

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMÁTODO DORADO DE LA PAPA, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975, A TRAVÉS DEL USO DE RIZOBACTERIAS

CONSTANZA BELÉN FLORES VARGAS

Santiago, Chile

2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMÁTODO DORADO DE LA PAPA, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975, A TRAVÉS DEL USO DE RIZOBACTERIAS

BIOLOGICAL CONTROL OF THE POTATO GOLDEN CYST NEMATODE, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975, THROUGH THE USE OF RHIZOBACTERIA

CONSTANZA BELÉN FLORES VARGAS

Santiago, Chile

2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMÁTODO DORADO DE LA PAPA, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975, A TRAVÉS DEL USO DE RIZOBACTERIAS

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniera Agrónoma

PROFESOR GUÍA

CALIFICACIONES

Sr. Erwin Aballay E.
Ingeniero Agrónomo, M.Sc., Ph. D.

7,0

PROFESORES EVALUADORES

Sr. Nicola Fiore
Ingeniero Agrónomo, Dr. Cs.

6,5

Sr. Marco Schwartz M.
Químico, M.S., Dr.

7,0

Santiago, Chile

2016

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría dedicar este trabajo a mis padres, Virgilio y Soledad. Agradecerles por lo que me han dado para llegar tan lejos, cumplir mis sueños, ser la persona que soy hoy en día y por todo el apoyo y amor que me han brindado durante toda mi vida.

A mi hermano, abuelitos, tíos y primos, por su eterna preocupación, amor y apoyo.

A mi profesor guía, Erwin Aballay, por su confianza e invitarme a formar parte del equipo de trabajo del laboratorio de Nematología, donde he pasado momentos valiosos con grandes personas.

A mis compañeros y amigos de Nematología, por su ayuda y disposición en la realización de esta memoria y además, por hacer siempre grato el ambiente en el laboratorio. Gracias por su alegría.

A Simona, por ayudarme con los extractos de bacterias, por su gran paciencia y preocupación.

A Carlos, por sus consejos, su buena voluntad y su asesoría estadística.

A Silvia, por su excelente disposición y responder siempre mis dudas.

A Jacobo, por su ayuda en la preparación de suelo y montaje en macetas.

A Giselle, Jorge e Ignacio, por sus consejos, apoyo y guiarme en este proceso.

A mis amigas, Stephan y Makarena, por acompañarme en todos los momentos que he pasado a lo largo de la carrera universitaria, por ser hermosas personas y tener siempre las palabras justas en los momentos difíciles.

A mi amiga Alejandra, por ser un apoyo constante a lo largo de casi toda una vida, por sus consejos y alegrías.

A Martín, por ser mi amigo, compañero y amor durante casi toda la carrera universitaria. Por sus consejos, apoyo, paciencia, entrega y acompañarme en este hermoso viaje llamado vida.

A todos mis amigos que de un modo u otro estuvieron conmigo durante el período universitario, en donde se dieron instancias de apoyo mutuo y compañerismo.

A profesores, funcionarios y personas de la universidad, por su enseñanza y paciencia, por prepararnos como profesionales y formarnos como personas de bien.

A todas las personas que han formado parte de mi vida. Con cariño, amor y alegría todo es posible. Gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
HIPÓTESIS	5
OBJETIVOS	5
Objetivo general	5
Objetivos específicos	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Lugar de estudio	6
Ensayo 1: Incidencia de rizobacterias sobre densidad poblacional de <i>Globodera rostochiensis</i> en papa, en suelo con mayor infestación	6
Ensayo 2: Incidencia de rizobacterias sobre densidad poblacional de <i>Globodera rostochiensis</i> en papa, en condiciones de menor infestación en combinación con una aplicación de nematicida	6
Preparación del inóculo bacteriano	6
Sustrato utilizado para los ensayos	7
Inoculación de tubérculos y establecimiento	8
Evaluaciones	9
Diseño experimental y análisis estadísticos	10
RESULTADOS	12
Ensayo 1: Incidencia de rizobacterias sobre densidad poblacional de <i>Globodera rostochiensis</i> en papa, en suelo con mayor infestación	12
Ensayo 2: Incidencia de rizobacterias en combinación con nematicidas sobre la densidad poblacional de <i>Globodera rostochiensis</i> en papa, en condiciones de menor infestación de suelo	14
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIÓN	19
BIBLIOGRAFÍA	20
APÉNDICES	24

RESUMEN

La papa es uno de los cultivos de mayor importancia, el cuarto en superficie entre los cultivos anuales en Chile. Entre las plagas de mayor agresividad se encuentra *Globodera rostochiensis*, presente en muchas zonas productoras, el cual se controla principalmente con nematicidas químicos. No hay antecedentes de bioantagonistas eficaces para su control, por lo que se evaluó la utilización de algunas cepas de rizobacterias aisladas desde suelos cultivados con vides sobre su control. Para ello las cepas *Brevibacterium frigoritolerans* 37, *Bacillus weihenstephanensis* 25, *Oerskovia turbata* 55 y *Pseudomonas alkylphenolia* 1301 fueron evaluadas para el control del nemátodo y disminuir su daño en papa. Se realizaron dos ensayos, el primero con mayor infestación (promedio de 190 quistes en 250 cm^{-3} de suelo) más las rizobacterias y el segundo con menor infestación de nemátodos (55 quistes en 250 cm^{-3} de suelo) también con rizobacterias más una aplicación de nematicida. En ambos se evaluó peso fresco de la parte aérea, de la raíz, peso y número de tubérculos, número de quistes/g de raíz y número de quistes en 250 cm^{-3} de suelo.

La cepa 55 fue la más efectiva ($P \leq 0,05$) en el control de poblaciones del nemátodo, destacándose principalmente en el segundo ensayo. Con las cepas 37 y 55, se observa efecto promotor del crecimiento al aumentar significativamente los pesos de raíz y tubérculos en el primer ensayo y también la cepa 1301 en el segundo ensayo. Las cepas de rizobacterias evaluadas pueden ser utilizadas como alternativa de control biológico de *Globodera rostochiensis* en papa.

Palabras clave: *Globodera rostochiensis*, rizobacterias, papa.

ABSTRACT

Potato is one of the most important crops, the fourth largest cultivated area among the annual crops in Chile. *Globodera rostochiensis* is one of the most aggressive agricultural pests, present in many producing areas, and primarily controlled with chemical nematicides. There is no history of effective control against this pest using bioantagonists. In this work the use of rhizobacteria strains isolated from grapevine roots growing in suppressive soils was evaluated as a method of nematode control four isolates: *Brevibacterium frigoritolerans* 37, *Bacillus weihenstephanensis* 25, *Oerskovia turbata* 55 and *Pseudomonas alkylphenolia* 1301 were tested to verify their effectiveness against *Globodera rostochiensis* nematode. Two essays were performed, using bacterized potato plants growing in naturally nematode infested soils with different level of infestation 190 cysts and 55 cysts in 250 cm³ of soil, respectively. Control treatments without bacterization were established in both assays, and second one was also accompanied by a chemical nematicide control treatment. The aerial part, the weight and number of tubers, the number of cysts per gram of root and the number of cysts in 250 cm³ of soil were measured in both essays

Strain 55 was the most effective ($P \leq 0,05$) in the control of nematode populations, standing out mainly in the second assay. Plant growth promoting effect of strains 37 and 55 was observed, measured by a significant increase in the weights of roots and tubers in the first assay and the same effect was observed for strain 1301 in the second assay. The evaluated rhizobacteria strains can be the subject of future research in biological control, being an alternative to the chemical control on *Globodera rostochiensis* nematode in potato crops.

Keywords: *Globodera rostochiensis*, rhizobacteria, potato.

