

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN FITOPATOLOGÍA**



**“CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES PERUANAS DEL
NEMATODO DEL NÓDULO DE LA RAÍZ (*Meloidogyne* spp.) EN VID
(*Vitis vinífera* L.) ”**

Presentada por:

NOEMÍ VARAS HUAROTO

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGÍSTER SCIENTIAE EN FITOPATOLOGÍA**

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

A mis padres Filomena y José por su ejemplo, amor, fuerzas y apoyo incondicional, en cada paso de mi desarrollo personal y profesional.

A mis hermanas Maribel y Flor por apoyo, compañía y complicidad en cada una de los retos emprendidos.

A mi sobrinito y ahijado Alejandro, por llegar a nuestras vidas, enseñarnos muchas cosas, sorprendernos todos los días, por su eterna alegría, y por representar un motivo de fortaleza en nuestras vidas.

A mi mejor amigo Julio Chacón, por sus consejos, estima, tiempo, por escucharme siempre, por ser mi guía y ejemplo de profesionalismos.

AGRADECIMIENTO

A Innovate Perú (Ministerio de la Producción), por financiar el proyecto de tesis de posgrado, mediante el Proyecto titulado: "Diversidad biológica de poblaciones peruanas de *Meloidogyne spp.*: Descripción y caracterización de especies a través del uso de isoenzimas y marcadores moleculares" correspondiente al Convenio N° 346-PNICP-BRI-2015.

A mi asesor Dr. Israel Lima Medina, por su amistad, apoyo y conocimientos transmitidos durante el desarrollo del proyecto.

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, por brindarme sus instalaciones para la realización del proyecto y su decana Dra. Rosario Bravo Portocarrero.

Al laboratorio Embrapa Clima Templado de Brasil, por permitirme hacer la identificación morfológica de especies de *Meloidogyne*.

A mis compañeros tesisistas, en especial a Cesa Ángel Ríos Huamaní, que significó un gran apoyo, por su capacidad de desprendimiento, compañía en momentos complicados que se presentaron en el desarrollo de la tesis, y amistad sincera

A mis maestros de pre-grado, por su apoyo incondicional, ser un valioso ejemplo para mí y ser piezas importantes en mi desarrollo profesional, al Dr. Juan José Guillermo Albitres y al Mg.Sc. Ricardo Espino Caballero.

A mis maestros de post-grado que me inculcaron la nematología, al Dr. Manuel Canto Saenz y Dra. Elsa Carbonel.

A cada uno de mis maestros y jurados en especial a la Dra. Leonor, el Mg.Sc. Carlos Cadenas, el Dr. Sady Garcia y el Mg.Sc. Gilberto Rodríguez.

A un gran amigo Ing. Roberto Becerra, reconocido asesor en el manejo de vid, de la zona norte de Perú y a las diferentes empresas agro-exportadoras de Vid, de los diferentes departamentos del norte y sur del país, por su apoyo en la adquisición de muestras de campo.

Al laboratorio de Biaster, y su equipo técnico por su incondicional apoyo en la ejecución de la tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. La Vid - <i>Vitis vinífera</i> (Linn)	3
2.1.1. Origen y distribución	3
2.1.2. Taxonomía	3
2.1.3. Ciclo vegetativo y reproductivo de la vid	4
2.1.4. Principales portainjertos en Perú	5
2.1.5. Principales nematodos asociados a la Vid	7
2.2. <i>Meloidogyne</i> spp.	9
2.2.1. Clasificación Taxonómica	9
2.2.2. Morfología y Anatomía	10
2.2.3. Biología de Nematodos	11
2.2.4. Ciclo biológico del nematodo (<i>Meloidogyne</i> spp.)	12
2.2.5. Reproducción	13
2.2.6. Síntomas	13
2.2.7. Daños	14
2.2.8. Efecto de la temperatura del suelo	15
2.2.9. Humedad y textura del suelo	15
2.2.10. <i>Meloidogyne</i> spp. en vid	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar de ejecución	17
3.2. Recolección de muestras de suelo y raíces	18
3.3. Extracción de individuos de suelo, método de centrifugación (Jenkins, 1964)	20

3.4. Identificación de nematodos fitopatógenos	20
3.5. Incidencia, abundancia y selección de índices de biodiversidad.	22
3.5.1. Cálculo de la diversidad relativa de los géneros	22
3.5.2. Índice de dominancia de Simpson	23
3.5.3. Índice de diversidad de especies Shannon Winer	23
3.6. Reproducción de <i>Meloidogyne sp</i> , en plantas indicadoras.	24
3.7. Extracción y montaje de hembras de <i>Meloidogyne spp</i> .	24
3.8. Identificación morfológica de poblaciones de <i>Meloidogyne spp</i> .	26
3.9. Caracterización isoenzimática para identificar especies de <i>Meloidogyne spp</i> .	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1. Ubicación de las unidades de muestreo de suelo y raíces	29
4.2. Evaluación de las poblaciones de nematodos fitoparásitos	34
4.3. Incidencia y abundancia de los diferentes géneros en la muestra total	37
4.4. Análisis discriminado por departamento	38
4.4.1. Ica	38
A. Ica - Villacury	38
B. Ica – Valle	38
4.4.2. Piura	39
4.4.3. Ancash	40
4.4.4. Arequipa	41
4.4.5. Trujillo	42
4.4.6. Lambayeque	43
4.5. Índices de biodiversidad de nematodos fitopatógenos.	43
4.5.1. Diversidad relativa de géneros entre departamentos	44
4.5.2. Diversidad relativa de los géneros para el área total del muestreo.	45
4.5.3. Índice de dominancia de las especies de Simpson	46
4.5.4. Índice de diversidad de géneros de Shannon	47
4.6. Identificación morfológica de <i>Meloidogyne sp</i>	47
4.7. Caracterización isoenzimática para identificar especies de <i>Meloidogyne spp</i> .	48
4.8. Discusión	52
V. CONCLUSIONES	55
VI. RECOMENDACIONES	56
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
VIII. ANEXO	62

