

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**DETERMINACIÓN DE NEMÁTODOS DEL GÉNERO *PRATYLENCHUS* EN UN
HUERTO DE MANZANOS DE BAJO VIGOR Y EVALUACIÓN DEL CONTROL
QUÍMICO**

KARLA GIANNINA CÓRDOVA ZÚÑIGA

SANTIAGO - CHILE
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**DETERMINACIÓN DE NEMÁTODOS DEL GÉNERO *PRATYLENCHUS* EN UN
HUERTO DE MANZANOS DE BAJO VIGOR Y EVALUACIÓN DEL CONTROL
QUÍMICO**

**DETERMINATION OF NEMATODES *PRATYLENCHUS* AN APPLE ORCHARD
IN LOW FORCE AND EVALUATION OF CHEMICAL CONTROL**

KARLA GIANNINA CÓRDOVA ZÚÑIGA

SANTIAGO, CHILE
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**DETERMINACIÓN DE NEMÁTODOS DEL GÉNERO *PRATYLENCHUS* EN UN
HUERTO DE MANZANOS DE BAJO VIGOR Y EVALUACIÓN DEL CONTROL
QUÍMICO**

Memoria para optar al título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

KARLA GIANNINA CÓRDOVA ZÚÑIGA

	Calificaciones
Profesor Guía	
Erwin Aballay E. Ingeniero Agrónomo, M. Sc. Ph. D.	7,0
Profesores Evaluadores	
Nicola Fiore Ingeniero Agrónomo, Ph. D. Cs.	6,0
Gioio Castellaro G. Ingeniero Agrónomo, M. Sc.	6,5

SANTIAGO, CHILE
2012

AGRADECIMIENTOS

Partiré agradeciendo a mi profesor, Erwin, por su confianza y apoyo, y por entregarme todos los conocimientos que hoy me tienen aquí.

A Silvia y Simona, por su amistad, por todos los días que hemos compartido juntas, almuerzos, terrenos, asados, cumpleaños, o simplemente acompañándonos con un café helado. A Oriana, por su ayuda cuando este proceso recién comenzaba. Gracias a las tres por todo el cariño que me entregan.

A mis padres, sin ellos nada de esto podría ser posible. Por su infinito amor y paciencia, por comprenderme siempre y apoyarme en todas mis decisiones, a ustedes les debo todo lo que soy hoy día. A mi hermana Carolina, por estar siempre, por sus palabras de apoyo, por su inmensa alegría.

Y termino agradeciendo a Ignacio, por todos estos años de amor, y por hacerme cada día más feliz. Te Amo.

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS	4
OBJETIVOS	4
MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
LUGAR DE ESTUDIO	5
MUESTREO DE SUELO	5
EXTRACCIÓN DE NEMÁTODOS	5
CUANTIFICACIÓN DE GÉNEROS PRESENTES.....	7
Fijación y montaje de nemátodos.....	7
IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO <i>PRATYLENCHUS</i>	7
EVALUACIÓN DEL CONTROL QUÍMICO	8
DISEÑO EXPERIMENTAL	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
POBLACIÓN DE NEMÁTODOS EN SUELO	11
POBLACIÓN DE NEMÁTODOS DEL GÉNERO <i>PRATYLENCHUS</i> EN RAÍCES	11
IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE <i>PRATYLENCHUS</i>	12
Caracterización de especies.....	13
Determinación morfométrica de especies	14
Descripción morfológica de especies.....	17
EVALUACIÓN DEL CONTROL QUÍMICO DE <i>PRATYLENCHUS</i> EN SUELO	21
EVALUACIÓN DEL CONTROL QUÍMICO DE <i>PRATYLENCHUS</i> EN RAÍCES	21
CONCLUSIONES.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar el estado sanitario de un huerto de manzanos (*Malus domestica* Borkh.) cultivar Brookfield sobre patrón M26, con alta infestación de nemátodos fitoparásitos, ubicado en la comuna de Las Cabras, Región del Libertador Bernardo O'Higgins, durante la temporada 2010-2011. Se tomaron muestras de suelo y raíces. Los individuos del suelo se extrajeron mediante el método de tamizado y en raíces mediante la incubación de tejidos. La determinación de géneros y especies, indicó la presencia dominante de *Pratylenchus*, y otros géneros en bajas poblaciones, tales como *Mesocriconema*, *Helicotylenchus*, *Hemicycliophora*, *Tricodorus* y *Xiphinema*. La identificación de especies de *Pratylenchus* spp. se realizó con claves taxonómicas, en base a caracteres morfométricos y morfológicos de la hembra, como la región labial, estilete y estructuras asociadas, intestino medio y recto, sistema excretor y órganos reproductivos, y presencia o ausencia de machos. Las mediciones correspondieron a los índices propuestos por de Man. Se estudiaron además los efectos de dos nematicidas granulares, oxamil (Vydate 10G) y cadusafos (Rugby 10G), en dosis de 30 kg/ha, sobre las poblaciones de nemátodos fitoparásitos, siendo aplicados en dos oportunidades, diciembre de 2010 y abril de 2011. Las evaluaciones de densidad de población se realizaron antes de la primera aplicación de los productos nematicidas, y 30 días después. La evaluación de los resultados se realizó mediante análisis de varianza ($p \leq 0,05$) y Prueba de Comparaciones Múltiples de Tukey para separar las medias. Para determinar efectividad de los tratamientos sobre las poblaciones, se utilizó el Índice Reproductivo (R), que relaciona poblaciones finales e iniciales (P_f/P_i), ajustando previamente los datos a $\text{Log}(x+1)$. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se observó una leve tendencia a reducir las poblaciones de nemátodos en los tratamientos nematicidas, especialmente oxamil, ya que obtuvo los menores Índices Reproductivos ($R < 1$) y el mayor porcentaje de control en las evaluaciones realizadas 30 y 90 días después de la primera aplicación.

Palabras clave

Malus domestica, identificación de especies, *P. penetrans*, *P. vulnus*, oxamil, cadusafos.

ABSTRACT

A study was realized to determine the sanitary status of a 'Brookfield' Apple orchard (*Malus domestica* Borkh.) grafted on M26 rootstock, with a high plant parasitic nematode infestation, located in Las Cabras, Region of Libertador Bernardo O'Higgins, during the season 2010-2011. Soil and root samples were taken. Nematodes from soil and roots were extracted through the sieving and tissue incubation method respectively. The determination of genus and species indicated the dominant presence of *Pratylenchus*, and other genus of low populations, such as *Mesocriconema*, *Helicotylenchus*, *Hemicycliophora*, *Tricodorus* and *Xiphinema*. Identification of *Pratylenchus spp.* species was made with taxonomic keys based on morphometric and morphologic female characters, as the labial region, stilet and associated structures, midgut and anus, excretory system and reproductive organs, and presence or absence of male. The measurements corresponded to the parameters proposed by de Man. Furthermore, the effects of two granular nematicides, oxamil (Vydate 10G) and cadusaphos (Rugby 10G), were evaluated, at doses of 30 kg/ha, over the plant parasitic nematode populations, and applied in two opportunities, December, 2010 and April, 2011. Evaluations of population densities were realized before the first application of nematicides, and 30 days after. Results were evaluated through an analysis of variance ($p \leq 0,05$) and multiple comparison tests to separate means. To determine the effectiveness of the treatments over the nematode populations, Reproductive Index was used, which relates final and initial populations (P_f/P_i), previously adjusting data to $\text{Log}(x+1)$. No statistic differences were found between treatments. However, a mild tendency of reducing nematode populations was observed under nematicide treatments, specially oxamyl, which obtained the best Reproductive Index ($R < 1$) and the major percentage of control in the evaluations realized 30 and 90 days after the first application.

Keywords

Malus domestica, species identification, *P. penetrans*, *P. vulnus*, oxamyl, cadusaphos.

INTRODUCCIÓN

En manzano (*Malus domestica* Borkh.) existen diversos reportes que señalan la incidencia de algunos géneros de nemátodos fitoparásitos, entre ellos: *Longidorus*, *Meloidogyne*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Trichodorus* y *Xiphinema*; pero solo las especies del género *Pratylenchus* parecen tener verdadero interés (Bello, 1983).

En el mundo se conocen 68 especies válidas pertenecientes al género *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Castillo y Vovlas, 2007). Nueve de ellas han sido descritas en nuestro país: *P. brachyurus*, *P. crenatus*, *P. neglectus*, *P. penetrans*, *P. scribneri*, *P. thornei* y *P. vulnus*, consideradas especies de gran importancia económica en producción de frutales (Magunacelaya y Dagnino, 1999; González, 2007). Valenzuela y Raski (1985), describen en Chile la presencia de una nueva especie, *P. australis*, encontrada en Ciperaceas en la Región de Magallanes y la Antártica Chilena, y más tarde Aballay y Rubilar (2006), reportan en el país *P. loosi* en la Región del Bío – Bío en cultivo de remolacha.

Las especies del género *Pratylenchus* son reconocidas mundialmente como uno de los géneros fitoparásitos más frecuentes y una de las mayores limitantes de importancia económica primaria en los cultivos (Castillo y Vovlas, 2007), y por su carácter polífago, ataca a una gran diversidad de plantas, tanto de clima templado, como tropical y subtropical (Renaud, 1985), siendo en especial muy perjudiciales en manzano *P. penetrans*, seguida por *P. coffeae* y *P. vulnus* (Bello, 1983).

P. penetrans, es la especie más agresiva en pomáceas y frutales de carozo en el mundo (Magunacelaya y Dagnino, 1999). Se ha registrado en más de 350 hospederos, principalmente en zonas templadas de Europa, América del Norte, Centro y Sur, África, Asia y Australia (Corbett, 1973).

P. vulnus, es una plaga importante en frutales de hoja caduca y nogales en Estados Unidos. En Chile causa graves problemas en pomáceas. Se ha registrado en más de 80 especies, siendo la mayoría leñosas. Este nemátodo se encuentra distribuido generalmente en zonas de clima cálido de todo el mundo (Magunacelaya y Dagnino, 1999), siendo reportado en manzano en una gran cantidad de regiones, entre ellas: Barcelona, España (Pinochet *et al.*, 1993; Fernández *et al.*, 1992); Idaho (Fallahi *et al.*, 1998) y California (Rackham *et al.*, 1975), Estados Unidos.

Las especies del género *Pratylenchus*, son nemátodos endoparásitos migratorios de partes subterráneas, y se conocen como “nemátodos de las lesiones radicales”, ya que al entrar al tejido de la planta hospedero y trasladarse por el interior, alimentarse y reproducirse, generan lesiones en el tejido que atacan (Stirling, 1991). Estas lesiones se pueden ver en pocas horas a unos días después de la penetración en las raíces, como manchas de un color marrón moderado de distintos tamaños (Kurppa y Vrain, 1985). Los adultos y juveniles de diferentes estadios, migran constantemente desde y hacia el interior de las raíces, por lo que

todos los estados del ciclo de vida pueden llamarse infestivos (Magunacelaya y Dagnino, 1999). Una vez dentro del hospedero, se alimenta hasta el rompimiento de las células corticales (Kurppa y Vrain, 1985), se mueve buscando tejidos sanos, provocando lesiones visibles (Davis y MacGuidwin, 2000), que comienzan inicialmente pequeñas, pero continúan alargándose y oscureciéndose hasta completar la raíz con la enfermedad (Decker, 1989).

