biológico de la especie *X. index* no ha sido muy estudiado, en contraste con especies del género *Meloidogyne*, sin embargo existen investigaciones del control de otras especies de nemátodos ectoparásitos mediante el uso de rizobacterias, como el estudio de Insunza et al. (2002), en el cual se aislaron 44 cepas de rizobacterias, a partir de raíces de plantas con propiedades nematocidas, las cuales fueron probadas para controlar nemátodos fitoparásitos de las especies *Paratrichodorus pachydermus* y *Trichodorus primitivus* en papa (cv. Saturna) sobre suelo naturalmente infestado. Se determinó que 4 aislados redujeron consistentemente la densidad de nemátodos del género *Trichodorus* (56,7-74,4%) sin producir efectos negativos sobre el crecimiento de las plantas. Estas fueron identificadas como *Stenotrophomonas maltophilia* (ST 58), *Bacillus mycoides* (PM 67), *Pseudomonas* sp (TV 167) y una especie no identificada (cepa AO 180). Por otra parte, Klupfel et al. (1993), evaluaron la efectividad de 290 cepas de *Pseudomonas fluorescens* extraídas desde la rizósfera de durazneros establecidos en suelos supresivos sobre el control de poblaciones del nemátodo *Criconemella xenoplax* por medio de pruebas *in vitro* y en

invernadero. Los resultados indicaron que siete cepas lograron suprimir las poblaciones de esta especie en un porcentaje superior al 50% con respecto a los controles no inoculados.

En el caso de *Meloidogyne*, es posible encontrar una mayor cantidad de estudios acerca de su control con distintos agentes biológicos tales como *Paecilomyces lilacinus* (Kiewnick and Sikora, 2006; Yang et al., 2010), *Aspergillus awamori*, *Glomus mosseae* y *Pseudomonas* sp. (Akhtar and Panwar, 2012) y otras especies de rizobacterias (Siddiqui et al., 2002; Siddiqui et al. 2007). También se han evaluado formulaciones comerciales en base a cepas del género *Bacillus*, para controlar distintas especies del género *Meloidogyne* en campo e invernadero. Los resultados de estos estudios han logrado demostrar que el efecto de estos productos ha controlado poblaciones y daños de estos nemátodos (Burkett-Cadena et al., 2008) e incluso han llegado a equiparar los efectos de nematicidas comerciales (Terefe et al., 2009; Xiong et al., 2015).

La principal función de las formulaciones es mantener la viabilidad de los microorganismos que se están incorporando, en este caso al suelo, entregándoles los nutrientes y la protección necesaria para que las rizobacterias puedan ajustarse fisiológicamente al nuevo ambiente, lo que les permitirá multiplicarse, distribuirse por el sistema radical y además competir con otros microorganismos para colonizar adecuadamente la raíz (Stirling, 2014). Sin embargo, su desempeño puede verse afectado por factores tanto externos como internos. Por ejemplo, algunos de los factores externos a considerar pueden ser el pH, el contenido de materia orgánica, la mineralogía del suelo, entre otros factores fisicoquímicos (Stotzky, 2004), y además la comunidad microbiológica autóctona (organismos bacteriófagos, otras rizobacterias, entre otros), con la que deberán competir los microorganismos para establecerse en la raíz. Por otra parte, como factores internos se consideran algunos ingredientes que componen la formulación, los cuales pueden interferir en el modo de acción de las rizobacterias, como es el caso de algunos surfactantes y de algunas arcillas utilizadas como acarreadores (por ejemplo, vermiculita). Estos presentan una alta capacidad de intercambio iónico, lo cual afecta la funcionalidad de los compuestos o enzimas liberadas por las rizobacterias lo que desencadena en un rendimiento insuficiente del producto. (Borges, 1998; Nakkeeran et al., 2005; Stirling, 2014).