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro N° 1: Proporción de variedades y patrones presentes en las muestras evaluadas	30
Cuadro N° 2: Localización Nematodos ectoparásitos y endoparásitos identificados en la prospección de diferentes zonas productoras de Vid.	33
Cuadro N° 3. Nematodos ectoparásitos y endoparásitos identificados en la prospección de diferentes zonas productoras de Vid.	35
Cuadro N° 4. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de las principales zonas productoras de vid.	37
Cuadro N° 5: Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Ica - Villacury.	38
Cuadro N° 6: Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Ica - Valle.	39
Cuadro N° 7: Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Piura.	40
Cuadro N° 8: Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Ancash.	41
Cuadro N° 9: Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Arequipa.	42
Cuadro N° 10: Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Trujillo.	42
Cuadro N° 11. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Lambayeque.	43
Cuadro N° 12.: Corridos electroforéticos e identificación de especies de <i>Meloidogyne</i> en cuatro departamentos productores de Vid.	49
Cuadro N° 13: Ubicación geográfica de las muestras seleccionadas para corridos electroforéticos e identificación de especies de <i>Meloidogyne</i> .	50
Cuadro N° 14: Distribución de especies de <i>Meloidogyne</i> en cuatro departamentos productores de Vid.	51
Cuadro N° 15: Incidencia de especies de <i>Meloidogyne</i> en cuatro departamentos productores de Vid.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 1: Mapa del Perú indicando las zonas de muestreo.	19
Figura N° 2: Recolección de muestras de suelo y raíces.	19
Figura N° 3: Extracción de individuos de suelo, método de centrifugación (Jenkins, 1964).	21
Figura N° 4: Extracción y montaje de hembras de <i>Meloidogyne</i> spp.	25
Figura N° 5: Caracterización fenotípica para identificar especies de <i>Meloidogyne</i> spp.	27
Figura N° 6: Técnica de electroforesis para la identificación de especies de <i>Meloidogyne</i> .	28
Figura N° 7: Porcentaje de Variedades y patrones presentes en las muestras evaluadas por departamento.	31
Figura N° 8: Proporción de nematodos fitoparásitos encontrados en las principales zonas productoras de vid, en Perú, pertenecientes a los grupos tróficos (a) y orden detectados (b).	36
Figura N° 9: Diversidad relativa de los géneros.	44
Figura N° 10: Porcentajes de diversidad de los géneros para el área total del muestreo.	45
Figura N° 11: Comparación de la dominancia de géneros entre bloques.	46
Figura N° 12: Comparación de diversidad de géneros entre bloques.	47
Figura N° 13: Patrones perineales de <i>Meloidogyne</i> al microscopio electrónico de barrido (SEM): A) <i>M. arenaria</i> , B) <i>M. hapla</i> , C) <i>M. incognita</i> , D) <i>M. javanica</i> . La regla en las fotografías indica 20 μ m.	48

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo N° 1: Caracterización morfológica básica para la identificación de nematodos fitoparásitos.	62
Anexo N° 2: Cantidad y proporción de Variedades y patrones de las muestras analizadas	64
Anexo N° 3: Índices de biodiversidad de nematodos fitoparásitos	65
Anexo N° 4: Índice de biodiversidad de Shannon de nematodos fitopatógenos	66

RESUMEN

La vid es uno de los cultivos más importantes para la economía peruana, con una superficie en nuestro país de 17,683 has. Es susceptible a diferentes géneros de organismos fitopatógenos, principalmente al “nematodo del nudo” (*Meloidogyne* spp.), detectados con altos niveles de infestación. Por esta razón el objetivo del presente estudio fue caracterizar las poblaciones de *Meloidogyne* spp., en las principales zonas productoras de vid del Perú. Para el desarrollo del estudio se analizaron 391 muestras, seleccionando las muestras con mayores densidades poblacionales. Los resultados de 17 corridas electroforéticas en muestras de los departamentos: Arequipa, Ica, Ancash y Piura, indican que *M. arenaria*, es la especie predominante a con una incidencia de 53.8 %, seguida de *M. incognita*, con incidencia del 15.4 %; *M. sp2*, con incidencia del 11.5 %; *M. javanica*, con incidencia del 7.7 %; *M. sp3*, con 7.7 % de incidencia y *M. morociensis*, con incidencia del 3.8 %. También se encontró que el portainjerto predominante en nuestro país, es Salt Creek, seguido de Poulsen, MGT, R110, Freedom y Harmony. *M. arenaria*, se detectó en todos los patrones a excepción de Harmony; *M. incognita* se encontró ausente en los patrones Freedom y Harmony, mientras que *M. javanica* se encontró solo en el patrón Harmony. Además se caracterizó otros géneros de nematodos fitopatógenos asociados al cultivo de Vid: *Meloidogyne* sp, *Rotylenchulus* sp, *Helicotylenchus* sp, *Xiphinema* sp, *Criconema* sp, *Hemicycliophora* sp, *Tylenchulus* sp, *Pratylenchus* sp, *Paratylenchus* sp, *Tylenchorynchus* sp, *Hoplolaiumus* sp, *Criconemella* sp y *Trichodorus* sp.