Su importancia radica en la agresividad del daño, debido a que cuando ataca, inyecta componentes polifenólicos que oxidan las células radicales, generando las lesiones (Chica, 2006). Esta invasión se encuentra ligeramente detrás de la zona de alargamiento, en la región de los pelos absorbentes (González, 2006). Penetra la epidermis radical intra o intercelularmente, pero una vez dentro, migra intracelularmente (Davis y MacGuidwin, 2000). Todas las especies destruyen el parénquima cortical de las raíces, predisponiendo al tejido dañado a contraer infecciones secundarias causadas por hongos y bacterias (Nyczepir y Becker, 1998).

El desarrollo y la reproducción son comparativamente lentos (Guiñez y González, 1993). Su ciclo de vida dura entre 3 a 8 semanas, pero esto puede ser influenciado por condiciones ambientales como temperatura y humedad (Castillo y Vovlas, 2007). Algunas de estas especies están más asociadas con suelos livianos arenosos, con alta disponibilidad de oxígeno, que con suelos pesados, pudiendo estar relacionado con los requerimientos de los nemátodos (Wallace, 1973). Según Acosta y Malek (1979), las condiciones óptimas para el desarrollo de la población puede diferir entre las especies de *Pratylenchus*, prefiriendo en general suelos arenosos, 25°C de temperatura, 70-80% de humedad del suelo (Wallace, 1973) y pH entre 5,5 - 6,4 (Melakeberhan *et al.*, 2000).

La hembra pone sus huevos dentro o fuera de la raíz. El segundo estado larvario (J2) emerge del huevo, sufre tres mudas (J3 y J4) y llega a adulto. Si las condiciones de las raíces son desfavorables, puede dejar la raíz e invadir otras vecinas (Guiñez y González, 1993), pudiendo también pasar el invierno en partes de las plantas infestadas o en el suelo en cualquier etapa de la vida, a pesar de que el J4 parece ser el de mayor supervivencia (Davis y MacGuidwin, 2000).

Los síntomas de la parte aérea, como la mayoría de las enfermedades producidas por nemátodos, no se reconocen inicialmente, ya que por ser organismos microscópicos presentes en las raíces, visualmente son los típicos síntomas producidos por estrés (Davis y MacGuidwin, 2000). Por lo general, incluyen retrasos en el crecimiento, en lunares o manchas en el campo, acompañado de un amarillamiento o clorosis en la parte exterior de las hojas y marchitez o caída de las mismas. Los síntomas son más pronunciados y existe una mayor reducción en el crecimiento, cuando las temperaturas al inicio de la temporada de crecimiento son anormalmente elevadas, el agua es insuficiente, hay una mala fertilidad del suelo o esta se encuentra en desequilibrio, y/o cuando se encuentran presentes otros organismos en el suelo que atacan las raíces (Castillo y Vovlas, 2007). En manzano, los síntomas incluyen bajas producciones, árboles avejentados, y muerte de árboles jóvenes, además de raíces con pocas raicillas y necróticas cuando se presentan daños severos

(Magunacelaya y Dagnino, 1999).

La interrelación entre nemátodos y otros agentes patógenos, hacen que muchas veces se centren los problemas patológicos en otros organismos y no en los nemátodos, que son, en la mayoría de los casos, la causa originaria de un gran número de enfermedades producidas por virus, bacterias y hongos (Bello, 1983). La mayoría de las interacciones de *Pratylenchus spp.* con otros patógenos, se relaciona con hongos como *Fusarium spp.*, *Verticillium spp.*, *Phytophthora spp.* y *Rhizoctonia spp.* (Guiñez y González, 1993), lo cual incide en el deterioro radical, principalmente en frutales de carozo (González, 2007). Existen también interacciones con bacterias como *Agrobacterium* y *Pseudomonas*, y también con otros nemátodos, principalmente del género *Meloidogyne* (Guiñez y González, 1993).

Se ha podido establecer con certeza que una gran cantidad de malezas tanto anuales, como perennes y leñosas, son huéspedes preferenciales de *Meloidogyne spp.* y *Pratylenchus spp.*, siendo las especies de la familia de las Poaceas las más susceptibles al nemátodo de las lesiones radicales (González, 2006).

Aunque el número crítico de nemátodos en el que la patogenicidad aparece, varía considerablemente en función de las especies de plantas y las condiciones del medio circundante, tales como la tolerancia de los portainjertos, textura del suelo, clima y otros agentes patógenos adicionales (Nyczepir y Halbrecht, 1993), en términos generales, se consideran en manzano poblaciones perjudiciales de *Pratylenchus spp.* densidades superiores a 10-35 individuos en 250 cm³ de suelo, cuando las condiciones de crecimiento son favorables (Nematode Assay Laboratory, 2000). Steinhorst (1967) citado por Decker (1989) postula que el valor crítico de densidad de población, para árboles jóvenes de manzano, es de 40-200 individuos de *Pratylenchus spp.* en 250 cm³ de suelo.

El rango de hospederos de *Pratylenchus spp.* incluye alrededor de 400 especies de plantas (Magunacelaya, 1995a), teniendo una escasa y limitada información sobre la existencia de patrones de manzano con resistencia a nemátodos lesionadores (Magunacelaya, 1995b). Ensayos de campo, con elevadas poblaciones de este patógeno sobre suelos arenosos en el estado de Nueva York, indican que los patrones de manzano M.1, M.2, MM.102, MM.104, MM.106 y MM.108 son más susceptibles a *P. penetrans* que M.7 y M.12 (Joenes y Aldwinckle, 2002). Estudios realizados por Constante *et al.* (1987) en Burlington, señalan que la mayoría de los portainjertos de manzano son hospederos de *P. penetrans* y son susceptibles al daño causado por estas especies. Pinochet *et al.* (1993), mostraron que del rango de hospederos de *P. vulnus*, los portainjertos M.9 y M.106 eran buenos o moderados hospederos en manzano.

Si bien, el control de los nemátodos fitoparásitos del suelo es difícil y a veces de alto costo, es sin duda, imprescindible para obtener rendimientos satisfactorios (González, 2007). La rotación de cultivos, el control químico, la resistencia de la planta hospedera, los cultivos de cobertura, el manejo del riego, los períodos de barbecho, las enmiendas al suelo y otras prácticas culturales, pueden ser utilizadas para minimizar el daño causado por *Pratylenchus*

spp. Sin embargo, las dos tácticas más efectivas para el manejo de nemátodos lesionadores siguen siendo la prevención y el uso de nematicidas químicos (Castillo y Vovlas, 2007).

Generalmente, cuando se trata de plantaciones o siembras extensas, se usan tratamientos radiculares o al material de plantación con nematicidas, que pueden aplicarse al suelo o bien efectuar inmersión radical (Guiñez y González, 1993), aunque su efectividad es variable, dada la gran cantidad de factores, principalmente de suelo, que inciden en su aplicación y distribución (Aballay, 1995a). Santo y Wilson (1990), estudiaron los efectos del nematicida organofosforado fenamifos a una dosis de 20,2 kg i.a. * ha⁻¹, sobre plantas de manzano cv. Granny Smith injertado en patrón M.7, infestadas con *P. penetrans*, concluyendo que este nemátodo es de gran importancia económica en manzano en el Estado de Washington, y en condiciones de campo, dicho producto no elimina los nemátodos directamente, siendo estos capaces de recuperarse del efecto inicial del nematicida y reanudar su actividad normal.

La identificación de *Pratylenchus spp.* a nivel de especie es actualmente un requisito previo esencial para una táctica de control que se basa en la selección de una variedad tolerante (Smiley, 2010). Dicha identificación está basada usualmente en la morfología de la hembra, ya que posee más caracteres morfológicos que el macho, que en todo caso es raro o desconocido en un número importante de especies (Loof, 1991).

En Chile no existen estudios, o reportes técnicos acerca de la importancia de los nemátodos fitoparásitos en el cultivo del manzano. Últimamente se han detectado algunas plantaciones con problemas de vigor y con niveles considerados altos de nemátodos del género *Pratylenchus*, sin identificación de especies (Aballay¹, 2010). Es necesaria una precisa descripción del nemátodo lesionador de la raíz y la elección de portainjertos resistentes a este patógeno en los huertos (Sögüt y Devran, 2011).

Hipótesis

Algunas de las especies de *Pratylenchus* más agresivas en manzano reportadas en el mundo, pueden estar presentes en huertos debilitados en Las Cabras, VI Región y la aplicación de nematicidas químicos puede ser un método efectivo para su control.

Objetivos

Identificación de especies de *Pratylenchus* presentes en un huerto de manzanos con bajo vigor y evaluación de la eficacia de control químico.

¹ Erwin Aballay E, Ingeniero Agrónomo, M. Sc. Ph.D., Universidad de Chile, Departamento de Sanidad Vegetal, 2010, (Comunicación personal).

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

La investigación se realizó en un huerto perteneciente a la Agrícola San José de Cocalán, ubicado en la Comuna de Las Cabras, Provincia del Cachapoal, Región del Libertador Bernardo O'Higgins, Chile; durante la temporada 2010-2011.

Esta zona se caracteriza por presentar un suelo limo arenoso y clima templado mesotermal inferior estenotérmico mediterráneo semiárido. El régimen térmico se caracteriza por temperaturas que varían, en promedio, entre una máxima en enero de 28,3°C y una mínima en Julio de 6,2°C. El periodo libre de heladas es de 339 días, con un promedio de una helada por año. Registra anualmente 1.642 días-grado y 593 horas frío. El régimen hídrico observa una precipitación media anual de 503 mm, un déficit hídrico de 969 mm y un periodo seco de 8 meses (Santibáñez y Uribe, 1993).

El estudio se llevó a cabo en un huerto de manzanos cv. Brookfield, injertados sobre patrón enanizante M.26, de 5 años de edad, plantados a una densidad de 1.111 plantas * ha⁻¹, y conducidas en monoeje. El sistema de riego consiste en una línea de goteros y aspersores, ubicados a 1 m y 4 m de distancia, respectivamente. Durante la temporada se realizaron riegos desde septiembre hasta abril, con intervalos de 2-5 días. Todas las plantas tuvieron condiciones de manejo semejantes. El cultivo anterior fue una plantación de naranjos, establecida por 30 años.