Un ejemplo de esto se puede observar en el caso del control ejercido sobre poblaciones de *X. index* (Cuadro 3), donde se aprecia una situación particular entre T4, T5 y T6, tratamientos que poseen la misma mezcla de rizobacterias en su composición. El primero (formulación líquida) controló las poblaciones de esta especie, mientras que el segundo (formulación en polvo) no logró diferencias significativas con el testigo absoluto. Al mismo tiempo, el caldo bacteriano (T6) tuvo un efecto similar a T4, lo que permite establecer que las cepas sin formular fueron capaces de ejercer un control sobre las poblaciones de *X. index*. Por lo tanto, se podría inferir que el factor variable, en este caso la base de la formulación o alguno de sus ingredientes, pudo haber influido sobre el desempeño de las cepas, como se mencionó en el párrafo anterior. Es importante mencionar que las formulaciones no tienen un efecto negativo sobre los microorganismos, sin embargo algunos compuestos de ellas pueden reaccionar con los metabolitos que éstos producen, pudiendo interferir en el ejercicio del control sobre el organismo objetivo.

En este estudio ha quedado demostrado que las formulaciones en base a rizobacterias pueden lograr resultados similares a los obtenidos por un nematicida químico comercial sobre poblaciones y daños de distintas especies de nemátodos fitoparásitos. Por otra parte, los nematicidas son altamente tóxicos y pueden contaminar fuentes o cursos de agua. Además, el uso reiterado de estos productos químicos, puede estimular la reproducción de microorganismos capaces de degradarlos, lo que genera un efecto acelerado de descomposición en futuras aplicaciones, reduciendo su efectividad sobre el control de nemátodos, además de implicar un mayor número de aplicaciones por temporada (Karpousas et al., 2004; Read, 1983).

El uso de controladores biológicos es una buena alternativa al control convencional, realizado con nematicidas químicos, ya que no son tóxicos para el medio ambiente, no generarían resistencia en los nemátodos y son de bajo costo productivo. Por otra parte, Cruzat et al., (2010), señalan que el uso de agentes biológicos en el control de nemátodos podría contribuir a la reducción en costos, ya que el control constante de la población de nemátodos por los microorganismos provocaría una importante disminución en la merma de producción.

La incorporación de materia orgánica al suelo, a través de enmiendas y abonos verdes, podría contribuir a mejorar el efecto de las formulaciones bacterianas sobre poblaciones y daños provocados por nemátodos fitoparásitos (Kokalis-Burelle et al., 2002). Esto se debería principalmente a que la incorporación de este material puede generar un incremento tanto en rendimientos, como en el número y diversidad de poblaciones microbianas, incluyendo a aquellas que tienen un efecto benéfico sobre el control de nemátodos (Widmer et al., 2002) las cuales podrían tener una interacción positiva con bacterias para el control de nemátodos. Por último, es importante señalar que el uso de estos productos debe considerarse en conjunto con un plan de manejo integrado de plagas, combinando prácticas culturales como el uso de material vegetal libre de nemátodos, el uso de cultivares resistentes, entre otros (Perry and Moens, 2006) a razón de disminuir el uso de nematicidas químicos, y mantener un manejo más amigable con el medio ambiente sin actuar en desmedro de la producción.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones en que se desarrolló este estudio y a los resultados obtenidos, se puede concluir que:

Las formulaciones en base a mezclas de rizobacterias son capaces de suprimir las poblaciones de los nemátodos fitoparásitos estudiados, aceptándose la hipótesis planteada.

Al comparar las formulaciones líquidas y en polvo con igual mezcla de rizobacterias, se puede determinar que:

- Casi todas fueron efectivas en el control de poblaciones de *Meloidogyne* y *X. index*, a excepción de T2 y T5, respectivamente.

- También fueron efectivas para reducir la incidencia de daños provocados por *X. index*, sin embargo, ninguna formulación logró reducir los daños producidos por nemátodos del género *Meloidogyne*.

La aplicación de las formulaciones al material vegetal y al suelo durante el trasplante es suficiente para conseguir un efecto de control sobre las poblaciones de nemátodos.