Palabras clave: *Meloidogyne* spp., Vid, electroforesis, ectoparásitos, endoparásitos.

ABSTRACT

The grapevine is one of the most important crops for the Peruvian economy, with a surface of 17,683 has. It is susceptible to different, genera of phytopathogenic organisms, mainly to the "knot nematode" (*Meloidogyne* spp.), present in high levels of infestation. For this reason, the objective of this study was to characterize the populations of *Meloidogyne* spp., in the main grapevine producing areas of Peru. For the development of the study, 391 samples were analyzed, selecting the samples with the highest population densities. The results of 17 electrophoretic runs in samples from the departments of Arequipa, Ica, Ancash and Piura, indicated that *M. arenaria* is the predominant species, with an incidence of 53.8 %, followed by *M. incognita*, with an incidence of 15.4 %; *M. sp2*, with an incidence of 11.5 %; *M. javanica*, with an incidence of 7.7 %; *M. sp3*, with 7.7 % incidence and *M. morociensis*, with an incidence of 3.8 %. It was also found that the predominant rootstocks in our country is Salt Creek, followed by Poulsen, MGT, R110, Freedom and Harmony. *M. arenaria*, was detected in all the rootstocks except Harmony; *M. incognita* was found absent in Freedom and Harmony rootstocks, whereas *M. javanica* was found only in Harmony rootstock. In addition, the following genera of phytopathogenic nematodes associated with grapevine cultivation were characterized: *Meloidogyne* sp, *Rotylenchulus* sp, *Helicotylenchus* sp, *Xiphinema* sp, *Criconema* sp, *Hemicycliophora* sp, *Tylenchulus* sp, *Pratylenchus* sp, *Paratylenchus* sp, *Tylenchorynchus* sp, *Hoplolaiumus* sp, *Criconemella* sp and *Trichodorus* sp.

Key words: *Meloidogyne*, Vine, electrophoresis, Genders, ectoparasites, endoparasites.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú se ha convertido en un importante exportador de productos agrícolas. Se ubica como el quinto país más grande exportador a nivel mundial. Las uvas de mesa son muy importantes para la economía peruana, ofreciendo oportunidades y empleos en zonas rurales. Así mismo este presenta una superficie en nuestro país de 17,683 has, y de 7,998 has en Ica; 6,573 has en Piura; 1,688 has en Lambayeque; 655 has en la Libertad; 370 has en Arequipa; 350 has en Ancash; 43 has en Moquegua; 6 has en Tumbes; según PROVID, 27 de enero del 2017.

La vid es actualmente el alimento fresco de mayor exportación, sobrepasando al espárrago, generando excelentes ganancias en su producción, las cuales con el paso del tiempo, se han visto disminuidos, por el ataque de diferentes plagas como nematodos fitoparásitos, el acaro de la yema, trips, mosca blanca, y enfermedades como oidio, mildiu, complejo de Petri, *Lasiodiplodia* sp, *Cilindrocarpon* sp, virosis, etc, a nivel mundial.

Perú se caracteriza por contar con una diversidad climatológica y edáfica, en donde la vid ha sido adaptada exitosamente en cada uno de ellos en la costa peruana, llegando a remplazar algunos cultivos como paprika, alcachofa, espárrago, entre otros. Sin embargo, muchos de estos cultivos dejaron como herencia suelos infestados con una diversidad de nematodos fitoparásitos, los cuales significan en la actualidad un gran impacto sobre su producción.

Existen más de diez géneros de nematodos fitopatógenos que atacan a la vid, resaltando entre ellos, en primer lugar a *Meloidogyne* sp, luego *Rotylenchulus* sp, *Helicotylenchus* sp y *Xiphinema* sp. Con menor incidencia en la prospección tenemos a *Criconema* sp, *Hemicycliophora* sp, *Tylenchulus* sp, *Pratylenchus* sp, *Paratylenchus* sp, *Tylenchorynchus* sp, *Hoplolaiumus* sp, *Criconemella* sp, *Trichodorus* sp.

Entre los diversos nematodos fitoparásitos que afectan al cultivo de vid, cabe destacar al género más importante a nivel mundial: *Meloidogyne* spp., un nematodo endoparásito

sedentario obligado, que tiene alrededor de 3000 especies de plantas hospederos y es importante en climas templados, tropicales, subtropicales y mediterráneos. Las especies de *Meloidogyne* ampliamente distribuidas son: *M. incógnita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla* y *M. chitwoodi*.

El diagnóstico preciso de *Meloidogyne* spp., en un campo de cultivo se hace indispensable, puesto que es fundamental para la implementación de una estrategia de control, como el uso de cultivares resistentes, rotación de cultivos y el establecimiento de medidas cuarentenarias (Vera, 2014).

La identificación de nematodos fitoparásitos, tiene como base el estudio de las características morfológicas, como los patrones perineales, forma del estilete; morfométricas, como tamaño del estadio Juvenil 2; prueba de hospedantes diferenciales, y la caracterización fenotípica de isoenzimas de hembras adultas y el diagnóstico molecular mediante PCR.

Hasta el momento, en el Perú existe un solo reporte de *M. arenaria* en vid, en Lima, (Vera, 2014); y no existen reportes en las principales zonas productoras.