Muestreo de suelo

Para la obtención del material vegetal a estudiar, se tomaron muestras con una pala, compuestas de 25 submuestras, para lograr una muestra de 1 kg de suelo y 20 g de raíces, en cada parcela del ensayo, a una profundidad de 20 – 30 cm, donde se encuentra la mayor cantidad de raíces. Fueron colocadas en bolsas plásticas, para evitar su deshidratación, impidiendo que quedaran al sol, transportadas en una hielera y luego almacenadas en cámara de frío a 6°C, hasta su posterior procesamiento.

Extracción de nemátodos

Los análisis nematológicos se realizaron en el Laboratorio de Nematología, del Departamento de Sanidad Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Para el análisis nematológico de las muestras de suelo, se empleó el procedimiento de tamizado de suelo, más un periodo de filtrado en papel absorbente durante 48 horas en embudo de Baermann (Hooper, 1986a), en base a 250 cm³. Para ello, se utilizaron tamices de 850, 180, 75 y 45 µm, y embudos de 15 cm de diámetro.

Para la extracción de nemátodos de raíces se usaron dos métodos propuestos por Hooper (1986b): embudo de Baermann e incubación de tejidos.

Para el método de embudo de Baermann, se utilizaron embudos de 15 cm de diámetro y 10 g de raíces, extrayendo una muestra diaria durante 10 días.

Para el método de incubación de tejidos, se usaron frascos de vidrio con tapa rosca de 500 mL de capacidad. Para el desarrollo de esta técnica, se utilizaron 10 g de raíces con un diámetro de hasta 5 mm, las que fueron cuidadosamente lavadas para eliminar todos los restos de suelo. Mientras todavía estaban húmedas, se cortaron en pequeños trozos de 5-10 mm y se colocaron en los frascos de vidrio, agregando una fina lámina de agua en el fondo, como muestra la Figura 1. Los frascos, semitapados para evitar la proliferación de hongos patógenos, se almacenaron a una temperatura de 20-25°C. Se extrajo una muestra diaria, agregando 100 ml de agua cada vez, y agitando enérgicamente para dejar los nemátodos en suspensión. Posteriormente se recogió el agua para su análisis en la lupa, dejando las raíces nuevamente inmersas en una fina lámina de agua. Este procedimiento se repitió durante 10 días.



Figura 1. Método de incubación de tejidos, para extracción de nemátodos endoparásitos.

Cuantificación de géneros presentes

Posteriormente, se procedió al conteo e identificación de los géneros de nemátodos colectados, tanto en suelo como en raíces, bajo una lupa estereoscópica marca Carl Zeiss modelo KL 750, con 40x de aumento, para determinar cualitativa y cuantitativamente la población de nemátodos fitoparásitos y de vida libre presentes en las muestras.

Fijación y montaje de nemátodos

Una vez realizada la determinación de la densidad de géneros de nemátodos fitoparásitos en cada una de las muestras extraídas, se seleccionaron aquellas que contenían un número igual o superior a 50 individuos de *Pratylenchus spp.*, antes de la aplicación de los nematicidas.

Con objeto de examinar las especies para su identificación, los individuos se relajaron en agua caliente a 45°C y fueron puestos en una solución fijadora TAF (formalina, trietanolamina y agua destilada, en una proporción de 7:2:91) (Hooper, 1986c).

Luego fueron sometidos al método de evaporación lenta de la glicerina pura, descrito por Hooper (1986c), que consistió en poner los nemátodos en un pequeño recipiente con una solución de glicerina al 0,5% durante 1 semana. Posteriormente, se agregó una solución de glicerina al 2% por 1 semana más. Al cabo de dos semanas de espera, para permitir la evaporación lenta del agua, se agregó glicerina al 100%. Terminado este proceso, los nemátodos fueron montados en una solución de glicerina pura en forma permanente.

Identificación de especies del género *Pratylenchus*

Para la determinación de las especies, se utilizaron las claves taxonómicas del género *Pratylenchus* propuestas por Loof (1978) y Handoo y Morgan (1989). Estas se basan en caracteres morfológicos de la hembra, como la región labial, estilete y estructuras asociadas, intestino medio y recto, sistema excretor y órganos reproductivos, y presencia o ausencia de machos. Este último parámetro se debe a que la hembra posee más características diagnósticas que el macho, que en todo caso es raro o poco frecuente en un número importante de especies (Loof, 1991).

Se realizaron mediciones de los principales aspectos morfométricos a la hembra, que llevaron a la clasificación de especies. Los parámetros medidos y/o analizados en cada individuo, correspondieron a los propuestos por de Man (1986).

A continuación se mencionan los índices de de Man utilizados y otras mediciones realizadas:

L = Longitud total del cuerpo (μm)

Índice a = $\frac{\text{Longitud total del cuerpo } (\mu\text{m})}{\text{Ancho máximo del cuerpo } (\mu\text{m})}$

Índice b = $\frac{\text{Longitud total del cuerpo } (\mu\text{m})}{\text{Distancia extremo anterior-unión esófago intestino } (\mu\text{m})}$

Índice c = $\frac{\text{Longitud total del cuerpo } (\mu\text{m})}{\text{Longitud de la cola } (\mu\text{m})}$

V = Distancia de la cabeza a la vulva (μm)

V (%) = $\frac{\text{Distancia de la cabeza a la vulva } (\mu\text{m})}{\text{Longitud total del cuerpo } (\mu\text{m})} \times 100$

Estilete = Longitud total del estilete (μm)

Ancho máximo del cuerpo (μm)

Longitud de la cola (μm)

Número de anillos de la región labial

Forma de la espermateca

Para realizar las mediciones, se utilizó un microscopio marca Carl Zeiss modelo Axio Image A.1, provisto de ocular con escala micrométrica y cámara fotográfica incorporada.

Evaluación del control químico

Los productos químicos aplicados fueron oxamil (Vydate 10G), insecticida-nematicida de la familia química de los carbamatos, de acción sistémica y de contacto, y por su toxicidad pertenece al grupo Ib (muy peligroso). Por otra parte, cadusafos (Rugby 10G), nematicida de contacto e ingestión, de la familia química de los organofosforados, por su toxicidad pertenece al grupo II, considerado moderadamente peligroso (Afipa, 2002-2003).

Los nematicidas químicos aplicados y sus respectivas dosis de ingrediente activo por hectárea, se pueden ver en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos aplicados en un huerto de manzanos en la Comuna de Las Cabras, y dosis de nematicidas en kg i.a. * ha⁻¹:

Tratamiento	Dosis kg i.a.* ha ⁻¹
Testigo	-
Oxamil	3
Cadusafos	3

Los nematicidas fueron aplicados directamente al suelo, bajo el gotero y cerca de cada aspersor, en las dosis indicadas en el Cuadro 1, a una profundidad de 20 cm y en forma uniforme para que el producto pudiera entrar en contacto con los nemátodos fitoparásitos. Luego se incorporó unos 10 – 15 cm para asegurar una mayor efectividad (Aballay, 1995b).

La aplicación de los productos químicos granulares (oxamil y cadusafos), se realizó en dos oportunidades, diciembre 2010 y abril 2011 (120 días después), para evaluar el efecto nematicida sobre la población. Antes y 30 días después de la aplicación de los tratamientos químicos, se realizaron muestreos de suelo y raíces, con el propósito de verificar la efectividad de la aplicación de productos químicos en el manejo de las poblaciones de nemátodos fitoparásitos en el huerto de manzanos utilizado para el estudio.

Las fechas de muestreos de suelo y raíces, densidad población (P) 30, 120 y 150 días después de la primera aplicación (DDPA) y 30 días después de la segunda aplicación (DDSA) de los nematicidas, y aplicaciones de los productos químicos granulares se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Fecha de muestreo de suelo y raíces, en un huerto de manzanos de la Comuna de Las Cabras:

Tratamiento	M ₁ (P _i)	M ₂ (P ₃₀)	M ₃ (P ₁₂₀)	M ₄ (P ₁₅₀ y P ₃₀₍₁₂₀₎)
Testigo	-	-	-	-
Oxamil	Dic2010	Ene2011	Abr2011	May2011
Cadusafos	Dic2010	Ene2011	Abr2011	May2011

M₁: muestreo 1, correspondiente a la población inicial (P_i); M₂: muestreo 2 correspondiente a la población 30 días después de la primera aplicación (DDPA) (P₃₀); M₃ muestreo 3 correspondiente a la población 120 DDPA (P₁₂₀); M₄ muestreo 4 correspondiente a la población 150 DDPA (P₁₅₀) y/o a la población 30 días después de la segunda aplicación (DDSA) (P₃₀₍₁₂₀₎).

El comportamiento de las poblaciones de nemátodos durante la realización del ensayo fue evaluado mediante el Índice Reproductivo (R), el cual indica la variación de la población final respecto a la población inicial (P_f/P_i), así un valor menor a uno indica una disminución del número de nemátodos:

$$P_{30}/P_i = \frac{\text{Población 30 DDPA (P}_{30}\text{)}}{\text{Población inicial (P}_i\text{)}}$$

$$P_{120}/P_i = \frac{\text{Población 120 DDPA } (P_{120})}{\text{Población inicial } (P_i)}$$

$$P_{150}/P_i = \frac{\text{Población 150 DDPA } (P_{150})}{\text{Población inicial } (P_i)}$$

$$P_{30(120)}/P_{120} = \frac{\text{Población 30 DDSA } (P_{30(120)})}{\text{Población 120 DDPA } (P_{120})}$$

Los datos se expresaron como N° de nemátodos/250 cm³ de suelo y N° de nemátodos/g de raíz.

Diseño experimental

El diseño experimental utilizado para la evaluación del control químico, correspondió a un esquema Completamente Aleatorizado, con 3 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fueron parcelas de tres plantas.

Cada tratamiento fue establecido dentro de nueve hileras seleccionadas completamente al azar.

Para el análisis de datos de las poblaciones de *Pratylenchus spp.*, se utilizaron los Índices reproductivos, previo a esto, fueron transformados a logaritmos según la fórmula: $\text{Log}(x+1)$, para ajustar las poblaciones a una curva de distribución normal. Posteriormente, los datos obtenidos fueron analizados con un análisis de varianza (ANDEVA), utilizando el programa Minitab 15, determinando la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. En caso de obtenerse diferencias significativas, se realizó el Test de Tukey ($p \leq 0,05$) para separar las medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Población de nemátodos en el suelo

En el total de muestras de suelo analizadas, antes de la aplicación de los tratamientos nematicidas, se detectó que el 87,5% correspondía a nemátodos de vida libre, mientras que el 12,5% restante a nemátodos fitoparásitos. Entre estos últimos, fue posible determinar 5 géneros distintos (Cuadro 3), de los cuales *Pratylenchus* fue detectado con mayor frecuencia, seguido de *Helicotylenchus* y *Paratrichodorus*.

Cuadro 3. Nemátodos fitoparásitos asociados a un huerto de manzanos en la Comuna de Las Cabras. Se indica género, población inicial (P_i) y porcentaje de individuos presentes.