Los efectos en el control de las especies de nemátodos fitoparásitos evaluadas pueden ser similares a un químico convencional.

BIBLIOGRAFÍA

- Aballay, E. y M. Montedónico. 2001. Evaluación de la resistencia de trece portainjertos de vid a *Meloidogyne* spp. en una viña de seis años. *Aconex* 72: 18-28.
- Aballay, E.; P. Persson and A. Mårtensson. 2009. Plan-parasitic nematodes in Chilean vineyards. *Nematropica*, 39: 85-97.
- Aballay, E; Mårtensson, A and P. Persson. 2011. Screening of rhizobacteria from grapevine for their suppressive effect on *Xiphinema index* Thorne & Allen on in vitro grape plants. *Plant Soil*, 347: 313-325.
- Aballay, E.; S. Prodan; A. Mårtensson; P. Persson. 2012. Assessment of rhizobacteria from grapevine for their suppressive effect on the parasitic nematode *Xiphinema index*. *Crop Protection*, 42: 36-41.
- Akhtar, M. S. and J. Panwar. 2012. Efficacy of root-associated fungi and PGPR on the growth of *Pisum sativum* (cv. Arkil) and reproduction of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Journal of Basic Microbiology*, 52: 1-9.
- Burges, H. (Ed.). 1998. Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. [s.l.]: Springer Science+Bussines Media Dordrecht. 412p.
- Burkett-Cadena, M.; J. W. Kloepper; N. Kokalis-Burelle; K.S. Lawrence and E. Van Santen. 2008. Suppressiveness of root-knot nematodes mediated by rhizobacteria. *Biological Control*, 47: 55-59.
- Buzzetti, C. y S. Banfi. 2016, Ago. Boletín de vinos y pisco: producción, precios y comercio exterior. ODEPA, Ministerio de Agricultura. [en línea]. Santiago, Chile: ODEPA. 27p. Recuperado en: <http://www.odepa.cl/wp-content/files_mf/1471873595Boletinvinos201608Agosto.pdf> Consultado el: 8 de agosto de 2016.
- Castañeda, C. 2014. Caracterización fisiológica, molecular e identificación bioquímica de metabolitos y enzimas de cepas rizobacterianas con aptitud nematocida sobre *Xiphinema index* (Thorne y Allen) y *Meloidogyne ethiopica* (Whitehead). Tesis para optar al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención Sanidad Vegetal. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 52h.
- Christie, J. and Perry, V. 1951. Removing nematodes from soil. Proceedings of Helminthological Society of Washington, 18 (2): 106-108.

Cohn, E. 1970. Observations on the feeding and symptomatology of *Xiphinema* and *Longidorus* on selected host roots. *Journal of Nematology*, 2: 167-173.

Cruzat, R., Barrios, E. y B. Mancilla 2010. Resultados y lecciones en bacterias nativas para control de nemátodos fitoparásitos. [En línea]. Santiago, Chile: FIA. 38p. Recuperado en: <https://www.opia.cl/static/website/601/articles-75506_archivo_01.pdf>. Consultado el: 28 de diciembre de 2016.

Di Vito, M.; H. M. Rohini; K. Ekanayake and V. Savino. 1985. The effect of initial population densities of *Xiphinema index* on the growth of grapevine. *Nematologia Mediterranea*, 13: 185-189.

Dong, L. Q. and K. Q. Zhang. 2006. Microbial control of plant - parasitic nematodes: a five party interaction. *Plant Soil*, 288: 31-45.

Duffy, B. K.; A. Simon and D. M. Weller. 1996. Combination of *Trichoderma koningii* with fluorescent pseudomonads for control of take-all en wheat. *Phytopathology*, 86: 188-194.

Eisenback, J. 1993. Interactions between nematodes in cohabitation. (ch. 7, pp. 134-174). In: Wajid Khan, M. (Ed.). Nematode interactions. (s.l.). Springer. 377p.