INTRODUCCIÓN

La papa es una especie muy importante en cuanto a alimentación a nivel mundial al ser uno de los cuatro cultivos de mayor importancia junto al maíz, trigo y arroz (Eguillor, 2010). En Chile, la mayor superficie sembrada se concentra en la Región de La Araucanía seguida por la del Biobío y la Región de Los Lagos, siendo la producción nacional total de 960.500 toneladas (Pefaur, 2015).

La principal zona productora de papa del país posee un clima templado lluvioso, por lo tanto, una de las principales enfermedades que afectan al cultivo es *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, conocido como tizón tardío de la papa (Méndez e Inostroza, 2009) y también *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, 1858, el cual provoca daño principalmente en estolones y tubérculos, los cuales son más susceptibles al ataque del hongo al encontrarse bajo la superficie del suelo (Ritchie *et al.*, 2006).

Respecto a las principales plagas asociadas al cultivo de papa en la zona sur del país se encuentran los gusanos cortadores, siendo los más comunes *Agrotis* spp., *Peridroma* spp., *Copitarsia* sp. y los llamados gusanos alambres, *Conoderus rufangulus* (Fairmaire, 1849) (Wireworm), *Grammophorus niger* (Solier) y *Medonia deromecoides* Schwz., los cuales en primavera se encuentran en el suelo y se alimentan de los tubérculos semilla, afectando su valor comercial (Méndez e Inostroza, 2009).

En el caso de los nemátodos parásitos de plantas, éstos afectan a una gran variedad de cultivos en todo el mundo, provocando grandes pérdidas económicas cada año (Jung, 1998). En el cultivo de papas, la especie de mayor importancia a nivel mundial corresponde a *Globodera rostochiensis*, nemátodo de hábito endoparásito sedentario, los cuales transforman las células de la raíz en una estructura de alimentación especializada, correspondiente a un sincitio (Fuller *et al.*, 2008). Esta especie posee una estructura de resistencia denominada quiste que protege los huevos, es muy específica para el cultivo de papa y provoca considerables pérdidas de rendimiento. Se disemina principalmente por tubérculos infestados y quistes adheridos a partículas de suelo, dificultando su manejo (Franco, 1994).

En Chile, *G. rostochiensis* se encontraba principalmente en las regiones IV y V, debido a que la siembra de papa en aquellas zonas se realizaba incluso dos veces en el año, lo cual creó las condiciones adecuadas para que las poblaciones del nemátodo aumentaran considerablemente y se observaran pérdidas de rendimiento (Greco y Moreno, 1992). No obstante, en el año 2012, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) informó de nuevos focos de esta plaga cuarentenaria en la Región de los Lagos y luego, en 2013, se informó de su presencia también en la Región de Los Ríos, colocando en riesgo la zona productora de semilla de papa (SAG, 2013).

Algunas de las medidas utilizadas tradicionalmente para controlar a *Globodera rostochiensis* son la rotación de cultivos. Las variedades resistentes, por su lado, pueden llegar a ser muy efectivas en disminuir las poblaciones de nemátodos en el suelo, ya que impiden que completen su ciclo pero existe el problema de que no todas las variedades se adaptan en distintas localidades y su disponibilidad no es indefinida (Scurrah *et al.*,

2005). En Chile, los programas de mejoramiento varían según cada región, siendo uno de los principales objetivos en la zona sur, la resistencia a *G. rostochiensis* (Mera *et al.*, 2015). Algunas de las variedades de papa reportadas como resistentes a este nemátodo corresponden a Asterix-SZ, Atlantic, Cardinal, Yagana-INIA, entre otras (Santos y Orena, 2006), aunque los antecedentes entregados previamente dejan en evidencia que no han sido suficientemente efectivas para controlar al nemátodo, especialmente en Chile. Los nematicidas de origen químico, son ampliamente utilizados en distintos países del mundo y su control es efectivo si la población de nemátodos en el suelo no es muy alta, de lo contrario, su eficacia no se manifiesta en el cultivo. Además desde hace algunos años los agricultores han empezado a preocuparse por los problemas de residuos y medioambientales que puedan surgir por uso de estos químicos por lo que se ha hecho necesario buscar nuevas alternativas de control (Scurrah *et al.*, 2005).

El control biológico nace como una de las nuevas alternativas para disminuir el uso de pesticidas, siendo amigables con el medio ambiente y con la salud humana (Herrera-Estrella y Chet, 1999). Alguno de los organismos estudiados como agente de control biológico sobre nemátodos quistes corresponde a *Purpureocillium lilacinus* (Thom) Luangsa-ard, Hou-braken, Hywel-Jones & Samson (2011), el cual parasita principalmente huevos (Khan *et al.*, 2006) y *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969) (Saifullah y Khan, 2014), ambos en condiciones de laboratorio.

Una de las herramientas de amplio estudio de los últimos años es el uso de rizobacterias, bacterias asociadas a la rizósfera, donde crean una relación de simbiosis con las raíces de la planta. Algunas rizobacterias están asociadas al crecimiento de las plantas, por lo que son denominadas como Plant Growth Promoting Rhizobacteria, éstas pueden encontrarse al interior de la raíz o sobre ésta como organismos endófitos (Beneduzi *et al.*, 2012; Parray *et al.*, 2016; Sharma *et al.*, 2016). Zaidi *et al.* (2015), indican que es importante que las cepas de PGPR sean competitivas en el suelo donde se establecen para poder colonizar adecuadamente las raíces de las plantas.

Las PGPR poseen diversos mecanismos de acción a través de los cuales pueden disminuir considerablemente el daño provocado por nemátodos en las plantas, dentro de los cuales se puede mencionar como mecanismos directos la producción de fitohormonas y sideróforos, fijación de nitrógeno, solubilización de minerales y, los mecanismos indirectos, que corresponden a la inducción de resistencia sistémica en la planta, producción de antibióticos, competencia por nutrientes, entre otros (Hernández *et al.*, 2006), con lo cual, pueden afectar la movilidad de los nemátodos y la eclosión de huevos (Kerry, 2000).

Ensayos realizados en papas en California e Idaho, sin presencia de nemátodos, indicaron que hubo un incremento significativo del rendimiento, de 14 a 33% del cultivo al tratar los tubérculos semilla con *Pseudomonas fluorescens* (Flügge, 1886) Migula, 1895 y *P. putida* (Trevisan, 1889) Migula, 1895 (Antoun y Prevost, 2006). Ahemad y Kibret (2014), explican que la inducción de resistencia sistémica adquirida (ISR) implica señalización por parte de ácido jasmónico y etileno, los cuales activan respuestas de defensa contra fitopatógenos por parte de la planta. Muchas bacterias liberan compuestos, como lipopolisacáridos, los cuales inducen ISR en las plantas; en estudios se probó que lipopolisacáridos de *Rhizobium etli* G12 inducen ISR cuando las raíces de papa son dañadas por el nemátodo *Globodera pallida* (Antoun y Prevost, 2006). En Chile, se han realizado estudios para probar el efecto que hay de las

rizobacterias sobre algunas especies de nemátodos, comprobando su éxito (Aballay *et al.*, 2011; Aballay *et al.*, 2012; Aballay *et al.*, 2013; Castañeda, 2014), por lo tanto debido a los antecedentes dados de *Globodera rostochiensis*, se realizará un experimento con el fin de encontrar una nueva herramienta de control para el manejo de este nemátodo en el cultivo de papa.

HIPÓTESIS

Existen aislados de rizobacterias nativas que son capaces de controlar poblaciones de *Globodera rostochiensis* en cultivos de papas (*Solanum tuberosum* L.).