Género	P_i Nº nemátodos/250 cm ³ de suelo	Porcentaje %
<i>Pratylenchus</i>	891	61
<i>Helicotylenchus</i>	374	26
<i>Paratrichodorus</i>	153	11
<i>Hemicycliophora</i>	25	1,7
<i>Mesocriconema</i>	12	0,8

En manzano se han descrito varios géneros asociados, pero solo las especies del género *Pratylenchus* parecen tener verdadero interés, variando la importancia de cada especie con las características biogeográficas y con el tipo de suelo, siendo *P. penetrans* la especie más importante, seguida de *P. coffeae* y *P. vulnus* (Bello, 1983). Diferentes estudios señalan la importancia de este género en manzano, siendo posible destacar los trabajos realizados Colbran (1953) en Australia, quien señala que *P. coffeae* es un factor dominante en el crecimiento de huertos replantados de manzanos. Jaffee y Mai (1979a), Jaffee y Mai (1979b) y Santo y Wilson (1990), en Estados Unidos, estudian el crecimiento en plantas infestadas con *P. penetrans*, y el control químico con nematicidas sistémicos y de contacto. Por otra parte, Fernández *et al.* (1992) en España, estudiaron los efectos de *P. vulnus* en los portainjertos de manzano M.26 y peral OHF333, siendo el patrón de manzano más susceptible a esta especie. Pinochet *et al.* (1993) indican una clara tendencia a disminuir en mayor medida las poblaciones de *P. vulnus* en el portainjerto de manzano M.26, respecto al patrón híbrido duraznero-almendro GF677.

Población de nemátodos del género *Pratylenchus* en las raíces

Al comparar las poblaciones de *Pratylenchus spp.* de los tratamientos testigo, obtenidas con ambos métodos de extracción de nemátodos de tejido vegetal, propuestos por Hooper

(1986b), los resultados indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) en la población inicial y en la población 30, 120 y 150 DDPA (Cuadro 4), tomando cada parcela experimental como una repetición, siendo el método de incubación de tejidos el más eficaz para la extracción de *Pratylenchus spp.* Tarjan (1960) citado por Hooper (1986b), observó que las bolsas de polietileno, selladas y permeables al oxígeno, permitieron una mejor extracción de nemátodos endoparásitos que los frascos de vidrio tapados. Además, demostró mejor extracción de nemátodos aumentando la oxigenación del medio. Estos resultados coinciden con los obtenidos en este estudio, ya que las raíces infestadas montadas sobre el método de extracción de nemátodos con embudos de Baermann, se encontraban completamente sumergidas en agua, mientras que en la técnica de incubación de tejidos, los frascos de vidrio se encontraban semitapados, permitiendo una constante renovación del oxígeno en su interior. Tal como indican Zuckerman *et al.* (1987), el método de incubación de tejidos, puede ser muy conveniente para extraer nemátodos de tejidos vegetales, siendo solamente exitoso para nemátodos endoparásitos migratorios.

Cuadro 4. Promedio de las poblaciones iniciales de *Pratylenchus sp.*, en los tratamientos testigo, 30, 120 y 150 DDPA, extraídos de raíces de manzano.

Método	P _i	P ₃₀	P ₁₂₀	P ₁₅₀
	Nº de nemátodos/g de raíz			
Embudo de Baermann	9,55a	5,15a	14,24a	4,60a
Incubación de tejidos	53,90b	18,96b	47,70b	61,19b

Cada dato representa el promedio de 18 repeticiones. P_i: población inicial antes de la primera aplicación de los tratamientos nematicidas. P₃₀: población 30 DDPA. P₁₂₀: población 120 DDPA. P₁₅₀: población 150 DDPA.

En base a los resultados anteriormente descritos, la evaluación del efecto del control químico sobre la presencia de nemátodos al interior de las raíces, se realizó utilizando el método de incubación de tejidos en frascos de vidrio.

Identificación de especies de *Pratylenchus*

Según la determinación de especies, basadas en la medición de los principales caracteres morfológicos y morfométricos de 20 hembras adultas, obtenidas de aquellas muestras de suelo y raíces que presentaban una mayor densidad de población de nemátodos del género *Pratylenchus*, fue posible identificar dos especies.

Dichas mediciones, coinciden con las descritas para *P. penetrans* en un 60% (Cuadro 5), y *P. vulnus* en un 40% (Cuadro 6).

La identificación de especies de *Pratylenchus spp.* se realizó en base a los principales índices de de Man indicados previamente. Sin embargo, el principal carácter morfológico utilizado para la determinación de estas especies se basó en la forma de la espermateca, seguido de la longitud del estilete, ya que según Seinhorst (1968) y Castillo y Vovlas

(2007), estos caracteres son menos modificados por factores bióticos y/o abióticos, como son factores ambientales, el hospedero, región geográfica, y la experiencia del especialista, y han demostrado ser confiables para la identificación de las especies de este género.

Caracterización de especies

Pratylenchus penetrans, Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941

Hembras: Campo lateral a menudo marcado por cuatro cisuras. Algunos especímenes poseen filas rectas de puntuaciones en el centro de las bandas externas, además de las líneas diagonales en banda interior. Región labial ligeramente separada del cuerpo, con tres anulaciones. Nódulos del estilete varían desde redondeados a cóncavos hacia adelante. Lóbulo de la glándula del esófago ligeramente superpuesto en el extremo anterior del intestino ventral y lateral. Gónadas de 139,6 a 234,0 μm de largo. Espermateca redondeada, generalmente con espermatozoides. Saco uterino postvulvar de 36,0 μm de largo. Cola de formas variables, con anillos que no se extienden completamente alrededor de su término.

Pratylenchus vulnus, Allen & Jensen, 1951

Hembras: Campo lateral a menudo marcado por cuatro cisuras, pero pueden presentar variaciones. Región labial continúa con el contorno corporal, marcada por tres o cuatro anulaciones, comúnmente con tres anillos por un lado y cuatro por otro. Nódulos del estilete redondeados, con poca variación en la forma. Lóbulo de la glándula del esófago ligeramente superpuesto en el extremo anterior del intestino ventral y lateral. Gónadas de 166,8 a 326,1 μm de largo. Espermateca oblonga, por lo general contiene espermatozoides. Saco uterino postvulvar de 30,0 a 48,0 μm de largo. No se observan oogonios en la rama posterior. Cola a menudo puntiaguda, mostrando una pronunciada variación. Anillos del cuerpo pueden extenderse alrededor de su término.

Determinación morfométrica de especies

Cuadro 5. Caracteres morfométricos de hembras de *P. penetrans*, medidas en μm (medida \pm desviación estándar), colectadas en el huerto de manzanos de la comuna de Las Cabras.

Carácter	<i>P. penetrans</i> (n = 12)	Rango (*) (n = 25)
L (μm)	587,9 \pm 127,5 (390,5-714,3)	562,3 (511,3-658)
Índice a	23,0 \pm 2,5 (19,8-26,9)	26,13 (21,7-31,0)
Índice b	4,7 \pm 0,7 (3,6-5,8)	7,0 (5,8-8,1)
Índice c	23,0 \pm 6,2 (15,3-31,3)	18,1 (14,0-22,5)
V (μm)	470,4 \pm 112,8 (312,0-591,1)	455,5 (415,3-534,9)
V [*] (%)	79,6 \pm 2,6 (76,1-83,0)	80,6 (77,0-83,0)
Estilete (μm)	16,8 \pm 1,0 (15,2-18,3)	16,0 (15,-16,8)
Ancho máximo del cuerpo (μm)	25,9 \pm 6,4 (16,6-33,6)	21,7 (18,0-28,2)
Longitud de la cola (μm)	26,1 \pm 4,0 (21,2-32,6)	31,3 (25,2-40,8)

(*) Rangos medidos en hembras de *P. penetrans*, obtenidas de durazneros en Canadá, y cultivadas en frijol negro bajo plástico, en estudios realizados por Roman y Hirschmann (1969).

Según los valores, en el Cuadro 5 se observa que morfométricamente, la población de *P. penetrans* encontrada en Las Cabras, es similar con la descripción realizada por Roman y Hirschmann (1969), ya que casi todos los promedios de los parámetros medidos en dicha población, se encuentran dentro del rango indicado. Sin embargo, se diferencia de esta

población, porque los individuos medidos en este estudio, presentan menor Índice b y mayor Índice c; que hacen referencia a la distancia entre el extremo anterior y la unión-esófago intestino, y relación entre la longitud de la cola y la longitud total del cuerpo, respectivamente. No obstante, Townshend (1991), en estudios realizados en frutilla, obtiene similares valores de Índice b a los evaluados en Las Cabras, sin embargo, determina menor valor L. Para el Índice c, no se encontraron autores que indiquen valores similares a los medidos en la población estudiada. Tarté y Mai (1976), demuestran que para especies de *P. penetrans*, la longitud y el diámetro del cuerpo, longitud del esófago, longitud del estilete, el valor V, los Índices a y b, así como caracteres cualitativos, tales como el término de la cola, el crecimiento del ovario y la forma del bulbo medio, son influenciados por factores ambientales, particularmente la planta huésped y la localidad geográfica.

Cuadro 6. Caracteres morfométricos de hembras de *P. vulnus*, medidas en μm (medida \pm desviación estándar), colectadas en el huerto de manzanos de la comuna de Las Cabras.

Carácter	<i>P. vulnus</i> (n = 8)	Rango (**) (n = 25)
Longitud del cuerpo (μm)	584,8 \pm 100,6 (397,6-688,8)	628,8 (537,3-708,8)
Índice a	25,6 \pm 1,7 (23,5-24,5)	31,3 (25,2-35,8)
Índice b	4,9 \pm 1,0 (3,5-6,4)	6,7 (5,7-7,7)
Índice c	22,0 \pm 3,2 (15,4-26,2)	19,9 (14,4-24,3)
V (μm)	464,6 \pm 88,8 (291,5-562,7)	504,2 (425,5-578,0)
V` (%)	79,2 \pm 3,0 (73,3-82,5)	79,5 (77,0-82,0)
Estilete (μm)	16,6 \pm 0,9 (15,3-18,1)	14,9 (14,4-15,6)
Ancho máximo del cuerpo (μm)	23,0 \pm 4,7 (16,2-29,2)	20,2 (16,8-27,0)
Longitud de la cola (μm)	26,5 \pm 1,7 (24,8-30,0)	32,0 (27,0-36,0)

(**) Rangos medidos en hembras de *P. vulnus*, obtenidas de Boj en Virginia, y cultivadas en Boj bajo plástico, en estudios realizados por Roman y Hirschmann (1969).