Fiore, N.; S. Prodan; J. Montealegre; E. Aballay; A. M. Pino and A. Zamorano. 2008. Survey of grapevine viruses in Chile. *Journal of Plant Pathology*, 90: 125-130.

Insunza, V.; S. Alström and K. B. Eriksson. 2002. Root bacteria from nematicidal plants and their biocontrol potential against trichodorid nematodes in potato. *Plant and Soil*, 241: 271-278.

Johansson, P., Johnson, L. and B. Grehardson. 2003. Suppression of wheat seedling disease caused by *Fusarium culmorum* and *Micordochium nivale* using bacterial seed treatment. *Plant Pathology* 52: 218-227.

Karpousas, D. G., Karanasios, E. and U. Menkissoglu-Spiroudi. 2004. Enhanced microbial degradation of Cadusafos in soils from potato monoculture: demonstration and characterization. *Chemosphere*, 56: 549-559.

Kiewnick, S. and R. A. Sikora. 2006. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biological Control*, 38: 179-187.

Kiewnick, S. 2010. Importance of multitrophic interactions for successful biocontrol of plant parasitic nematodes with *Paecilomyces lilacinus* strain 251. (ch.7, pp. 81-92). In: Gisi, U., Chet I. and M. L. Gullino. 2010. Recent Developments in Management of Plant Diseases. (s.l.). Springer. 377p.

- Kloepper, J.; R. Rodríguez-Kábana; J. McInroy and D. Collins. 1991. Analysis of populations and physiological characterization of microorganisms in rhizospheres of plants with antagonistic properties to phytopathogenic nematodes. *Plant and Soil*, 136: 95-102.
- Klupfel, D. A., McInnis, T. M. and E. I. Zehr. 1993. Involvement of root-colonizing bacteria in peach orchard soils suppressive of the nematode *Criconebella xenoplax*. *Phytopathology*, 83: 1240-1245.
- Kokalis-Burrelle, N., Martínez-Ochoa, N., Rodríguez-Kábana, R and J. W. Kloepper. 2002. Development of multi-component transplant mixes for suppression of *Meloidogyne incognita* on tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Journal of Nematology*, 34: 362-369.
- Magunacelaya, J. y E. Dagnino. 1999. Nematología Agrícola en Chile. Santiago, Chile: Universidad de Chile. 282p.
- Muñoz, M. 2016, Mar. Boletín Frutícola. ODEPA, Ministerio de Agricultura. [en línea]. Santiago, Chile: ODEPA. 22p. Recuperado en: <http://www.odepa.cl/wp-content/files_mf/1459455773BoletinFruticola032016.pdf> Consultado el: 26 de agosto de 2015.
- Nakkeeran, S.; W.G. Dilanta Fernando and Z.A. Siddiqui. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases (ch. 10, pp. 257-296). In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Dordrecht, The Netherlands: Springer. 318p.
- Norton, D. C. 1969. *Meloidogyne hapla* as a factor in alfalfa decline in Iowa. *Phytopathology*, 59: 1824-1828.
- Ordenes, P. 2012. Evaluación de rizobacterias en el control de *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968, en *Vitis vinifera* L. cv Chardonnay. Tesis para optar al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención Sanidad Vegetal. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 24h.
- Oostenbrink, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Meded Landbouwhogeschool Wageningen*, 66: 1-46.
- Pastenes, C., E. Aballay y M. Escobar. 2001. Fotosíntesis en vides y su aplicación en aspectos de manejo. *Aconex*, 73: 13-18.
- Perry, R. and Moens, M. 2006. Plant Nematology. Massachusetts, USA: CABI. 447p.
- Radwan, M.; S. Ferrag; M. Abu-Elamayem and N. Ahmed. 2012. Extraction, characterization and nematicidal activity of chitin and chitosan derived from shrimp shell wastes. *Biology and Fertility of Soils*, 48: 463-468.