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinación de la capacidad bioantagonista de *Brevibacterium frigoritolerans*, *Bacillus weihenstephanensis*, *Pseudomonas alkyphenolia* y *Oerskovia turbata* sobre el nemátodo dorado de la papa, *Globodera rostochiensis*, e incidencias en los daños en el cultivo de papa.

Objetivos específicos

1. Determinar el efecto de algunas rizobacterias nativas sobre crecimiento de la planta.
2. Determinar el efecto de algunas rizobacterias nativas sobre la densidad poblacional del nemátodo *Globodera rostochiensis*.
3. Determinar el efecto de algunas rizobacterias nativas, en conjunto con nematicidas químicos, sobre el control de *Globodera rostochiensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicado en la Comuna de La Pintana, Santiago, Chile

Para el desarrollo de la investigación, se realizaron dos ensayos en macetas y suelo naturalmente infestado.

Ensayo 1: Incidencia de rizobacterias sobre densidad poblacional de *Globodera rostochiensis* en papa, en suelo con mayor infestación

Para este ensayo se utilizaron tubérculos semilla de papa, *Solanum tuberosum* L., variedad Desiree, las cuales se sembraron en macetas de 5L con suelo naturalmente infestado con *Globodera rostochiensis*, obtenido desde un predio de la comuna de Curacaví. Se realizó un análisis nematológico previo, el cual determinó que la población inicial era, en promedio, de 190 quistes viables 250 cm^{-3} . Los tubérculos fueron inoculados, con cuatro cepas distintas de bacterias, antes de la siembra, constituyendo cinco tratamientos junto al testigo, sin bacterias (Cuadro 1).

Ensayo 2: Incidencia de rizobacterias sobre densidad poblacional de *Globodera rostochiensis* en papa, en condiciones de menor infestación en combinación con una aplicación de nematicida

El segundo ensayo se realizó de la misma manera que el primero, en un suelo con una carga de 55 quistes viables 250 cm^{-3} . Una vez establecidas las plantas, después de un mes y medio, se realizó una aplicación, a 0 centímetros de profundidad, del nematicida, Cadusafos, formulado como Rugby 10G, en una dosis de 2 g maceta^{-1} . Los tratamientos corresponden a las mismas cuatro cepas utilizadas en el ensayo anterior en conjunto con el tratamiento testigo, este último sin bacterias.

Para ambos ensayos se determinó, mediante un análisis nematológico de suelo, que la población inicial de larvas de *G. rostochiensis* era de 5 larvas 250 cm^{-3} de suelo. También se determinó que el promedio de huevos por quiste era de 195.

Preparación del inóculo bacteriano

Las bacterias utilizadas (cuadro 1), previamente aisladas y conservadas a -20°C en

glicerol, se descongelaron y cultivaron en un medio de Tryptic Soy Broth Agar (TSBA) al 100% por 24 horas a 25°C. Una vez verificada su pureza, las bacterias se multiplicaron en una solución de TSB estéril y fueron incubadas por 24 horas en una agitadora a 180 rpm, obteniendo un medio líquido.

Luego de descartar el sobrenadante al medio líquido, éste fue re-suspendido en 100 mL de una solución isotónica de MgSO₄ en una centrifuga a 3000 rpm por 15 minutos para obtener un pellet bacterial.

Éste último se diluyó para obtener una concentración final de 1×10^6 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) mL⁻¹.

Cuadro 1. Cepas de bacterias utilizadas en ambos ensayos.

Tratamiento	Cepa	Especie
1	37	<i>Brevibacterium frigoritolerans</i>
2	25	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>
3	55	<i>Oerskovia turbata</i>
4	1301	<i>Pseudomonas alkyphenolia</i>
5	Testigo (sin bacterias)	

Sustrato utilizado para los ensayos

En el cuadro 2 se muestran las características físico-químicas del suelo utilizado para ambos ensayos. Las variables se encuentran en rangos normales, excepto el fósforo, el cual se encuentra en niveles más altos.

Los métodos utilizados para determinar los valores y características del suelo son los siguientes:

- Para el pH se utilizó la relación 1:2,5 en agua.
- La conductividad eléctrica se midió a través de extracto saturado.
- Para determinar la materia orgánica se utilizó el Método de Walkley y Black.
- El valor del Nitrógeno disponible se obtuvo a través del método Bremner.
- El método Olsen fue el utilizado para medir el Fósforo disponible.
- Para medir el nivel de Potasio disponible se usó AcNH₄.
- La determinación de la textura se hizo a través del método Bouyoucos.

Cuadro 2. Análisis físico-químico del suelo utilizado en ambos ensayos.

Variable	Valor	Interpretación
Fertilidad		
pH	7,7	Lig. alcalino
Conductividad eléctrica (dS/m)	0,45	Sin problema
Materia orgánica (%)	2,2	Medio
Nitrógeno disponible (%) (mg/kg)	49	Adecuado
Fósforo disponible (%) (mg/kg)	60	Alto
Potasio disponible (%) (mg/kg)	155	Adecuado
Textura		
Arena (%)	59	
Limo (%)	20	
Arcilla (%)	21	
Clase textural	Franco arcillo arenosa	

Inoculación de tubérculos y establecimiento

El montaje de los ensayos se realizó el 27 de febrero de 2015. Antes de sembrar los tubérculos de papa en las macetas, éstos se sumergieron en la suspensión de bacterias según el tratamiento que corresponda durante 15 minutos. Luego, cada maceta fue regada con 200 mL de la misma suspensión de bacterias (Figura 1).

Durante los cinco meses que se mantuvieron las plantas, éstas fueron regadas de 3 a 4 veces a la semana durante el período estival, lo cual se fue modificando durante el otoño según las necesidades hídricas del cultivo, pero siempre uniforme para todas las macetas.

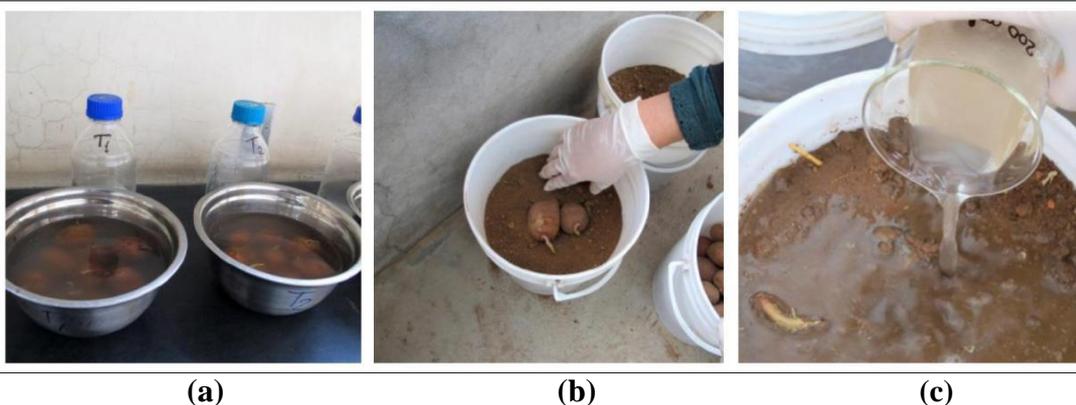


Figura 1. Inoculación de tubérculos con bacterias y siembra. (a) Tubérculos semilla sumergidos durante 15 minutos en la suspensión de bacterias. (b) Siembra de tubérculos en macetas. (c) Riego con 200 mL de suspensión de bacterias luego de sembrar.

Después de cuatro meses del establecimiento de las plantas, ambos ensayos sufrieron el ataque del hongo *Pythium* sp., por lo que las plantas enfermas se podaron a ras de suelo, con el fin de que brotaran nuevamente. Se pesó el material vegetativo podado de cada maceta para poder sumar estos datos a los obtenidos en la evaluación final (Figura 2).