Las mediciones realizadas sobre *P. vulnus* (Cuadro 6), muestran que casi todos los promedios de los parámetros medidos en la población encontrada en Las Cabras, se encuentran dentro del rango indicado por Roman y Hirschmann (1969). Sin embargo, para el Índice b (distancia entre el extremo anterior y la unión esófago-intestino), longitud del estilete y longitud de la cola, las medidas varían respecto al rango utilizado. Castillo y Vovlas (2007), indican que para *P. vulnus* los caracteres con una alta variabilidad en la

población son la longitud y diámetro del cuerpo, e Índice b, en hembras y machos. Por otra parte, Roman y Hirschmann (1969), indican que *P. vulnus*, presenta alta variación en la longitud de este (1,2 μm). Esta variada gama en la longitud total del estilete, podría deberse a las dificultades para medirlo, ya que la punta es particularmente difícil de discernir. Estas diferencias se consideran relacionadas con la localidad, la planta hospedero (Gao *et al.*, 1999) y la temperatura (Doucet *et al.*, 2001, Mahran *et al.*, 2010).

Descripción morfológica de especies

La forma de la cabeza de *P. penetrans*, se observa en ciertos individuos, suavemente ancha y con un marco cefálico separado del resto del cuerpo, siempre con tres anillos (Figura 2A). Estas observaciones concuerdan con las descritas por Loof (1960), Roman y Hirschmann (1969), Tarté y Mai (1976), Corbett y Clark (1983) y Castillo y Vovlas (2007), quienes explican que dicha región labial se encuentra ligeramente desplazada del cuerpo, siendo la parte anterior baja y aplanada, con márgenes exteriores redondeados, y con tres anillos. Los nódulos del estilete se observan con forma cóncava, con un fino término redondeado, bien separados (Figura 2C). Roman y Hirschmann (1969), observan que *P. penetrans*, presenta una variación pronunciada en cuanto a la forma y longitud del estilete, variando desde más o menos redondeada en la parte anterior a marcadamente en forma de copa.

Al igual que las descripciones realizadas por Loof (1960), Gao *et al.* (1999) y Castillo y Vovlas (2007), los individuos de *P. vulnus*, muestran una forma de cabeza más bien angosta en su término, con un marco cefálico continuo con el cuerpo, alto, y con tres anillos (Figura 3A). La forma de los nódulos del estilete presenta poca variación, observándose en la mayoría de las especies redondeados (Roman y Hirschmann, 1969).

Ambos caracteres morfológicos fueron de gran importancia y utilidad en la identificación de especies de *Pratylenchus spp.* (Corbett y Clark, 1983), debido a que ambas especies encontradas difieren ampliamente en la forma de la cabeza y marco cefálico. Por otra parte, el número de anillos de la región labial, es un importante carácter diagnóstico para la identificación y lo suficientemente constante como para formar un buen carácter taxonómico específico (Castillo y Vovlas, 2007).

La forma de la espermateca fue el principal carácter morfológico utilizado para la identificación de especies. Para el caso de *P. penetrans*, se observó una estructura más o menos cilíndrica con una pequeña cavidad, la cual presenta una forma redonda, no más larga que ancha, de diversos tamaños según el estado fenológico de la hembra (Figura 2D). Loof (1960), Seinhorst (1968), Roman y Hirschmann (1969), Tarté y Mai (1976), Corbett y Clark (1983) y Castillo y Vovlas (2007), afirman lo observado en la población estudiada.

Para *P. vulnus*, la espermateca presenta siempre una forma ovalada, de tamaños variables, más larga que ancha (Figura 3C), al igual que las descripciones realizadas por Loof (1960) y Gao *et al.*, (1999).

Loof (1960), Seinhorst (1968), Roman y Hirschmann (1969), Tarté y Mai (1976), Corbett y Clark (1983), Gao *et al.* (1999) y Castillo y Vovlas (2007), concluyen que la forma de la espermateca es un carácter morfológico determinante en la identificación de esta especie. Por otro lado, Bert *et al.* (2003) demostraron que la espermateca del género *Pratylenchus* se forma a partir de un total de 12 células, disposición específica para cada especie.

La forma de la cola de ejemplares de *P. penetrans*, se observó más o menos redondeada a cónica, con un término suavemente en punta y liso (Figura 2B), al igual que las descripciones de Roman y Hirschmann (1969), quienes observaron un extremo de la cola redondeado y liso. Tarté y Mai (1976) demostraron que la forma del término de la cola de la hembra puede variar en *P. penetrans* en función de factores ambientales, en particular de la planta hospedero, por lo que los individuos tienen que ser interpretados con cuidado.

Por otra parte, *P. vulnus*, presentó una cola más bien puntiaguda en la mayoría de los ejemplares, disminuyendo severamente el ancho del cuerpo en aproximadamente el último tercio, hasta llegar a un fino término (Figura 3B). Se observaron también diferencias en la forma del término de la cola, fenómeno que es posible comprobar con los resultados de estudios realizados por Roman y Hirschmann (1969), quienes muestran que esta especie presenta formas de colas con una amplia variabilidad, siendo la cola puntiaguda la más común, seguida de colas redondeadas y lisas, anuladas, truncadas y terminidigitadas. Doucet y Lax (1997), demuestran que poblaciones de *P. vulnus* provenientes de distintos orígenes geográficos y/o de diferentes hospederos, presentan diferencias en este parámetro. Por el contrario, Corbett y Clark (1983) indican que la forma de la cola y la presencia o ausencia de anillos en ella, son suficientemente característicos para cada especie, pudiendo ser un buen carácter taxonómico.

La longitud del cuerpo (Figura 3D) (Castillo y Vovlas, 2007), la estructura de los campos laterales (Corbett y Clark, 1983), la forma de los nódulos del estilete y la longitud del estilete, pueden no ser buenos caracteres para la identificación de especies de *Pratylenchus spp.*, ya que, dentro de una misma especie, estos aspectos se pueden ver modificados por factores bióticos y abióticos.

Al igual que lo descrito en las claves utilizadas para la identificación de especies de *Pratylenchus*, la rama posterior uterina de *P. vulnus* (Figura 3E), posee una longitud de 30 μm (Loof, 1978; Handoo y Morgan, 1989).

Román y Triantaphyllou (1969), señalaron que la variación observada en el número de cromosomas y el modo de reproducción entre los miembros de *Pratylenchus*, puede explicar las dificultades que los taxónomos han encontrado en la caracterización de las distintas especies de este género.

Debido a la difícil identificación de *Pratylenchus spp.* a partir de claves taxonómicas, por la alta variabilidad intraespecífica que presentan las especies de este género, es necesario utilizar nuevas técnicas de diagnosis, que se basan en los análisis bioquímicos y

moleculares, que son cada vez más importantes para la sistemática de nemátodos e identificaciones prácticas (Castillo y Vovlas, 2007).

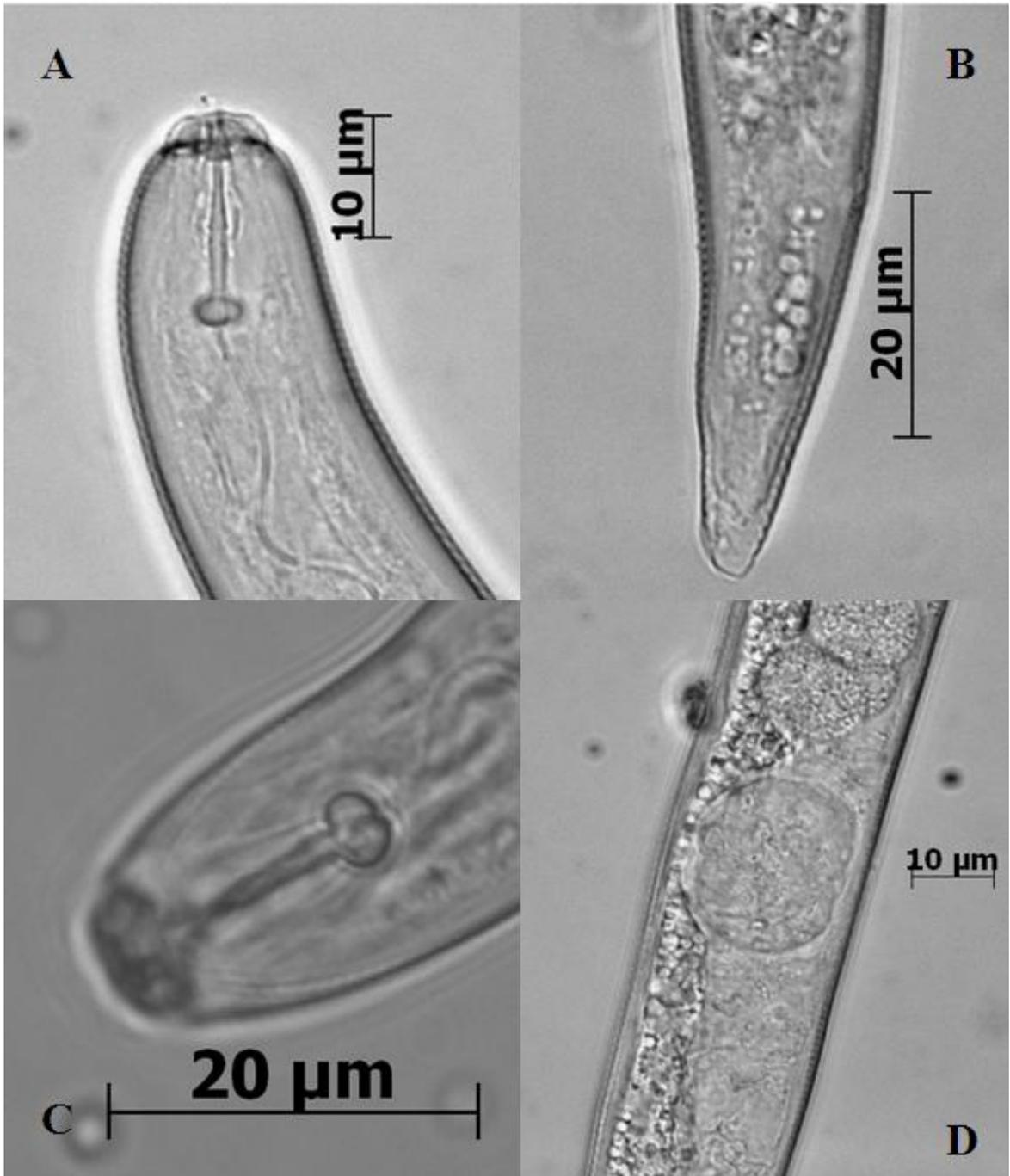


Figura 2. Hembra de *P. penetrans*. A: cabeza, forma de la región labial, B: cola, C: forma cóncava del estilete, D: espermateca redondeada.