- Raupach, G. A. and J. W. Kloepper. 1998. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology*, 88: 1158-1164.
- Read, D. C. 1983. Enhanced microbial degradation of carbofuran and fensulfothion after repeated applications to acid mineral soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 10: 37-46.
- Siddiqui, Z. A.; S. S. Shaukat and M. Hamid. 2002. Role of zinc in Rhizobacteria-mediated suppression of root-infecting fungi and root-knot nematode. *Journal of Phytopathology*, 150: 569-575.
- Siddiqui, Z. A.; G. Baghel and M. S. Akthar. 2007. Biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Rhizobium* and plant growth-promoting rhizobacteria on lentil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23: 435-441.
- Sikora, R.A., Malek, R.B., Taylor, D.P. and OJ. Edwards. 1979. Reduction in *Meloidogyne naasi* infection of creeping bentgrass by *Tylenchorhynchus agri* and *Paratrichodorus minor*. *Nematologica*, 25: 179-183.
- Stirling, G. 2014. Biological control of plant-parasitic nematodes: soil ecosystem management in sustainable agriculture. 2nd. Ed. Boston, USA: CABI. 510p.
- Stotzky, G. 2004. Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants. *Plant and Soil*, 266: 77-89.
- Terefe, M.; T. Tefera and P. K. Sakhuja. 2009. Effect of a formulation of *Bacillus firmus* on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infestation and the growth of tomato plants in the greenhouse and nursery. *Journal of Invertebrate Pathology*, 100: 94-99.
- Tian, B.; J. Yang; K. Q. Zhang. 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. *Federation of European Microbiological Societies*, 61: 197-213.
- Widmer, T.L., Mitkowski, N.A. and Abawi, G.S. 2002. Soil organic matter and management of plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology*, 34: 289-295.
- Wyss, U. and F. M. W. Grundler. 1992. Feeding behavior of sedentary plant parasitic nematodes. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98: 165-173.
- Xiong, J., Zhou, Q., Luo, H., Xia, L., Li, L., Sun, M., Yu, Z. 2015. Systemic nematicidal activity and biocontrol efficacy of *Bacillus firmus* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 31(4): 661-667.

Yang, J.; X. Zhao; L. Liang; Z. Xia; L. Lei; X. Niu; C. Zou; K. Zhang. 2010. Overexpression of a cuticle-degrading protease Ver112 increases the nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89: 1895-1903.

APÉNDICE

1.- Análisis de varianza para peso aéreo en vides cv. Cabernet Sauvignon.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso aéreo (g)	66	0,16	0,01	25,63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.		6,61	10	0,66	1,08	0,3956
Tratamiento		6,61	10	0,66	1,08	0,3956
Error	33,79	55	0,61			
Total	40,40	65				

($P < 0,05$)

2.- Análisis de varianza para peso radical en vides cv. Cabernet Sauvignon.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso radical (g)	66	0,22	0,08	18,37

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.		224,77	10	22,48	1,53	0,1545
Tratamiento		224,77	10	22,48	1,53	0,1545
Error	809,22	55	14,71			
Total	1033,99	65				

($P < 0,05$)

3.- Cuadro resumen de daños y porcentajes de reducción para ambos nemátodos.

Tratamiento	<i>Xiphinema index</i>		<i>Meloidogyne</i>	
	Nº lesiones/g raíz	Porcentaje de reducción (%)	Nº agallas/g de raíz	Porcentaje de reducción (%)
T1	13,88 cd	47,2	8,08 bc	0
T2	6,12 a	76,7	6,39 b	0
T3	9,81 abc	62,7	9,66 cd	0
T4	7,89 ab	70	8,27 bc	0
T5	15,69 d	40,3	17,4 e	0
T6	9,95 abc	62,1	3,77 a	49,2
T7	13,49 cd	48,6	8,32 bc	0
T8	7,61 ab	71	9,78 cd	0
T9	10,9 bc	58,5	12,8 de	0
T. químico	7,35 ab	72	4,64 a	37,5
T. absoluto	26,27 e	0	7,42 bc	0