(a)

(b)

(c)

Figura 2. Ensayos 1 y 2 establecidos bajo sombreadero. (a) Plantas de papa, sanas, de 3 meses de crecimiento aproximadamente. (b) Plantas atacadas por el hongo *Pythium* sp. (c) Ensayos 1 y 2, luego de realizar una poda a ras de suelo.

Evaluaciones

Cinco meses después del montaje de ambos ensayos se procedió a evaluar peso aéreo de las plantas, peso de la raíz, peso y número de tubérculos, número de quistes g^{-1} de raíz, población de quistes en el suelo y, finalmente, la población de larvas de *G. rostochiensis* en el suelo.

El método de extracción utilizado para las formas móviles corresponde al de Christie y Perry (1952), en el cual se deja una muestra de suelo de 250 cm^3 remojando en agua y luego se pasa por tamices de medidas $850 \mu\text{m}$, $250 \mu\text{m}$, $75 \mu\text{m}$ y $38 \mu\text{m}$, en el mismo orden. Luego, la muestra obtenida se filtra a través del embudo Baermann y después de 48 horas se extrae una muestra de 10 mL.

Para la extracción de quistes se utilizó el método Fenwick, como señala Hooper *et al.* (2005). Se deja secar una muestra de 250 cm^3 de suelo y luego ésta se pasa por un embudo en el cual los quistes flotan y caen en un tamiz de 0,124 mm. Posteriormente la muestra se pasa a un vaso precipitado con papel filtro en sus paredes, adhiriéndose los quistes a éste. Luego pueden ser observados bajo lupa.

- a) Peso aéreo: Para determinar el peso aéreo de las plantas, cada maceta se podó a ras del suelo y el material vegetativo se pesó en una balanza digital.

- b) **Peso raíz:** Después de obtener el peso de la parte aérea, se separó cuidadosamente la raíz del suelo de cada maceta, se sumergió unos segundos en agua de la llave para retirar el suelo adherido a ella, se dejó secar y se pesó en una balanza digital.
- c) **Peso y número de tubérculos:** Los tubérculos fueron separados de la raíz y el suelo. Se contaron los tubérculos de cada maceta y luego fueron pesados en una balanza digital.
- d) **Nº de quistes g^{-1} de raíz:** De cada raíz, se separó 1g homogéneo y se contó la población de quistes existente.
- e) **Extracción de suelo:** Luego de haber extraído la raíz del suelo, se tomaron muestras de 500 cm^3 de cada maceta en bolsas rotuladas para poder realizar un análisis nematológico para formas móviles y para quistes, las cuales fueron guardadas en una cámara de frío.
- f) **Población de larvas:** Se tomó una muestra de 250 cm^3 de cada bolsa rotulada y se determinó el número de larvas en ese volumen de suelo, tal como fue señalado anteriormente. Luego, fue posible obtener un índice reproductivo a través de la siguiente fórmula:

$$IR = \frac{\text{Población final de larvas en el suelo}}{\text{Población inicial de larvas en el suelo}}$$

- g) **Población de quistes:** Muestras de 250 cm^3 de suelo fueron lavadas a través del método Fenwick, como se explicó previamente. Una vez obtenida la población final de quistes de cada maceta se pudo obtener el índice reproductivo de la siguiente forma:

$$IR = \frac{\text{Población final de quistes viables en el suelo}}{\text{Población inicial de quistes viables en el suelo}}$$

Una vez obtenidos los índices reproductivos, se calculó el % de control que hubo sobre poblaciones de quistes y larvas del suelo, para ambos ensayos, de este modo:

$$\% \text{ Control} = \left(1 - \frac{IR \text{ tratamiento}}{IR \text{ testigo}} \right) * 100$$

Diseño experimental y análisis estadísticos

Para el diseño experimental se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA). La unidad experimental en ambos ensayos corresponde a la maceta de 5 L con una planta de papa y cada uno tenía 5 tratamientos con 10 repeticiones cada uno.

Para los análisis estadísticos se utilizó el programa MINITAB, versión 17. Para cumplir

con el supuesto de distribución normal fue necesario transformar los datos, utilizando la fórmula de logaritmo ($\log(x+1)$). Una vez cumplidos los supuestos se procedió a realizar el análisis de varianza (ANDEVA) y en caso de haber diferencias significativas se aplicó el test de Dunnet ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Ensayo 1: Incidencia de rizobacterias sobre densidad poblacional de *Globodera rostochiensis* en papa, en suelo con mayor infestación

En el cuadro 3, se muestran los valores medios por tratamiento de los datos de poblaciones de nemátodos; quistes g⁻¹ de raíz e IR de los quistes. Se puede apreciar que no hubo un efecto significativo de los tratamientos en comparación al testigo en cuanto al número de quistes encontrados por gramo de raíz.

Sin embargo, se observa un aumento significativo del índice reproductivo (IR), respecto del testigo del tratamiento correspondiente a *B. frigoritolerans*.

Cuadro 3. Evaluación del efecto antagonista de distintas cepas de rizobacterias sobre poblaciones de quistes de *Globodera rostochiensis*.

Tratamiento	Quistes g ⁻¹ de raíz	IR quistes	% Control
<i>Brevibacterium frigoritolerans</i> 37	159.8	4.9*	0
<i>Bacillus weihenstephanensis</i> 25	194	3.2	0
<i>Oerskovia turbata</i> 55	185	2.5	13.8
<i>Pseudomonas alkyphenolia</i> 1301	144	3.3	0
Testigo	115	2.9	-

Los valores de cada tratamiento corresponden al promedio de diez repeticiones. Aquellos valores etiquetados con asterisco (*), son significativamente diferentes de la media del testigo, por cada momento de evaluación, según test de Dunnet ($P \leq 0,05$).

El cuadro 4, muestra que ninguno de los tratamientos tuvo resultados significativamente diferentes, respecto al tratamiento testigo, en controlar poblaciones de larvas.

Cuadro 4. Evaluación del efecto antagonista de distintas cepas de rizobacterias sobre poblaciones de larvas de *Globodera rostochiensis*.

Tratamiento	IR larvas	% Control
<i>Brevibacterium frigiditolerans</i> 37	10.34	24.3
<i>Bacillus weihenstephanensis</i> 25	3.86	71.7
<i>Oerskovia turbata</i> 55	17.14	0
<i>Pseudomonas alkyphenolia</i> 1301	8.54	37.5
Testigo	13.66	-

Los valores de cada tratamiento corresponden al promedio de diez repeticiones. Aquellos valores etiquetados con asterisco (*), son significativamente diferentes de la media del testigo, por cada momento de evaluación, según test de Dunnet ($P \leq 0,05$).

En el cuadro 5, se puede apreciar que los tratamientos no fueron diferentes al testigo sobre el peso aéreo de las plantas. Pero sí se observan resultados positivos del tratamiento correspondiente a *O. turbata*, en los cuales se observa un peso mayor de raíz en comparación al testigo.

A pesar de que *B. frigiditolerans*, fue la que presentó mayor índice reproductivo, los resultados arrojaron que esta cepa tuvo mayor peso de tubérculos, muy diferente al testigo.

Respecto al número de tubérculos, *B. weihenstephanensis* tuvo mayor impacto en comparación al tratamiento testigo.

Cuadro 5. Evaluación del efecto antagonista de distintas cepas de rizobacterias sobre poblaciones de quistes de *Globodera rostochiensis*, mediante parámetros de plantas.