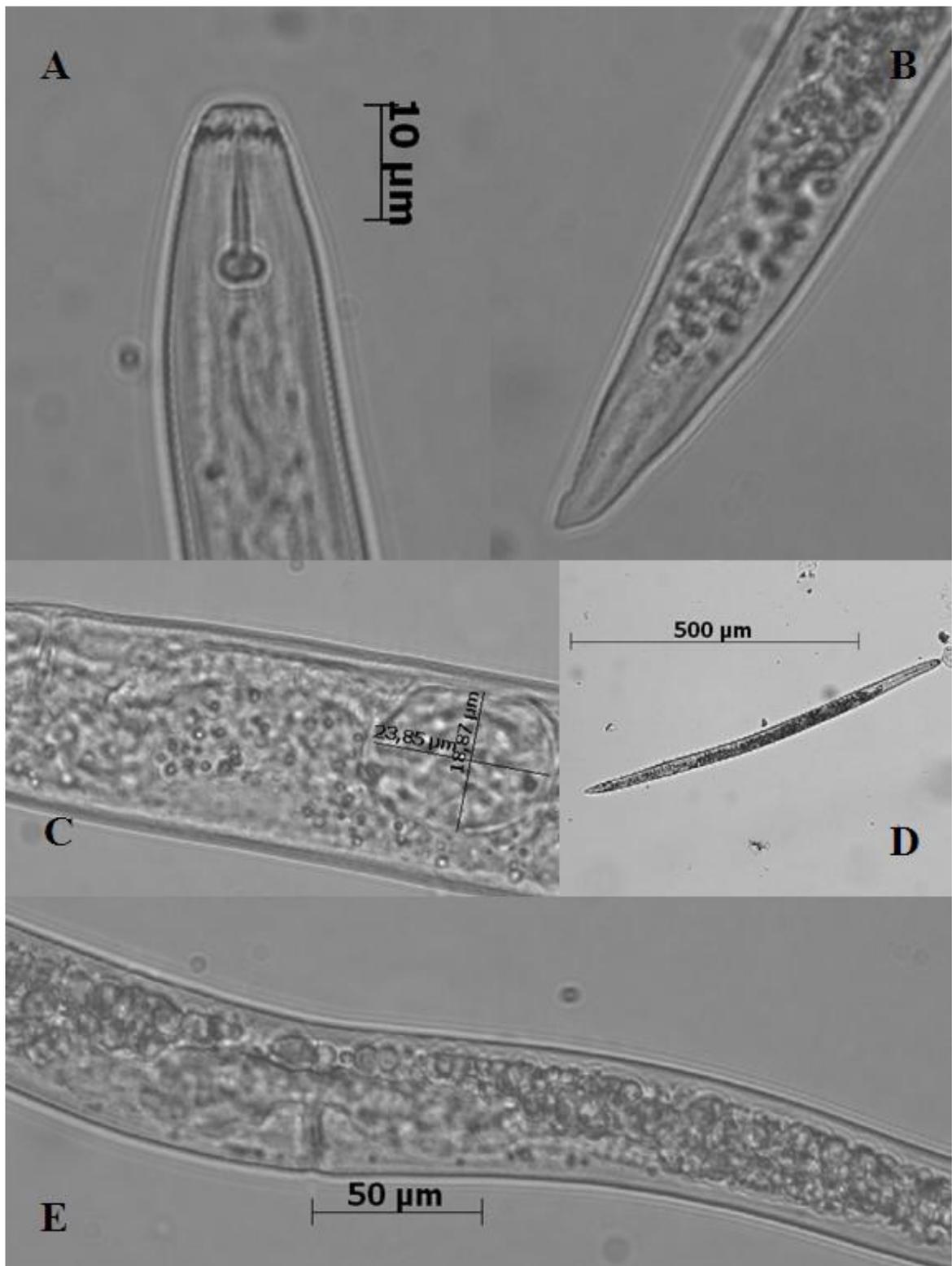


Figura 3. Hembra de *P. vulnus*. A: forma de la cabeza y marco cefálico, B: cola, C: espermateca ovalada, D: largo total del cuerpo, E: rama posterior uterina.

Evaluación del control químico de *Pratylenchus* en el suelo

Al evaluar el efecto de los tratamientos sobre las poblaciones de *Pratylenchus spp.* presentes en el suelo, no se observaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$). Sin embargo, se observa una leve disminución de los índices reproductivos de *Pratylenchus spp.* en ambos tratamientos nematicidas 30 DDPA (Cuadro 7). La baja eficacia de estos nematicidas no fumigantes, coincide con lo publicado por Julca *et al.* (2002), quienes en experimentos realizados en tomate sobre la población de *Meloidogyne spp.*, no obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, al utilizar Aceite de Neem (15 -30 mL i.a. * ha⁻¹), oxamil (2,4 L i.a. * ha⁻¹) y cadusafos (8,24 L i.a. * ha⁻¹).

El tratamiento con oxamil logró obtener una mayor disminución de las poblaciones de *Pratylenchus spp.* 30 y 120 DDPA de los nematicidas, presentando los menores índices reproductivos. Este tratamiento logró ser más efectivo que el tratamiento con cadusafos, el cual disminuyó las poblaciones solo 30 DDPA, pero en menor medida que oxamil. Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Giannakou *et al.* (2002), en trabajos realizados en pepino y tomate sobre la población de *Meloidogyne spp.*, en el cual fue cadusafos (5 kg i.a. * ha⁻¹), el tratamiento que obtuvo los menores índices reproductivos, sobre oxamil (4 kg i.a. * ha⁻¹), sin diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

Independiente del tratamiento aplicado, los mayores índices reproductivos se obtuvieron 150 DDPA y 30 DDSA, indicando un claro aumento de la población final respecto a la inicial. Este resultado es posible atribuirlo a que coincide con el segundo periodo de mayor crecimiento relativo de raíces del manzano en zonas templadas (Coletto, 1995), ocurrido en otoño, lo cual nos hace suponer que la población de nemátodos en dicho momento aumenta con mayor facilidad al tener disponible una mayor masa radical.

Cuadro 7. Índice Reproductivo (R) para cada uno de los tratamientos a los 30, 120 y 150 DDPA y 30 DDSA, utilizando el método de tamizado de suelo.

Tratamiento	R ₃₀	R ₁₂₀	R ₁₅₀	R ₃₀₍₁₂₀₎
Testigo	1,04	1,49	1,75	1,15
Oxamil	0,79	0,69	1,13	2,24
Cadusafos	0,93	1,23	1,36	2,02

Cada dato representa el promedio de 6 repeticiones. R₃₀: Log (P₃₀₊₁)/Log (P₁₊₁). R₁₂₀: Log (P₁₂₀₊₁)/Log (P₁₊₁). R₁₅₀: Log (P₁₅₀₊₁)/Log (P₁₊₁). R₃₀₍₁₂₀₎: Log (P₁₅₀₊₁)/Log (P₁₂₀₊₁).

Evaluación del control químico de *Pratylenchus* en las raíces

Al evaluar los efectos de los tratamientos químicos sobre la población de *Pratylenchus spp.* al interior de las raíces (Cuadro 8), a través del método de incubación de tejidos en frascos,

no se observaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos.

Al igual que lo ocurrido en la evaluación del control químico de *Pratylenchus spp.* en el suelo, los índices reproductivos a los 30 DDPA de los nematicidas, mostraron que en ambos tratamientos nematicidas hubo una disminución de la población final respecto a la inicial, al registrarse índices reproductivos menores a 1, siendo oxamil, al igual que las mediciones realizadas en la población de *Pratylenchus* en el suelo, el tratamiento que mostró una mayor tendencia a la reducción de la población final, aunque no significativamente.

A los 120 DDPA, solo cadusafos logró disminuir más las poblaciones, siendo el único tratamiento que obtuvo un índice reproductivo menor a 1, sin diferencias estadísticas significativas.

El efecto de los nematicidas fue negativo al evaluarse los índices reproductivos 150 DDPA y 30 DDSA. Considerando la misma lógica utilizada para la evaluación del control químico en suelo, estos resultados coinciden con el segundo periodo de mayor crecimiento relativo de raíces del manzano en zonas templadas (Coletto, 1995), en otoño, lo que podría traer como consecuencia el aumento de la población de nemátodos fitoparásitos con mayor facilidad, al tener disponible una mayor masa radical.

Cuadro 8. Índice Reproductivo (R) para cada uno de los tratamientos a los 30, 120 y 150 DDPA y 30 DDSA, utilizando el método de incubación de tejidos para la extracción de nemátodos.

Tratamiento	R ₃₀	R ₁₂₀	R ₁₅₀	R ₃₀₍₁₂₀₎
Testigo	0,78	1,02	1,18	1,16
Oxamil	0,75	1,00	1,07	1,16
Cadusafos	0,91	0,98	1,10	1,24

Cada dato representa el promedio de 6 repeticiones. R₃₀: $\text{Log}(P_{30+1})/\text{Log}(P_i+1)$. R₁₂₀: $\text{Log}(P_{120+1})/\text{Log}(P_i+1)$. R₁₅₀: $\text{Log}(P_{150+1})/\text{Log}(P_i+1)$. R₃₀₍₁₂₀₎: $\text{Log}(P_{150+1})/\text{Log}(P_{120+1})$.

Porcentaje de control de *Pratylenchus* en suelo y raíces

Los porcentajes de control alcanzados en las muestras de suelo, se presentan en la Figura 4. La aplicación de oxamil a los 30, 120 y 150 DDPA, presentó los mayores valores. Si bien, existe escasa información acerca del control que ambos productos nematicidas ejercen sobre este cultivo, estos resultados nos indican que oxamil, por ser un nematicida de acción sistémica, disminuye en mayor medida los índices reproductivos tanto en el suelo como en raíces, al controlar los estados juveniles y adultos, que migran constantemente desde y hacia la raíz (Magunacelaya y Dagnino, 1999), lo que traería como consecuencia un menor aumento de las poblaciones de nemátodos. Cadusafos, si bien controló las poblaciones de *Pratylenchus spp.* en el suelo 30, 120 y 150 DDPA, fue menos eficaz que las aplicaciones con oxamil, tanto en las muestras obtenidas de suelo como también en raíces.

Los porcentajes de control alcanzados en muestras de raíces, se presentan en la Figura 5. El tratamiento con oxamil ejerció un mayor control a los 120 y 150 DDPA y 30 DDSA.

El porcentaje de control 30 DDSA, en ambas muestras, resultó igual a 0 para ambos tratamientos nematicidas, con excepción de la aplicación de cadusafos 30 DDSA. Esto se puede explicar, debido a que la segunda aplicación de nematicidas se realizó en un periodo de alto crecimiento de raíces (Coletto, 1995), lo que pudo haber permitido que la población de nemátodos se reprodujera con mayor rapidez, elevando las poblaciones finales.