En el presente trabajo se emplearon las técnicas de caracterización morfológica, y fenotípica de isoenzimas para el diagnóstico de especies de *Meloidogyne* presentes en muestras de las principales zonas productoras de vid. Con el propósito de contribuir a la identificación de *Meloidogyne*, en el cultivo de vid. Se tuvo los siguientes objetivos:

1. Caracterizar al nematodo del nódulo de la raíz (*Meloidogyne* spp.) de las principales zonas de producción del cultivo de vid en Perú.
2. Identificar los principales géneros de nematodos fitoparásitos en las diferentes áreas productoras de Vid en Perú.
3. Identificar las especies del género *Meloidogyne*, morfológica e isoenzimáticamente, en las áreas productoras de vid en Perú.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. La Vid - *Vitis vinífera* (Linn)

2.1.1. Origen y distribución:

La vid es un arbusto caducifolio que pertenece a la familia de las vitáceas (Vitaceae). Los botánicos sitúan el origen de la uva cultivada en Europa en la región asiática del Mar Caspio, desde donde las semillas se dispersaron hacia el oeste por toda la cuenca mediterránea. Los antiguos griegos y romanos cultivaban la vid y ambas civilizaciones desarrollaron en gran medida la viticultura (Agrobanco, 2008).

En el Perú, las mayores zonas productoras de vid son Ica, Piura, La Libertad, Arequipa, Moquegua, Tacna, entre otras. La vid es una planta perenne y posee un periodo vegetativo con cosechas anuales, empezando a producir a partir del segundo año de instalada. Requiere de un clima tropical y sub-tropical, que posean temperaturas entre los 7 °C y 24 °C con una humedad relativa de 70 % u 80 %, desarrollándose exitosamente en suelos franco arcillosos.

En el mercado nacional la situación de crecimiento no difiere a la realidad mundial, éste presenta una superficie en nuestro país de 17 683 has, y de 7,998 has en Ica.

Ica es el principal impulsor de este crecimiento (ha crecido en 184 % entre el año 2000 y 2006) según el ministerio de agricultura del 2015.

2.1.2. Taxonomía: Según Hidalgo (1999), ubica a la Vid dentro de la siguiente clasificación:

Reino: Vegetal Haeckel 1866

Tipo: Fanerógama

Subtipo: Angiospermae

Clase: Dicotiledonea

Orden: Rammiales

Familia: Vitaceae

Subfamilia: Solanoideae

Género: *Vitis* L.

Especie: *Vitis vinífera* Linn.

2.1.3. Ciclo vegetativo y reproductivo de la vid

El ciclo anual del cultivo de vid, está caracterizado por el desarrollo vegetativo y por el reproductor. Para comprender mejor, es conveniente conocer algunas características de esta planta. Una vez que la vid ha acumulado el frío suficiente y las temperaturas son adecuadas, el comienzo de la salida del reposo se detecta por el lloro. Después comienza el desborre de las yemas y le siguen la brotación y crecimiento del pámpano. En este pámpano se forman hojas, yemas, zarcillos y se desarrollan las inflorescencias. El ciclo vegetativo continúa con el agostamiento del pámpano (progresiva lignificación y acumulación de reservas y endurecimiento desde la base hacia el ápice), que pasa a denominarse sarmiento. Este ciclo termina con la caída de la hoja (Weiland, 2001).

El ciclo reproductivo comienza con la iniciación de las inflorescencias en las yemas latentes del año precedente. Le siguen la diferenciación floral y la aparición de racimos rudimentarios, que una vez desarrollados dan lugar a las inflorescencias típicas de la vid (racimo de racimos). Más tarde aparece la fecundación, el cuajado, el desarrollo de la baya hasta el envero y la maduración. La maduración en la baya está caracteriza por dos aspectos. El primero es la acumulación de azúcares. Estos proceden de las reservas de la planta, de la fotosíntesis de las hojas y de la transformación a partir del ácido málico (Ribereau-Gayon y Peynaud, 1971 citado en Weiland, 2001).

El segundo es la disminución en ácidos orgánicos y el aumento del pH. La acidez de la uva se debe principalmente a los ácidos tartárico y málico y, en menor proporción, al cítrico. Una vez que la acidez total ha alcanzado su máximo contenido durante el desarrollo de la uva (período herbáceo), va disminuyendo en el curso de la maduración. Esta disminución está determinada por varios motivos:

a) Migración de bases (principalmente K^+) desde las raíces (Winkler et al., 1974 citado en Weiland, 2001),

b) Fenómenos de combustión respiratoria: este es quizás la causa más determinante de la disminución de la acidez y de la evolución de los ácidos málico y, en menor medida, tartárico (Kliewer, 1964; 5 Illand y Coombe, 1988 citado en Weiland, 2001),

c) Disminución de la síntesis de ácido málico debida, principalmente, a la pérdida de la actividad enzimática (PEP carboxilasa/EC) de las reacciones involucradas en su síntesis y favorecida por las altas temperaturas (Lakso y Kliewer, 1977; Mullins et al., 1992 citado en Weiland, 2001).

d) Transformación del ácido málico en glucosa mediante las enzimas PEP-carboxiquinasa (EC 4.1.1.32) y fosfofructoquinasa (Ruffner et al., 1976). Además de estos aspectos, durante la maduración también ocurre la síntesis de una serie de sustancias de gran importancia en la calidad enológica (Weiland, 2001).

En la actualidad la planta de vid cultivada en explotaciones comerciales está compuesta por dos individuos, uno constituye el sistema radical (*Vitis* spp. del grupo americano, en su mayoría), denominado patrón o portainjerto y, otro la parte aérea (*Vitis vinifera* L.), denominada púa o variedad. Esta última constituirá el tronco, los brazos y los pámpanos que portan las hojas, los racimos y las yemas. La unión entre ambas zonas se realiza a través del punto de injerto.