Tratamiento	Peso aéreo plantas (g)	Peso raíz (g)	Peso tubérculos (g)	Nº de tubérculos
<i>Brevibacterium frigiditolerans</i> 37	32.8	3.7	48.7*	4.5
<i>Bacillus weihenstephanensis</i> 25	31.3	3.1	44.7	6.4*
<i>Oerskovia turbata</i> 55	28.6	5.1*	42.4	4.0
<i>Pseudomonas alkyphenolia</i> 1301	27.2	3.1	42.3	4.6
Testigo	23.8	3.1	37.2	3.6

Los valores de cada tratamiento corresponden al promedio de diez repeticiones. Aquellos valores etiquetados con asterisco (*), son significativamente diferentes de la media del testigo, por cada momento de evaluación, según test de Dunnet ($P \leq 0,05$).

Ensayo 2: Incidencia de rizobacterias en combinación con nematicidas sobre la densidad poblacional de *Globodera rostochiensis* en papa, en condiciones de menor infestación de suelo

En el cuadro 6, se observa que no hubo diferencias significativas de los tratamientos en comparación al testigo en el número de quistes por gramo de raíz.

Respecto al índice reproductivo, se logra apreciar que *O. turbata* muestra resultados positivos en contraste al testigo.

Cuadro 6. Evaluación del efecto antagonista de distintas cepas de rizobacterias sobre poblaciones de quistes de *Globodera rostochiensis*.

Tratamiento	Quistes g ⁻¹ de raíz	IR	% Control
<i>Brevibacterium frigoritolerans</i> 37	195.1	4.9	0
<i>Bacillus weihenstephanensis</i> 25	186.8	3.4	29.2
<i>Oerskovia turbata</i> 55	117	1.4*	70.8
<i>Pseudomonas alkyphenolia</i> 1301	94.3	1.7	64.6
Testigo	112.6	4.8	-

Los valores de cada tratamiento corresponden al promedio de diez repeticiones. Aquellos valores etiquetados con asterisco (*), son significativamente diferentes de la media del testigo, por cada momento de evaluación, según test de Dunnet ($P \leq 0,05$).

En el cuadro 7, se puede apreciar que ninguna de las cepas bacterianas obtuvo resultados significativamente diferentes, respecto al testigo, en la presencia de larvas en el suelo.

Cuadro 7. Evaluación del efecto antagonista de distintas cepas de rizobacterias sobre poblaciones de larvas de *Globodera rostochiensis*.

Tratamiento	IR larvas	% Control
<i>Brevibacterium frigoritolerans</i> 37	2.0	13.1
<i>Bacillus weihenstephanensis</i> 25	4.6	0
<i>Oerskovia turbata</i> 55	8.0	0
<i>Pseudomonas alkyphenolia</i> 1301	5.6	0
Testigo	2.3	-

Los valores de cada tratamiento corresponden al promedio de diez repeticiones. Aquellos valores etiquetados con asterisco (*), son significativamente diferentes de la media del testigo, por cada momento de evaluación, según test de Dunnet ($P \leq 0,05$).

En el cuadro 8, se presentan los datos de evaluación de plantas. De acuerdo a estos datos, no hubo efecto significativo de los tratamientos, ni sobre el peso de las plantas ni

en el número de tubérculos. Sin embargo, se observa que los tratamientos correspondientes a *B. frigorigerans*, *O. turbata* y *P. alkyphenolia* tuvieron efectos positivos, en comparación al testigo, al presentar mayor peso de la raíz y también mayor peso de los tubérculos.

Cuadro 8. Evaluación del efecto antagonista de distintas cepas de rizobacterias sobre poblaciones de quistes de *Globodera rostochiensis*, mediante parámetros de plantas.

Tratamiento	Peso aéreo plantas (g)	Peso raíz (g)	Peso tubérculos (g)	Nº de tubérculos
<i>Brevibacterium frigorigerans</i> 37	39.7	4.4*	47.9*	4.8
<i>Bacillus weihenstephanensis</i> 25	39.7	4.1	41.5	4.2
<i>Oerskovia turbata</i> 55	39.7	6.4*	47.5*	5.4
<i>Pseudomonas alkyphenolia</i> 1301	31.2	4.9*	50.5*	5.4
Testigo	30.9	2.6	35.5	5.8

Los valores de cada tratamiento corresponden al promedio de diez repeticiones. Aquellos valores etiquetados con asterisco (*), son significativamente diferentes de la media del testigo, por cada momento de evaluación, según test de Dunnet ($P \leq 0,05$).

DISCUSIÓN

Diferentes estudios han revelado la importancia de las rizobacterias como biocontroladoras de nemátodos, así como también los mecanismos que utilizan en la supresión de éstos y como promotoras del crecimiento de las plantas (Kerry, 2000; Oka, 2010; Sarabia *et al.*, 2010; Siddiqui, 2006). Varios autores señalan que las rizobacterias han tenido resultados positivos en el control de nemátodos quiste; la bacteria *Rhizobium etli* G12 sobre *Globodera pallida* (Antoun y Prevost, 2006), cepas de *Bacillus* spp. en el control de *Globodera tabacum solanacearum* (Parkunan *et al.*, 2009) y nemátodos quistes en remolacha azucarera a través de *Pseudomonas fluorescens* P523 (Ali *et al.*, 2002). También hay trabajos anteriores en los que se ha visto el potencial control que pueden ejercer los géneros de rizobacterias estudiadas en esta memoria sobre otros organismos; trabajos de Aballay *et al.* (2011), Aballay *et al.* (2012), Aballay *et al.* (2013) y Castañeda (2014), en los que se estudió la incidencia de *Brevibacterium frigoritolerans* y algunas cepas de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. sobre los nemátodos *Meloidogyne ethiopica* y *Xiphinema index* obtuvieron resultados promisorios. No se han reportado estudios en donde se haya utilizado la bacteria *Oerskovia turbata* (también denominada *Cellulomonas turbata*) como potencial bioantagonista de nemátodos, aunque Byrne *et al.* (2005), demostró que esta bacteria fue eficiente en disminuir la severidad de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* y *Xanthomonas vesicatoria*, ambas bacterias responsables de la mancha bacteriana en tomate.

Ahemad y Kibret (2014) y Antoun y Prevost (2006) señalan que las rizobacterias poseen dos tipos de mecanismos a través de los cuales promueven el crecimiento de las plantas. El primero, el directo, puede incluir fijación de nitrógeno, solubilización del fósforo en el suelo, ambos elementos muy importantes para el crecimiento de las plantas y aumento de rendimiento, producción de sideróforos, entre otros. El segundo, el mecanismo indirecto, ocurre a través de los agentes de control biológico que mantienen a la planta protegida de las posibles plagas y enfermedades que la puedan afectar. Todo esto podría explicar el comportamiento de las macetas tratadas con la cepa 37, *Brevibacterium frigoritolerans*, ya que en ambos ensayos se observa que esta bacteria no tuvo efecto sobre la reproducción de *Globodera rostochiensis*, en cambio, sí se puede decir que hubo efecto promotor del crecimiento. En el primer ensayo hay aumento del peso de los tubérculos y en el segundo, hay mayor peso de tubérculos y de raíz.

Oerskovia turbata, cepa 55, tuvo un comportamiento estable al ser la más activa en controlar las poblaciones de quistes *G. rostochiensis* en ambos ensayos, siendo más efectiva en el segundo ensayo. Además en este ensayo se observó efecto promotor del crecimiento positivo, con resultados significativamente distintos al testigo, para las cepas 55, 37 y 1301 (*P. alkyphenolia*), ya que en aquellas macetas con esos tratamientos se logró evaluar mayor peso de raíz y de tubérculos. Esto pudo ocurrir, probablemente, porque las poblaciones iniciales del nemátodo eran más bajas, por lo que las rizobacterias pudieron controlar de mejor manera en comparación al primer ensayo, durante el tiempo establecido, tal como ocurre en el control biológico inundativo

(Lacey *et al.*, 2001).