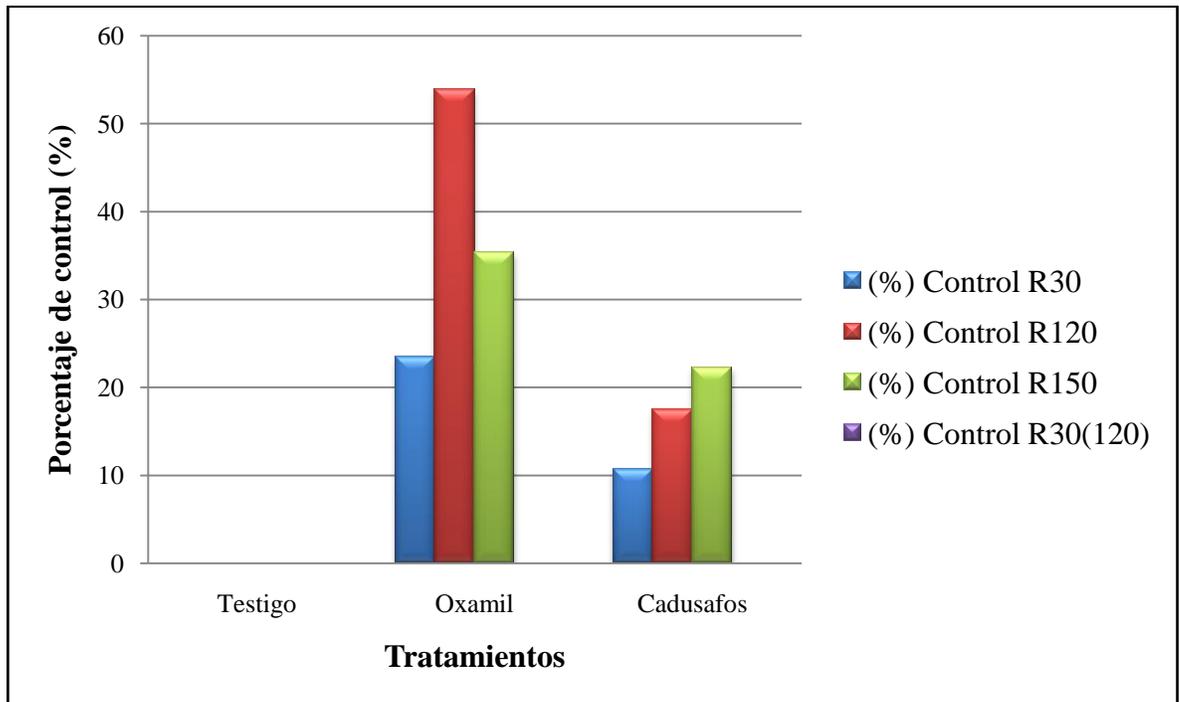


Figura 4. Porcentaje de control de *Pratylenchus spp.* a los 30, 120 y 150 DDPA y 30 DDSA de nematicidas, obtenidos del suelo de un huerto de manzanos.

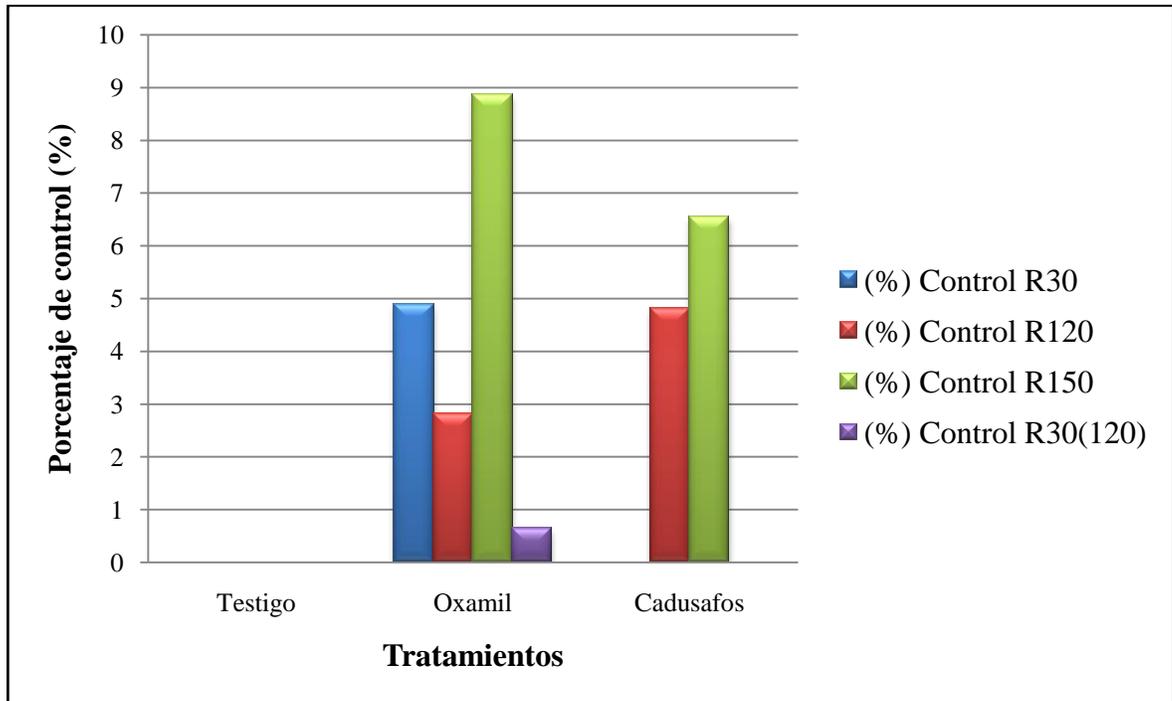


Figura 5. Porcentaje de control de *Pratylenchus spp.* a los 30, 120 y 150 DDPa y 30 DDSa de nematicidas, obtenidos mediante la técnica de incubación de tejidos.

Los resultados de este estudio muestran que no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, al aplicar los productos nematicidas en dosis de 3 kg i.a. * ha⁻¹, al igual que los estudios de Giannakou *et al.* (2002), en dosis de oxamil (4 kg i.a. * ha⁻¹) y cadusafos (5 kg i.a. * ha⁻¹).

Los porcentajes de control promedio de *Pratylenchus spp.* en suelo alcanzan 28,2 y 12,6% en aplicaciones de oxamil y cadusafos, respectivamente, y en raíces 4,3% en aplicaciones de oxamil y 2,8% con cadusafos. Estos resultados no coinciden con los propuestos por otros autores. Baines y Small (1976), indican que oxamil reduce entre un 86 – 96% la densidad de larvas de *Tylenchulus semipenetrans* en raíces de naranjo dulce, asperjado a las hojas en dosis de 4 µm * ml⁻¹. Townshend y Olthof (1988), señalan que la aplicación de oxamil en tubérculos de papa, en dosis de 4 kg i.a. * ha⁻¹, reduce en un 73-86% el número de *P. penetrans* en el suelo y 86-97% en raíces. Philis (1995), indica que aplicaciones de oxamil en papa, en dosis de 3 kg i.a. * ha⁻¹, reduce en un 50% el número de *P. penetrans* en el suelo y 81,7% en raíces, y cadusafos reduce en un 79,2% la población en suelo y 81,1% en raíces en dosis de 5 kg i.a. * ha⁻¹. Más tarde, Philis (1997), indica que aplicaciones de cadusafos en papa, en dosis de 4 kg i.a. * ha⁻¹, reduce en un 58% el número de *P. penetrans* en el suelo y 96% en raíces.

Sin embargo, McClure y Schmitt (1996), concluyen que cadusafos, a una dosis de 20 kg i.a./ha, es uno de los nematicidas más prometedores para el control de *Tylenchulus semipenetrans*, logrando una supresión de los nemátodos de hasta 12 meses después de su

aplicación en raíces. De los antecedentes anteriormente presentados, podemos sugerir que las dosis utilizadas en este ensayo, fueron inferiores a las requeridas para obtener menores índices reproductivos y mayores porcentajes de control.

CONCLUSIONES

En el huerto en estudio, se encuentran dos especies de *Pratylenchus* considerados importantes en el desarrollo del cultivo de manzanos, superando el límite de tolerancia y umbral de daño económico 10-35 individuos/250 cm³ de suelo.

1. *P. penetrans* y *P. vulnus* son las dos especies más agresivas en manzano, y se encuentran en Chile afectando a este cultivo, sin haber sido estudiadas previamente.
2. Los nematicidas que fueron utilizados en este estudio, en las dosis recomendadas, no logran reducir las poblaciones de *Pratylenchus spp.* en forma significativa. Probablemente, esto se debe a que las dosis utilizadas en este ensayo, fueron inferiores a las requeridas para un buen control de estos nemátodos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aballay, E. 1995a. Control de nemátodos fitopatógenos. Publicaciones Misceláneas Agrícolas, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, 41: 85-87.
- Aballay, E. 1995b. Uso de nematicidas químicos, modo de acción y efectividad. Desarrollo de otras alternativas. Pp: 71-75. *In*: Aballay, E. Nematología agrícola básica. Santiago, Chile. 75p.
- Aballay, E. and P. Rubilar. 2006. Morphometrics of two *Pratylenchus* species associated with sugar beet in the Eighth Region Bio-Bio, Chile. *Fitopatología* 41(2): 81-85.
- Acosta, N. and R. B. Malek. 1979. Influence of temperature on population development of eight species of *Pratylenchus* on soybean. *Journal of Nematology* 11(3): 229-232.
- Afipa, A. G. 2002-2003. Manual Fitosanitario. Servicios de Impresión Láser, Santiago, Chile. 1.214p.
- Allen, M. W. and H. J. Jensen. 1951. *Pratylenchus vulnus*, new species (Nematoda: Pratylenchinae) a parasite of trees and vines in California. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 18: 47-50.
- Baines, R. C. and R. H. Small. 1976. Effects of oxamyl on the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, and on infection of sweet orange. *Journal of Nematology* 8(2): 122-130.
- Bello, A. 1983. Nemátodos patógenos de los árboles frutales. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas* 9(2): 133-165.
- Bert, W., R. Van Gansbeke, M. Claeys, E. Geraert and G. Borgonie. 2003. Comparative morpho-anatomical studies of the female gonoduct within the Pratylenchidae (Nematoda: Tylenchina). *Nematology* 5(2): 293-306.
- Castillo, P. and N. Vovlas. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. *Nematology Monographs and Perspectives* 6. Brill, Danvers, USA. 529p.
- Chica, M. B. 2006. Eficacia de *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma* spp. en la reducción poblacional de *Pratylenchus* spp. en frejol. Tesis de Grado previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Babahoyo, Ecuador. 33p.
- Cobb, N. A. 1917. A new parasitic nema found infesting cotton and potatoes. *Journal of*

Agricultural Research 11: 27-33.

Colbran, R. C. 1953. Problems in tree replacement. I. The root lesion nematode, *Pratylenchus coffeae* Zimmerman, as a factor in the growth of replant trees in apple orchards. Australian Journal Agricultural Research 4(4): 384-389.

Coletto, J. M. 1995. Crecimiento y desarrollo de las especies frutales. 2nd ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 168p.

Corbett, D. C. 1973. *Pratylenchus penetrans*. CIH Descriptions of plant-parasitic nematodes, Set 2, No. 25. Commonwealth Institute of Helminthology. St. Albans, England. 4p.