2.1.4. Principales portainjertos en Perú

La utilización de portainjertos resistentes a Filoxera, abrió una nueva etapa en la viticultura. En décadas posteriores se encontraron otras múltiples ventajas, como la resistencia a nematodos, organismos microscópicos que causan daño a la vid, por un ataque directo (alimentación de raíces y raicillas) o indirecto (transmisión de enfermedades y virus).

Si bien los portainjertos relacionados a *Vitis champini* (Salt Creek y Dogridge), son los que presentarían una acentuada resistencia a nematodos, hay otros que, sin tener dicho origen, también manifiestan una clara tolerancia (Muños y Gonzales, sf).

Según Luvisi y Schrader (1994 citado en Muños y Gonzales, sf), el efecto del portainjerto responde a la suma de varios factores como tipo de suelo, características del portainjerto, variedad, prácticas culturales y clima.

Los principales portainjertos empleados en nuestro país se describen a continuación.

A. Freedom

Híbrido de 1613 C (*V. solonis* X Othello) X Dog Ridge), de vigor moderado a alto. Bastante resistente a nemátodos del género *Meloidogyne*, pero baja tolerancia a filoxera. Sensible a madera infestada por virus, lo que puede causar incompatibilidad. El brote es similar a Harmony, pero sus hojas son de un verde más oscuro y pubescente. Reportes obtenidos en California señalan que las variedades Thompson Seedless, Flame Seedless y Crimson Seedless tienen un buen comportamiento agronómico sobre este portainjerto (Luvisi, 1999 citado en Muños y Gonzales, sf). Resistencia media a sequía, gran tomador de K y N; deficiente de Zn y Mn; y particularmente sensible a virus (Corky Bark, Leaf Roll).

B. Harmony

Híbrido de 1613 C y Dogridge. Se adapta bien a suelos de texturas gruesas de baja fertilidad. Vigor levemente inferior a Freedom. Buena resistencia a nemátodos del nudo de la raíz (algunas especies y razas) y *Xiphinema* sp pero baja resistencia a *Pratylenchus* sp y filoxera (Muños y Gonzales, sf). Reportes obtenidos en California señalan que las variedades Flame Seedless y Red Globe tienen un buen comportamiento agronómico sobre este portainjerto (Luvisi, 1999 citado en Muños y Gonzales, sf). Resistencia baja a media a sequía, gran tomador de K y Zn, y deficiente de Mg.

Kasimatis y Lider, (1975); y McCarthy y Cirami, (1990), citados en Muños y Gonzales, sf. demostraron la resistencia del patrón Harmony, quienes lo señalan como resistente, pero no inmune a *Meloidogyne* spp. No obstante, estudios realizados en Chile (Aballay et al. 1997 citado en Muños y Gonzales, sf), demuestran su susceptibilidad a éste nemátodo. Por su parte, Raski et al. (1973) citado en Muños y Gonzales, sf. advierte que algunas razas de éste nemátodo pueden causarle daño a este portainjerto.

C. Paulsen 1103

Híbrido de *Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*. Gran resistencia a la sequía y buena tolerancia a suelos calcáreos. Portainjerto de alto vigor, de buena resistencia a filoxera, pero baja a nemátodos del nudo. Buen comportamiento en suelos salinos. Las estacas de este patrón se enraizan e injertan con facilidad no presentando problemas de compatibilidad con la mayoría de las variedades de *Vitis vinífera* (a excepción de Red Globe, en donde se ha registrado una incompatibilidad asociada al virus Stem Lesion). Resultados generados en California muestran que las variedades Thompson Seedless, Crimson Seedless y Flame Seedless tienen el mejor comportamiento agronómico sobre este portainjerto (Luvisi, 1999) citado en Muños y Gonzales, sf. Paulsen además presenta baja asimilación de K, y alto de P y Mg,

D. Ramsey (Salt Creek)

Selección de *Vitis champinii*. El aspecto más importante de este portainjerto es su alto vigor y la buena distribución de raíces lo que permite en suelos pobres y a su vez hace la planta más resistente a la sequía. Es muy resistente a nemátodos al igual que a sales. La resistencia a filoxera es adecuada. En California se han reportado buenos resultados con Red Globe y general aumenta considerablemente la producción total. Sin embargo, es el que produce mayor cantidad de fruta de descarte, principalmente por problemas de color (Luvisi, 1999 citado en Muños y Gonzales, sf). Tolerancia media a suelos calcáreos, gran tomador de K, N y P, y sufre desbalances de Mg y Ca.

E. Mgt 101-14

Híbrido de *Vitis riparia* x *Vitis rupestris*. Vigor moderado. Tiene alta resistencia a filoxera, pero media a nemátodos del nudo de la raíz. Con tolerancia media a humedad y baja a sequía, con cierta tolerancia a sales, presenta tolerancia a algunos virus.

2.1.5. Principales nematodos asociados a la vid

Los nematodos son gusanos microscópicos no segmentados que constituyen el grupo más abundante de animales multicelulares en la tierra, ocupando la mayoría de hábitats. Existen nematodos bacteriófagos, fungívoros, predadores de otros nematodos, parásitos de insectos y herbívoros o parásitos de plantas (Talavera, 2003).

Comprenden más de 2000 especies algunas de las cuales parasitan a las plantas cultivadas, siendo causa de daños que pueden ser muy graves. Los que parasitan vid son especies de origen edáfico, se alimentan de sus raíces y se estima que representan el 15 % de las pérdidas totales del cultivo (Arias et al., 1990 citado en Vera, 2014).