Respecto al control de larvas, no se observan resultados relevantes, a diferencia de los resultados obtenidos en el control de quistes del nemátodo dorado de la papa. Esto se debe a que las larvas eclosionan solo en presencia de hospederos, por eso la población final es muy baja y de escasa utilidad para el estudio. Esto no deja de adquirir importancia al ser los quistes la estructura de resistencia que puede mantener a los huevos viables en su interior durante un largo período de tiempo, sin presencia de hospedero (Nicol *et al.*, 2011; Turner y Rower, 2006).

Por otra parte, respecto al control químico, diversos estudios han indicado la disminución de biodiversidad de microorganismos que provocan estos productos en el suelo (Mahmood *et al.*, 2016; Stirling, 2014; Van Diepeningen *et al.*, 2006). Sin embargo, Osborn *et al.* (2010), indican que el comportamiento de algunos nematicidas granulares utilizados para el control de nemátodos puede ser errático. Entre las principales razones se encuentra la pérdida de eficacia debido a la degradación de éstos en el suelo, más aún si se ocupa el mismo producto dos o más veces ya que las bacterias que participan en este proceso son capaces de adaptarse y aumentar la tasa de degradación del químico.

Haydock *et al.* (2006) señala que existe una profundidad óptima de aplicación del nematicida granular en campo, con una profundidad de siembra de 10 cm., tal como se realizó en los ensayos de esta memoria. Los autores indican que la menor efectividad está dada por una aplicación a los 0 cm de profundidad, seguida por los 35 cm o más, siendo la profundidad más efectiva entre los 15 y 20 cm. Esto puede indicar que no hubo un efecto óptimo del nematicida en el ensayo 2al ser aplicado a los 0 cm de profundidad, en cada maceta de cada tratamiento. O pudo haber algún efecto sinérgico con las bacterias, tal como describe Viaene *et al.* (2006) En un manejo integrado de nemátodos, muchas veces el control biológico se ve favorecido cuando se realiza una desinfestación previa del suelo, ya que disminuye la población de microorganismos y el bioantagonista puede colonizar de manera más fácil las raíces y además, disminuye la población de nemátodos fitopatógenos a un nivel en el que el agente de biocontrol puede ser más eficaz.

Los biopesticidas han ido ocupando cada vez mayor lugar en el mercado gracias al desarrollo y estudio que se ha realizado de éstos en la última década (Mnif y Ghribi, 2015). Ésto deja en evidencia el importante rol que tiene el control biológico en la agricultura, y de este modo, ir disminuyendo el uso de químicos que han provocado la pérdida de macro y microflora y fauna, contaminación y problemas ambientales (Mishra *et al.*, 2015). En la presente investigación se muestra la importancia de las rizobacterias en el control de *G. rostochiensis*, en donde *Oerskovia turbata*, presentó resultados considerables para seguir siendo evaluada en otros estudios de control biológico de nemátodos.

CONCLUSIÓN

De acuerdo a la hipótesis y a los objetivos planteados se puede concluir lo siguiente:

Las rizobacterias evaluadas pueden ser potencialmente utilizadas para el control de *Globodera rostochiensis*.

Los resultados indican que *Oerskovia turbata* puede ser utilizada como una importante herramienta en el control biológico del nemátodo dorado de la papa y en el efecto promotor del crecimiento de las plantas de papa, en suelos que posean una baja infestación. En este mismo suelo, *Pseudomonas alkyphenolia* y *Brevibacterium frigoritolerans* también pueden ser importantes promoviendo el crecimiento de las plantas.

O. turbata puede ser considerada para futuras investigaciones, dados los pocos estudios que existen en relación a ésta como rizobacteria promotora del crecimiento de las plantas.

BIBLIOGRAFÍA

Aballay, E.; Martensson, A. and Persson, P. 2011. Screening of rhizosphere bacteria from grapevine for their suppressive effect on *Xiphinema index* Thorne & Allen on in vitro grape plants. *Plant and Soil*, 347(1-2): 313-325.

Aballay, E.; Ordenes, P.; Martensson, A. and Persson, P. 2013. Effects of rhizobacteria on parasitism by *Meloidogyne ethiopica* on grapevines. *European Journal of Plant Pathology*, 135(1): 137-145.

Aballay, E., Prodan, S., Martensson, A. and Persson, P. 2012. Assessment of rhizobacteria from grapevine for their suppressive effect on the parasitic nematode *Xiphinema index*. *Crop Protection*, 42: 36-41.

Ahemad, M. and Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science*, 26(1): 1-20.

Ali, N.; Siddiqui, A.; Shaikat, S. and Zaki, M.J. 2002. Nematicidal activity of some strains of *Pseudomonas* spp. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(8): 1051-1058.

Antoun, H. and Prévost, D. 2006. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. (cap. 1, pp.1-38). In: Siddiqui, Z. (Ed.). *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Dordrecht, Netherlands: Springer. 318p.

Beneduzi, A.; Ambrosini, A. and Passaglia, L. 2012. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35 (4 suppl.): 1044-1051.

Byrne, J.; Dianese, A.; Ji, P.; Campbell, H.; Cuppels, D.; Louws, F.; Miller, S.; Jones, J. and Wilson, M. 2005. Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America. *Biological Control*, 32: 408-418.

Castañeda, C. 2014. Caracterización fisiológica, molecular e identificación bioquímica de metabolitos y enzimas de cepas rizobacterianas con aptitud nematicida 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. 52p.

Christie, J. and Perry, G. 1951. Removing nematodes from soil. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, 18(2): 106-108.

Eguillor, P. 2010, Septiembre. El Mercado de la papa 2009-2010. ODEPA, Ministerio de Agricultura. [En línea]. Santiago, Chile: ODEPA. 18p. Recuperado en: <<http://www.odepa.cl/odepaweb/publicaciones/doc/2385.pdf>> Consultado el: 01 de Noviembre de 2014.

Franco, J. 1994. Review: Problemas de Nemátodos en la Producción de Papa en Climas Templados en la Región Andina. *Nematropica*, 24(2): 179-195.

Fuller, V.; Lilley, C. and Urwin, P. 2008. Nematode resistance. *The New phytologist*, 180(1): 27-44.

Greco, N. and Moreno, I. 1992. Development of *Globodera rostochiensis* during three different growing seasons in Chile. *Nematropica*, 22(2): 175-181.

Hernández, A.; Heydrich, M.; Velázquez, M. y Hernández, A. 2006. Perspectivas del empleo de rizobacterias como agentes de control biológico en cultivos de importancia económica. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1): 42-46.

Herrera-Estrella, A. and Chet, I. 1999. Chitinases in biological control. (pp. 171-184). In: Jollès, P. and Muzzarelli, R. A. A. (Eds.). Chitin and Chitinases. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag AG. 340p.

Hooper, D.; Hallmann, J. and Subbotín, S. 2005. Methods for Extraction, Processing and Detection of Plant and Soil Nematodes. (cap. 3, pp. 53-86). In: Luc, M., Sikora, R. and Bridge, J. (Eds.). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2nd Edition. Wallingford, UK: CABI Publishing. 917p.

Hydock, P.; Woods, S.; Grove, I., and Hare, M. 2006. Chemical Control of Nematodes. (cap. 16, pp. 392-410). In: Perry, R. and Moens, M. (Eds.). Plant Nematology. Wallingford, UK: CABI Publishing. 447p.

INIA. 2009, Noviembre Manual de Papa para La Araucanía: Manejo de cultivo, enfermedades y almacenaje. (Bol. Tec. N°194), Centro Regional Carillanca, INIA, Ministerio de Agricultura. [En línea]. Temuco, Chile: INIA. 116 p. Recuperado en: <<http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR36493.pdf>>. Consultado el 8 de enero de 2016.