Corbett, D. C. and S. A. Clark. 1983. Surface features in the taxonomy of *Pratylenchus* species. Revue de Nematologie 6(1): 85-98.

Constante, J. F., W. F. Mai, J. Aleong and R. M. Klein. 1987. Effects of apple rootstocks and nematicides on *Pratylenchus penetrans* populations and apple tree growth. Journal American Society Horticulturae Science 112(3): 441-444.

Davis, E. L. and A. E. MacGuidwin. 2000. Lesion nematode disease. The Plant Health Instructor. En línea. Disponible en: <
<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/Nematodes/Pages/LesionNematode.aspx> >. Leído el 23 de agosto de 2011.

De Man, J. G. 1986. Drawing and measuring nematodes. Pp: 59-85. In: Laboratory methods for work with plants and soil nematodes. 6th ed. Technical Bulletin, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London, United Kingdom. 202p.

Decker, H. 1989. Plant nematodes and their control. Indira Kohli. 2nd ed. Brill, Moscow, Russia. 540p.

Doucet, M. E. y P. Lax. 1997. Caracterización de una población y un aislado de *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nematoda: Tylenchida) provenientes de la provincia de Córdoba, Argentina. Nematología Mediterránea 25(2): 287-298.

Doucet, M., P. Lax, J. A. Rienzo and J. Pinochet. 2001. Temperature-induced morphometrical variability in an isolate of *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nematoda: Tylenchida). Nematology 3(1): 1-8.

Fallahi, E., S. L. Hafez, M. Colt and M. M. Seyedbagheri. 1998. Effects of metam sodium and rootstocks on plant-parasitic nematodes, tree growth, yield, fruit quality, and leaf minerals in Braeburn Apple. Nematropica 28(1): 71-79.

Fernández, C., J. Pinochet and R. Dolcet. 1992. Host-parasite relationship of *Pratylenchus*

vulnus on apple and pear rotstocks. *Nematropica* 22(2): 227-236.

Filipjev, I. N. and J. H. Schuurmans Stekhoven. 1941. A Manual of Agricultural Helminthology. E. J. Brill. Leiden, Netherlands.

Gao, X., H. Cheng and C. Fang. 1999. New diagnostic characters for *Pratylenchus vulnus*. *Nematología Mediterránea* 27(1): 9-13.

Giannakou, I. O., A. Sidiropoulos and D. Prophetou-Athanasiadou. 2002. Chemical alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes in greenhouse. *Pest Management Science* 58: 290-296.

González, H. 2006. Asociación malezas- nemátodos: un peligro para la fruticultura nacional. *Tierra Adentro Marzo-Abril* (67): 32-35.

González, H. 2007. Nemátodos fitoparásitos que afectan a frutales y vides en Chile. Santiago, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA N° 149. 176p.

Guiñez, A. y H. González. 1993. Curso de nematología básica: dictado para Ingenieros Agrónomos de diagnóstico y vigilancia del Servicio Agrícola y Ganadero SAG. En línea. Disponible en: < <http://www.inia.cl/medios/biblioteca/seriesinia/NR16997.pdf> >. Leído el 15 de noviembre de 2011.

Handoo, Z. and A. Morgan. 1989. A key and diagnostic Compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Lesion Nematodes). *Journal of Nematology* 21(2): 202-218.

Hooper, D. 1986a. Extraction of free-living stages from soil. Pp: 5-30. *In*: Southey, J. F. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. 6th ed. Technical Bulletin, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London, United Kingdom. 202p.

Hooper, D. 1986b. Extraction of nematodes from plant material. Pp: 51-58. *In*: Southey, J. F. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. 6th ed. Technical Bulletin, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London, United Kingdom. 202p.

Hooper, D. 1986c. Handling, fixing, staining and mounting nematodes. Pp: 59-80. *In*: Southey, J. F. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. 6th ed. Technical Bulletin, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London, United Kingdom. 202p.

Jaffe, B. A. and Mai, W. F. 1979a. Effect of soil water potencial on growth of apple trees infected with *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology* 11(2): 161-165.

Jaffe, B. A. and W. F. Mai. 1979b. Growth reduction of apple seedlings by *Pratylenchus penetrans* as influenced by seedling age at inoculation. *Journal of Nematology* 11(2): 165-

168.

Joenes, A. L. y H. S. Aldwinckle. 2002. Plagas y enfermedades del manzano y el peral. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 99p.

Julca, A., M. Marín, J. Sánchez y E. Gallego. 2002. Efecto del aceite de neem, oxamyl y cadusafos sobre fitonemátodos y la producción de *Solanum melongena* var. Cristal cultivada bajo plástico en Almería (S.E. España). *Idesia (Chile)* 20(1): 43-50.

Kurppa, S. and T. C. Vrain. 1985. Penetration and feeding behavior of *Pratylenchus penetrans* in strawberry roots. *Revue Nematology* 8(3): 273-276.

Loof, P. A. A. 1960. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus* (Nematoda). *Tijdschr Plantenziekten* 66: 29-90.

Loof, P. A. A. 1978. The genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae): A review of its anatomy, morphology, distribution, systematics and identification. Swedich Universities Agricultural Science Research Information Centre, Uppsala, Sweden.

Loof, P. A. A. 1991. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. Pp: 363-421. *In*: Nickle, W. R. (Ed.). *Manual of agricultural nematology*. M. Dekker, New York, USA. 1.064p.

Magunacelaya, J. C. 1995a. Principales nemátodos que afectan a los frutales de hoja caduca y la vid. biología, sintomatología y evaluación de daños. *Publicaciones misceláneas agrícolas* 41(septiembre): 75-80.

Magunacelaya, J. C. 1995b. Nemátodos del género *Pratylenchus* y otros géneros de importancia agrícola. *In*: Aballay, E. *Nematología agrícola básica*. 75p.

Magunacelaya, J. C. y E. Dagnino. 1999. *Nematología Agrícola en Chile*. Serie Ciencias Agronómicas N°2. 288p.

Mahran, A., M. Tenuta, T. Shinnars-Carenelly, M. Mundo-Ocampo and F. Daayf. 2010. Prevalence and species identification of *Pratylenchus* spp. in Manitoba potato fields and host suitability of 'Russet Burbank'. *Canadian Journal Plant of Pathology* 32(2): 272-282.

McClure, M. A. and M. E. Schmitt. 1996. Control of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, with cadusafos. *Journal of Nematology* 28(4S): 624-628.

Melakeberhan, H., A. L. Jones and G. W. Bird. 2000. Effects of soil pH and *Pratylenchus penetrans* on the mortality of 'Mazzard' cherry seedlings and their susceptibility to *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 22(2): 131-137.

Nematode Assay Laboratory. 2000. Nematode threshold densities for apple. Virginia Tech. En línea. Disponible en < http://oak.ppws.vt.edu/~clinic/nematode/nt_apple.pdf >.

Leído el 15 de febrero de 2012.

Nyczepir, A. P. and J. O. Becker. 1998. Fruit and citrus trees. Pp: 637-684. *In*: Barker, K. R. Plant and nematode interactions. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science of America. 772p.

Nyczepir, A. P. and J. M. Halbrendt. 1993. Nematode pest of deciduous fruit and nut trees. Pp.381-425. *In*: Evans, K., D. L. Trudgill and J. M. Webster. Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Cab International, Wallingford, England. 648p.

Philis, J. 1995. Presence and control of *Pratylenchus penetrans* on potato in Cyprus. *Nematología Mediterránea* 23:235-238.

Philis, J. 1997. Effect of cadusafos and carbofuran against *Pratylenchus penetrans* and some ectoparasitic nematodes infesting potato in Cyprus. *Nematología Mediterránea* 25: 169-172.

Pinochet, J., C. Fernandez, D. Esmenjaud and M. Doucet. 1993. Effects of six *Pratylenchus vulnus* isolates on the growth of peach-almond hybrid and apple rootstocks. *Journal of Nematology* 25(4S): 843-848.

Rackham, R., J. D. Radewald, C. L. Hemtreet and F. Shibuya. 1975. Lesion nematode (*Pratylenchus*) control in apples. *California Agriculture* 29(4): 14-15.

Renaud, J. 1985. Consideraciones sobre *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae), contribución al conocimiento de especies encontradas en Venezuela. Trabajo de Ascenso. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto, Venezuela. 83 pp.

Roman, J. and H. Hirschmann. 1969. Morphology and morphometrics of six species of *Pratylenchus*. *Journal Nematology* 1(4): 363-386.

Roman, J. and A. C. Triantaphyllou. 1969. Gametogenesis and reproduction of seven species of *Pratylenchus*. *Journal of Nematology* 1(4): 357-362.

Santibáñez, F. y J. M. Uribe. 1993. Atlas agroclimático de Chile: Regiones Sexta, Séptima, Octava y Novena. Ministerio de Agricultura, FIA, Corporación de Fomento de la Producción. 99p.

Santo, G. S., and J. H. Wilson. 1990. Effects of fenamiphos on *Pratylenchus penetrans* and growth of Apple. *Journal of Nematology* 22(4S): 779-782.

Seinhorst, J. W. 1968. Three new *Pratylenchus* species with a discussion of the structure of the cephalic framework and of the spermatheca in this genus. *Nematológica* 14(4): 497-510.

- Smiley, R. W. 2010. Root-lesion nematodes. Biology and management in Pacific Northwest wheat cropping systems. A Pacific Northwest Extension Publication. University of Idaho, Washington, USA. 617p.
- Sögüt, M. A. and Z. Devran. 2011. Distribution and molecular identification of root lesion nematodes in temperate fruit orchards of Turkey. *Nematropica* 41: 91-99.
- Stirling, G. R. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes. CAB International, Brisbane, Australia. 282p.
- Tarté, R. and W. F. Mai. 1976. Morphological variation in *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology* 8(3): 185-195.
- Townshend, J. L. and T. H. A. Olthof. 1988. Growth of potato and control of *Pratylenchus penetrans* with oxamyl-treated seed pieces in greenhouse studies. *Journal of Nematology* 20(3): 405-409.
- Townshend, J. L. 1991. Morphological observations of *Pratylenchus penetrans* from celery and strawberry in southern ontario. *Journal of Nematology* 23(2): 205-209.
- Valenzuela, A. and D. J. Raski. 1985. *Pratylenchus australis* n. sp. and *Eutylenchus fueguensis* n. sp. (Nematoda: Tylenchina) from Southern Chile. *Journal of Nematology* 17(3): 330-336.
- Wallace, H. R. 1973. Nematode ecology and plant disease. Edwards Arnold, London, England. 228p.
- Zuckerman, B. M., W. F. Mai and M. B. Harrison. 1987. Fitonematología: Manual de Laboratorio. Marbán - Mandoza, N. (traductor). Pp: 235-242. Turrialba, Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 248p.