Entre los nematodos fitoparásitos, el género *Meloidogyne* spp., constituye uno de los nematodos endoparásitos sedentarios obligados de mayor importancia económica y constituyen uno de los principales factores limitantes en la producción de campos de cultivos en países tropicales y subtropicales (Vera, 2014).

El cultivo de vid no solo se ha visto afectado por *Meloidogyne* spp. Si no además se ha encontrado asociado con otros géneros fitoparásitos de importancia para el cultivo, capaces de pasar desapercibidos, debido a la ausencia de síntomas evidentes como los nódulos, logrando alcanzar altas poblaciones, que afectan de igual manera la productividad del cultivo. Es así que en la Libertad – Perú, Murga *et al.*, 2001, identificó la presencia de diez géneros de nematodos fitoparásitos, asociados al cultivo de vid, siendo los siguientes: *Aphelenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicicliophora*, *Hoplolaimus*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, *Tylenchorynchus*, *Tylenchus* y *Xiphinema*.

En Ica, por su parte el Laboratorio Agrícola Biaster, reporta en sus diagnósticos en vid, la presencia de otros géneros fitoparásitos, como: *Rotylenchulus* y *Criconemoides*; además de los géneros encontrados en la Libertad.

Jiménez *et al.*, (2012), en Venezuela, realizó muestreos de las principales zonas productoras de vid, detectándose siete géneros fitoparásitos, de los cuales las especies más frecuentemente detectadas fueron *R. reniformis*, *H. dihystera* y *M. incognita*, con 85,4; 81 y 70,9 % de ocurrencia, respectivamente. Siendo *R. reniformis* y *M. incognita*, los nematodos más importantes y capaces de causar daños al cultivo.

Delgado *et al.* (2012) en México, realizaron un estudio de nematodos fitoparásitos asociados a la rizosfera, de vid. Detectándose los géneros fitoparásitos *Helicotylenchus* sp., *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp., *Xiphinema* sp. y *Rotylenchus* sp. En cuanto a los nematodos de vida libre, identificó a los géneros micófagos *Aphelenchoides* sp. y *Aphelenchus* sp., nematodos omnívoros del género *Dorylaimus* sp., y al bacteriófago *Rhadbitis* sp.

Martínez, 1998. en Chile, realizó un estudio de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de *Vitis vinifera* L; determinándose la incidencia de los principales géneros fitoparásitos, 37,8 % para *Meloidogyne* sp., *Xiphinema americanum* con un 22,5 %, seguido por *Xiphinema index* con un 8,6 % y por último encontramos a *Trichodorus* sp., con un 1,3 %.

2.2. *Meloidogyne* spp.

Entre los nematodos fitoparásitos, el género *Meloidogyne* constituye uno de los nematodos endoparásitos sedentarios obligados de mayor importancia económica y constituyen uno de los principales factores limitantes en la producción de campos de cultivos en países tropicales y subtropicales (Vera, 2014). *Meloidogyne* spp., es un nematodo polífago, capaz de parasitar 3000 especies de plantas, entre silvestres y cultivadas. Además de ello, debido al exitoso parasitismo y alta especialización desarrollada en su hospedante, así como su permanencia en el suelo, son de difícil erradicación, constituyendo un problema de importancia global (Vera, 2014).

2.2.1. Clasificación Taxonómica

El género *Meloidogyne* se ubica en la siguiente clasificación taxonómica: (Canto-Sáenz, 2010):

Phylum Nemata

Clase Secernentea, Von Linstow 1950, Dougherty 1958.

Orden Tylenchida, Thorne 1949.

Suborden Tylenchina, Chitwood 1950.

Superfamilia Tylenchoidea, Örley 1880.

Familia Heteroderidae, Filipjev, Schuurmans, Sterkhoven 1941

Subfamilia Meloidogyninae, Skarbilovich 1959.

Género *Meloidogyne*, Göldi 1892.

2.2.2. Morfología y Anatomía

El cuerpo de un nematodo es más o menos transparente. Está cubierto por una cutícula incolora, que por lo general se caracteriza por estrías u otras marcas. La cutícula muda cuando un nematodo pasa por las distintas etapas juveniles de su desarrollo. La cutícula se produce por la hipodermis, que consiste en células vivas y se extiende en la cavidad corporal como cuatro cordones que separan cuatro bandas de músculos longitudinales. Estos músculos permiten al nematodo moverse. La cavidad del cuerpo contiene un fluido a través del cual la circulación y la respiración tienen lugar. El sistema digestivo es un tubo hueco que se extiende desde la boca a través del esófago, el intestino, el recto y el ano.

Generalmente, seis labios rodean a la boca. Los nematodos fitoparásitos tienen un estilete hueco o lanza, pero algunos tienen una sólida lanza modificada. La lanza se utiliza para perforar agujeros en las células vegetales y a través de la cual retira los nutrientes de las células (Agrios, 1996).

Los sistemas de reproducción de nematodos están bien desarrollados. Las hembras tienen uno o dos ovarios, seguido por un oviducto y útero que termina en una vulva. La estructura reproductiva masculina es similar a la de la hembra, pero hay un testículo, vesícula seminal, y termina en una abertura común con el intestino. En el macho hay también un par de espículas copulatorias sobresalientes. La reproducción de los fitonematodos es a través de huevos y puede ser sexual o partenogenética. Muchas especies carecen de ejemplares machos.