Jung, C.; Cai, D. and Kleine, M. 1998. Engineering nematode resistance in crop species. *Trends in Plant Science*, 3(7): 266-271.

Kerry, B.R. 2000. Rhizosphere Interactions and the Exploitation of Microbial Agents for the Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 38(1): 423-441.

Khan, A., Williams, K. and Nevalainen, H. 2006. Control of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum* in pot trials. *BioControl*, 51: 643-658.

Lacey, L.A.; Frutos, R.; Kaya, H.K. and Vail, P. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?. *Biological Control*, 21(3): 230-248.

Mahmood, I.; Imadi, S.; Shazadi, K.; Gul, A. and Hakeem, K. 2016. Effects of Pesticides on Environment. (cap. 13, pp. 253-270). In: Hakeem, K., Akhtar, M. and Akmar, S. (Eds.). *Plant, Soil and Microbes. Volume 1: Implications in Crop Science.* Switzerland: Springer. 366p.

Mera, M.; Lizana, C., and Calderini, D. 2015. Cropping systems in environments with high yield potential of southern Chile.(cap. 6, pp. 111-140). In: Sadras, V. and Calderini, D. (Eds.). *Crop Physiology: Applications for Genetic Improvement and Agronomy.* 2nd Edition. 566p.

Mnif, I., and Ghribi, D. 2015. Potential of bacterial derived biopesticides in pest management. *Crop Protection*, 77: 52-64.

Mishra, J.; Tewari, S.; Singh, S.; Arora, N.2015.Biopesticides: Where We Stand? (cap. 2, pp. 37-75). In: Naveen, A. (Ed.). *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets.* Dordrecht, Netherlands: Springer. 383p.

Nicol, J., Turner, S., Coyne, D. and Den Nijs, L. 2011. Current Nematode Threats to World Agriculture. (cap. 2, pp. 21-44). In: Jones, J., Gheysen, G. and Fenoll, C. (Eds.). *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions.* Dordrecht, Netherlands: Springer. 557p.

Oka, Y. 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments - A review. *Applied Soil Ecology*, 44(2): 101-115.

Osborn, R.; Edwards, S.; Wilcox, A., and Haydock Patrick. 2010. Potential enhancement of degradation of the nematicides aldicarb, oxamyl and fosthiazate in UK agricultural soils through repeated applications. *Pest Management Science*, 66: 253-261.

Parkunan, V.; Johnson, C. and Eisenback, J. 2009. Biological and Chemical Induction of Resistance to the *Globodera tabacum solanacearum* in Oriental and Flue-Cured Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Journal of Nematology*, 41(3): 203-210.

Parray, J.; Jan, S.; Kamili, A.; Qadri, R.; Egamberdieva, D. and Ahmad, R. 2016. Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35: 877-902.

Pefaur, J. 2015, Septiembre. Boletín de la Papa. ODEPA, Ministerio de Agricultura. [En línea]. 16p. Recuperado en: <http://www.odepa.cl/wp-content/files_mf/1442408394Papa201509.pdf> Consultado el: 15 de Abril de 2016.

SAG. 2013, Octubre. Situación actual de las enfermedades cuarentenarias de la papa en la zona sur de Chile. Servicio Agrícola y Ganadero, Ministerio de Agricultura. [En línea]. Región de Los Lagos, Chile: SAG. 31p. Recuperado en: <http://www.sag.cl/sites/default/files/o.-plagas_cuarentenarias_papa.pdf> Consultado el: 20 de Junio de 2016.

Saifullah, A and Khan, N. 2014. Low temperature scanning electron microscopic studies on the interaction of *Globodera rostochiensis* Woll. and *Trichoderma harzianum* Rifai. *Pakistan Journal of Botany*, 46(1): 357-361.

Santos, J. y Orena, S. 2006. Variedades de Papa. (pp. 49-64). En: Manual de Producción de Papa para la Agricultura Familiar Campesina (A.F.C). (Bol. INIA N° 147), INIA, Ministerio de Agricultura. [En línea]. 169 p. Recuperado en: <<http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR33861.pdf>>. Consultado el 20 de octubre de 2016.

Sarabia, M.; Madrigal, R.; Martínez, M. y Carreón, Y. 2010. Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas*, 12(1): 65-71.

Scurrah, M.; Niere, B. and Bridge, J. 2005. Nematode Parasites of Solanum and Sweet Potatoes. (cap. 6, pp. 193-219). In: Luc, M., Sikora, R. and Bridge, J. (Eds.). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2nd Edition. Wallingford, UK: CABI Publishing. 917p.

Sharma, P.; Kumawat, K.C. and Kaur, S. 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Nutrient Enrichment: Current Perspectives. (cap. 20, pp. 263-289). In: Singh, S.S and Singh, N.P. (Eds.). Biofortification of Food Crops. Dordrecht, Netherlands: Springer. 492p.

Siddiqui, Z. 2006. PGPR: Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. (cap. 4, pp. 111-142). In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Dordrecht, Netherlands: Springer. 318p.

Stirling, G. 2014. Ecosystem Services and the Concept of 'Integrated Soil Biology Management'. (cap. 1, pp. 3-14). In: Biological Control of Plant-parasitic Nematodes. 2nd Edition. Wallingford, UK: CABI Publishing. 510p.

Turner, S. and Rowe, J. 2006. Cyst Nematodes. (cap. 4, pp. 91-122). In: Perry, R. and Moens, M. (Eds.). Plant Nematology. Wallingford, UK: CABI Publishing. 447p.

Van Diepeningen, A.; De Vos, O.; Korthals, G. and Van Bruggen, A. 2006. Effects of Organic versus Conventional Management on Chemical and Biological Parameters in Agricultural Soils. *Applied Soil Ecology*, 31: 120-135.

Viaene, N.; Coyne, D. and Kerry, B. 2006. Biological and Cultural Management. (cap. 14, pp. 346-369). In: Perry, R. and Moens, M. (Eds.). Plant Nematology. Wallingford, UK: CABI Publishing. 447p.

Zaidi, A.; Ahmad, E.; Khan, M.; Saif, S. and Rizvi, A. 2015. Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. *Scientia Horticulturae*, 193: 231-239.

APÉNDICES

Cuadro 9. Evaluaciones realizadas en el ensayo 1.

TRAT	PP	PT	NT	PIL	PIQV	PIQNV	PR	QR	PFL	PFQV	PFQNV
T1R1	25	44,8	3	5	120	32	2,3	144	33	400	40
T1R2	50	44,4	5	5	86	26	5,5	267	126	546	43
T1R3	30	42,7	10	5	122	42	3,5	209	5	536	47
T1R4	30	55,3	4	5	120	46	3	75	197	628	23
T1R5	20	45,2	5	5	118	42	3,3	169	4	559	61
T1R6	25	46,3	2	5	146	40	3	69	81	504	26
T1R7	35	49,8	4	5	148	34	3,1	209	7	645	29
T1R8	40	54,3	4	5	94	38	4,5	120	18	546	37
T1R9	12,6	55,3	4	5	118	32	6,2	196	38	457	51
T1R10	60	50	4	5	84	26	2,7	141	8	590	53
T2R1	40	46,7	5	5	134	42	3,5	326	8	380	36
T2R2	25	54,2	6	5	120	44	2,4	255	33	680	28
T2R3	26,9	44,6	5	5	120	40	4,3	139	18	430	28
T2R4	30	44,1	8	5	136	56	3,1	239	17	503	51
T2R5	40	40,8	11	5	134	60	3,3	102	10	612	45
T2R6	35	40	6	5	190	86	4	389	32	572	41
T2R7	40	42,1	4	5	194	60	3	156	10	435	44
T2R8	25	51,7	11	5	206	64	1,5	164	7	354	39
T2R9	30	46,4	5	5	170	54	2,3	147	20	398	38
T2R10	21,2	36,2	3	5	158	60	3,2	26	38	375	55
T3R1	55	42,9	4	5	158	52	3,8	192	28	660	40
T3R2	27,3	40,3	2	5	208	46	7,2	28	425	381	39
T3R3	6,2	40,4	3	5	160	72	3,1	265	48	284	53
T3R4	15,9	42,3	4	5	190	72	8,2	46	66	380	53
T3R5	45	40,1	4	5	102	48	4,5	78	130	362	54
T3R6	33,2	37	3	5	238	64	6	264	12	558	35
T3R7	20	37,1	8	5	208	60	6,2	379	64	492	45
T3R8	23,1	49,1	5	5	160	50	5	69	26	230	40
T3R9	40	53,3	3	5	212	74	4,1	60	12	601	60
T3R10	20	41,2	4	5	154	52	2,6	469	46	381	56

(Continúa)

Cuadro 9. (Continuación).