Los nematodos adultos presentan dimorfismo sexual, la longitud promedio de las hembras adultas de las especies de *Meloidogyne* fluctúa alrededor de 0,44 a 1,3 mm y el ancho promedio fluctúa entre 0,325 y 0,7 mm. Las hembras de la mayoría de las especies tienen cuerpos simétricos; es decir, hay una línea (supuesta) que va de la vulva al estilete, atravesando la mitad del cuerpo. El cuerpo de la hembra no es simétrico, es decir, el cuello no está ni cerca ni en el centro de la línea central del cuerpo, sino distintivamente a un lado, de modo que las líneas centrales del cuello y el cuerpo forman un ángulo de por lo menos 15 a más de 90 grados en algunos especímenes.

Cada hembra deposita aproximadamente entre 400 a 500 huevecillos en una sustancia gelatinosa que ella misma produce (Agrios, 1996).

2.2.3. Biología de los nematodos

Segundo estadio juvenil

Dependiendo de ciertas señales ambientales, algunos J2 puede entrar en una diapausa y permanecer en el huevo, donde pasan el invierno (Guiran y Ritter, 1979). Que al salir del cascarón del huevo son bastante móvil y capaces de desplazarse largas distancias (40-100 cm) verticalmente dentro del perfil del suelo cuando los niveles de humedad del suelo son óptimas. La movilidad permite al J2 encontrar la punta de la raíz del huésped adecuado, para penetrar en la corteza y luego pasar al sitio de alimentación preferida. La pared del cuerpo, junto con su cutícula protectora y los músculos somáticos, es controlada por el sistema nervioso, lo que permite que al nematodo responder a las señales ambientales, que permiten que se mueva a un adecuado sitio para establecer una relación de parásito en el huésped. El sistema digestivo inicia la formación de un sitio de alimentación, y los nutrientes que absorbe el nematodo de la planta se almacenan en el intestino, lo que resulta en un incremento de tamaño, y disminución de su capacidad de movimiento. La energía almacenada en el intestino es finalmente transferida al primordio genital, que se diferencia a continuación en los sistemas reproductores adultos.

Machos

Los machos alcanzan la forma globosa después de la tercera muda y se diferencia a vermiforme en la cuarta muda, en la etapa adulta; posteriormente emergen de la cutícula y entran a la fase terrestre, volviéndose móviles. Finalmente migran y van en búsqueda de una hembra para la reproducción sexual. Al igual que los J2, la pared del cuerpo y el sistema nervioso permiten al nematodo macho, responder a las señales ambientales, para moverse a través del suelo en búsqueda de la hembra. En las especies que se reproducen por amfimixia, los machos son comunes, pero en las especies partenogenéticas, los machos no son frecuentes y no son necesarios para la reproducción (Triantaphyllou, 1979). A diferencia del J2 y hembra, el macho no se alimenta, toda la energía necesaria para el desarrollo de su sistema reproductivo, lo obtiene mientras fue J2. Como consecuencia, las glándulas faríngeas masculinos son degenerados y probablemente no funcionales, mientras que el intestino sirve como un órgano de almacenamiento de las reservas de alimentos obtenidos

como J2 y suministra energía al sistema reproductivo para la producción de esperma (Taylor y Sasser, 1978).

Hembras

Las hembras son en forma de pera y sedentarias, aunque sigue siendo la región del cuello musculoso y permite al nematodo cambiar la posición de la cabeza para que pueda alimentarse de una de varias células gigantes. El aumento en el tamaño del cuerpo y el cambio en la forma, añade volumen al sistema reproductivo, que está en estrecho contacto con el intestino grueso amorfo. Si bien el sistema digestivo está especializado para el mantenimiento de las células gigantes y la retirada de los nutrientes de la planta, el intestino es menos especializado y sirve principalmente como un órgano de almacenamiento de los nutrientes (Taylor y Sasser, 1978).

La hembra produce cerca de 3000 huevos envueltos en una masa gelatinosa, completan su ciclo en menos de un mes, depende de la temperatura del suelo (Talavera, 2003).

2.2.4. Ciclo biológico del nematodo (*Meloidogyne* spp.)

El número anual de generaciones de *M. incognita* varía de acuerdo con la temperatura y humedad; bajo regiones de temperatura de 26 a 34 °C el ciclo vital puede cumplirse en cuatro o seis semanas. En este lapso el nematodo pasa por distintas etapas de desarrollo que están asociados también con su comportamiento infectivo (Cepeda, 2009 citado en Vera, 2014).

a) Etapa pre infectiva

El desarrollo del cigoto empieza pocas horas después de la oviposición, hasta que se observa el primer estadio larval o juvenil completamente desarrollado dentro del huevo con un estilete móvil y visible. En estas condiciones el juvenil puede tener cierta movilidad dentro del huevo. Dentro del mismo huevo tiene lugar la primera muda (Agrios, 2011).

b) Etapa parasítica

Aproximadamente 10 días después de la oviposición, tiene lugar la ecdisis del huevo y si las condiciones ambientales son favorables ocurre una muda que da lugar al segundo estadio larval o segundo juvenil y solo hasta entonces ocurre la ruptura del huevo, quedando el juvenil de segundo estadio libre en el suelo (Brodie, 1984 citado en Vera, 2014).

La infectividad del juvenil de segundo estadio está en función de la temperatura ambiental, aireación, humedad, densidad del suelo y la distancia entre el juvenil y la raíz. Cuando se completan la segunda y tercera mudas en las hembras juveniles de tercero y cuarto estadios respectivamente, el estilete y el bulbo medio esofágico desaparecen (Taylor y Passer, 1978). La segunda etapa larvaria infectiva, comúnmente penetra en las raíces por detrás de la punta de ellas y se abre paso a través de las células hasta que llegan a la parte trasera de la zona de crecimiento. Ahí se establece permanentemente y coloca su cabeza en pleroma (Agrios, 2011).

c) Fase adulta

Después de la cuarta muda, en ambos sexos el estilete y el bulbo medio son regenerados y en la hembra se forman el útero, la vagina y el patrón perineal que se hace visible. En los machos después de la segunda y tercera muda, el estilete no es muy visible, el bulbo medio se ha generado y solo las gónadas se han alargado, el esófago, bulbo medio, espículas y espermatozoides en los testículos de los machos, se encuentran presentes y visible al microscopio compuesto (Agrios, 2011).