TRAT	PP	PT	NT	PIL	PIQV	PIQNV	PR	QR	PFL	PFQV	PFQNV
T4R1	10,7	41,1	5	5	116	38	1,7	38	119	374	43
T4R2	10	19,6	4	5	156	54	1,2	28	84	353	36
T4R3	50	48,5	5	5	152	60	4,7	272	12	812	49
T4R4	30	50,2	7	5	194	68	3,9	289	2	560	38
T4R5	30	41,5	3	5	160	62	3,2	128	91	591	25
T4R6	35	40	3	5	194	72	3,5	120	3	452	38
T4R7	35	50,3	3	5	154	48	2,8	195	37	490	21
T4R8	15,9	42,2	7	5	150	56	4,5	46	39	412	52
T4R9	20	49,7	6	5	164	80	2,7	196	5	417	26
T4R10	35	39,6	3	5	108	48	3	131	35	537	39
T5R1	25	32,5	5	5	96	48	2,9	50	193	541	32
T5R2	20	50,6	4	5	148	48	2,2	96	28	430	44
T5R3	35	41,5	3	5	162	60	2,8	342	22	436	32
T5R4	30	37	4	5	162	70	2,3	97	4	320	52
T5R5	21,8	46	4	5	174	58	3	41	104	509	34
T5R6	30	40,5	5	5	172	84	2,3	205	85	483	33
T5R7	30	27,3	3	5	160	56	1,6	87	16	273	33
T5R8	16,2	35,4	4	5	136	58	4,5	79	21	594	59
T5R9	15,7	42,7	2	5	156	46	7,2	90	79	329	30
T5R10	15	18,5	2	5	190	80	1,9	63	131	409	37

PP: Peso aéreo plantas (g), **PT:** Peso tubérculos (g), **NT:** Número de tubérculos, **PIL:** Población inicial de larvas, **PIQV:** Población inicial de quistes viables, **PIQNV:** Población inicial de quistes no viables, **PR:** Peso raíz (g), **QR:** Número de quistes/g de raíz, **PFL:** Población final de larvas, **PFQV:** Población final de quistes viables, **PFQNV:** Población final de quistes no viables.

Cuadro 7. Evaluaciones realizadas en el ensayo 2.

TRAT	PP	PT	NT	PIL	PIQV	PIQNV	PR	QR	PFL	PFQV	PFQNV
T1R1	50	52,7	3	5	36	18	3,3	162	7	178	36
T1R2	17,2	57,4	6	5	66	36	7,4	68	13	299	27
T1R3	40	50,9	6	5	48	28	4,7	232	8	147	25
T1R4	30	40,1	6	5	44	36	3	144	18	318	32
T1R5	35	49,2	7	5	50	28	3,6	114	7	315	33
T1R6	45	50	3	5	42	22	5	127	28	251	31
T1R7	45	47	6	5	44	26	3,4	440	5	113	36
T1R8	55	39,3	3	5	48	22	4,2	210	1	230	59
T1R9	60	48	6	5	36	16	5,1	271	6	195	32
T1R10	20	44,7	2	5	54	38	4,5	180	5	234	11
T2R1	50	46,8	4	5	50	38	6,5	374	35	209	30
T2R2	30	40,1	4	5	62	28	4,1	48	128	214	28
T2R3	35	47,9	7	5	50	36	5,4	118	38	227	32
T2R4	40	40,8	5	5	72	38	2,1	204	6	175	21
T2R5	40	42,2	3	5	58	36	1,3	104	11	93	24
T2R6	56,8	19,2	4	5	52	18	4,8	68	3	96	25
T2R7	40	44,3	3	5	32	24	4,4	228	4	77	33
T2R8	10	34,8	3	5	34	20	3,5	170	6	177	26
T2R9	50	51,8	4	5	46	28	4,2	247	0	279	29
T2R10	45	46,8	5	5	62	58	4,8	305	1	165	52
T3R1	60	51,9	4	5	158	52	5,8	132	2	332	20
T3R2	40	43,8	4	5	208	46	2,6	258	20	206	13
T3R3	35	34,7	8	5	160	72	8	112	33	139	31
T3R4	40	53,9	7	5	190	72	6,5	160	10	307	32
T3R5	21,2	46	4	5	102	48	16,1	23	121	268	22
T3R6	25	56,6	8	5	238	64	4,6	140	19	234	25
T3R7	44,1	50,8	4	5	208	60	6,3	77	0	260	22
T3R8	35	58,5	5	5	160	50	3,3	157	7	274	34
T3R9	57	35	4	5	212	74	6	10	117	233	36
T3R10	40	43,9	6	5	154	52	4,6	98	71	152	27

(Continúa)

Cuadro 7. (Continuación).

TRAT	PP	PT	NT	PIL	PIQV	PIQNV	PR	QR	PFL	PFQV	PFQNV
T4R1	25	28,2	6	5	116	38	4,4	132	39	176	33
T4R2	28,1	55,6	9	5	156	54	7,8	169	6	247	18
T4R3	20	70,3	4	5	152	60	4	119	12	209	28
T4R4	55	33	4	5	194	68	2,4	133	2	251	25
T4R5	44,7	56,3	5	5	160	62	10,8	94	20	264	17
T4R6	9,4	51,9	7	5	194	72	6,2	156	6	248	19
T4R7	45	40,3	3	5	154	48	3,9	41	29	335	26
T4R8	50	66,8	4	5	150	56	4	66	74	426	21
T4R9	10	45,2	7	5	164	80	2,3	14	7	195	35
T4R10	25	57,1	5	5	108	48	3,2	15	85	182	27
T5R1	42,4	31,5	5	5	44	34	4,4	36	2	145	29
T5R2	35	37,5	10	5	20	12	1,6	92	0	206	16
T5R3	30	42,8	5	5	44	34	1,9	52	2	130	19
T5R4	30	6,3	2	5	34	32	2,1	162	12	106	16
T5R5	30	31	4	5	16	12	4,6	218	12	53	16
T5R6	30	46,2	5	5	42	30	2	145	18	272	25
T5R7	21,8	38,4	6	5	16	12	3	34	2	145	9
T5R8	35	42,7	4	5	56	36	2,3	58	15	217	23
T5R9	35	42	10	5	56	44	2,8	303	20	177	29
T5R10	20	36,4	7	5	64	54	1,2	24	34	148	33

PP: Peso aéreo plantas (g), **PT:** Peso tubérculos (g), **NT:** Número de tubérculos, **PIL:** Población inicial de larvas, **PIQV:** Población inicial de quistes viables, **PIQNV:** Población inicial de quistes no viables, **PR:** Peso raíz (g), **QR:** Número de quistes/g de raíz, **PFL:** Población final de larvas, **PFQV:** Población final de quistes viables, **PFQNV:** Población final de quistes no viables.