2.2.5. Reproducción

El género *Meloidogyne*, puede reproducirse de la siguiente forma:

a) **Anfimixis.**- Donde el esperma de los machos fertiliza los ovocitos en las hembras y posteriormente se produce una meiosis (Chitwood y Perry, 2009).

b) **Partenogénesis meiótica facultativa.**- En ausencia de los machos, se lleva a cabo una meiosis en los ovocitos, con dos de sus núcleos, con una reducción de complemento cromosómico (el pronúcleo y el segundo cuerpo polar), posteriormente se fusionan (automixis) (Ibid).

c) **Partenogénesis mitótica obligada.**- En el que los machos no están involucrados y uno de los dos núcleos producidos durante la división mitótica inicial dentro del ovocito se deteriora y el otro se convierte en el precursor del embrión posterior (apomixis) (Ibid).

2.2.6. Síntomas

Según Talavera (2003), las plantas infectadas muestran amarillamiento y marchitamiento y reducción en la producción. Cuando la raíz está infectada produce engrosamientos o agallas que tienen distintos tamaños, varía por el número de hembra que albergan.

Los síntomas de los órganos aéreos son similares a los que producen muchas otras enfermedades de la raíz o factores del medio ambiente, los cuales disminuyen el volumen de agua disponible para la planta. Las plantas infectadas muestran un desarrollo deficiente y una menor cantidad de hojas, éstas se quedan pequeñas, de color verde pálido o amarillamiento que tienden a marchitarse cuando el clima es cálido. Las raíces infectadas se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas del nódulo de la raíz, las cuales tienen un diámetro dos o tres veces mayor al de las raíces sanas (Talavera, 2003).

Sin embargo, es frecuente que las raíces infectadas sean más pequeñas y muestren varios grados de necrosis. Con frecuencia se produce la pudrición de las raíces, particularmente a finales de la estación.

Los huevos se encuentran agrupados en masas de 100 a 1.200 individuos, protegidos por una matriz gelatinosa secretada por la hembra y dichas masas se encuentran en el suelo o en los restos de raíces del cultivo anterior, ya en el estado larval se alimentan de la raíz, causando heridas que pueden ser la vía de ingreso para patógenos. En la parte aérea de la planta el daño se manifiesta como clorosis (amarillamiento), marchitez, enanismo y reducción de rendimiento.

2.2.7. Daños

Si la planta es atacada cuando está pequeña, presenta considerable enanismo, clorosis, marchitez y pérdida de la mayoría de las raíces. El género *Meloidogyne* provoca los típicos agallamientos o nodulaciones radicales (Cepeda, 2009 citado en Vera, 2014).

Las inflorescencias y frutos no se forman o se atrofian y son de baja calidad. Las plantas afectadas a menudo sobreviven durante el transcurso de la estación de crecimiento y rara vez son destruidas prematuramente por la enfermedad. Los síntomas más característicos de la enfermedad son los que aparecen sobre los órganos subterráneos de las plantas. Las raíces infectadas se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas del nódulo de

la raíz, las cuales tiene un diámetro dos a tres veces mayor al de las raíces sanas (Medina, 2014 citado en Vera, 2014).

El rendimiento, crecimiento y vigor de las vides se correlacionaron con la densidad de población de nematodos, y tipo de suelo. Encontrándose que *Meloidogyne* spp. en alta población, en suelos de textura gruesa, presenta vides de menor vigor (Ferris y McKenry, 1975).

2.2.8. Efecto de la temperatura del suelo

La temperatura afecta la producción, reproducción, desarrollo y la supervivencia de los huevos del nematodo agallador, determinando así su localización y el grado de parasitismo sobre las plantas. Esta especie no sobrevive en suelos con temperatura menores de 10 °C y se restringe a altitudes por debajo de los 2000 msnm (Cepeda, 2009 citado en Vera, 2014).

Ferris et al. (2013), evaluó la resistencia a *Meloidogyne* spp., del portainjerto recién liberado serie UCD-GRN, sometida a temperaturas de suelo por encima de 27 °C. Este patrón cuenta con una amplia resistencia a los patotipos de *M. incognita* y *M. arenaria* virulentos al portainjerto Harmony, así como *M. incognita* raza 3 no virulento en Harmony; demostrando que los niveles de producción de masa de huevos de *M. incognita* raza 3 eran hasta un 12 % susceptible, mientras que la reproducción de los patotipos virulentos en el portainjerto UCD-GRN fue inferior al 5 %. Concluyendo que la resistencia de UCD-GRN es ligeramente sensible a temperaturas del suelo de 30 °C y por encima; sin embargo, mantiene su resistencia frente a patotipos virulentos de *M. arenaria* a altas temperaturas.

2.2.9. Humedad y textura del suelo

La dinámica poblacional de estos patógenos depende del agua del suelo (Freckman et al., 1987), y la fluctuación de la humedad del suelo, debida a la lluvia o al agua de riego, es uno de los principales factores que influyen en el aumento de las poblaciones de nematodos. Por el contrario, cuando el suelo está seco, puede disminuir el número del nematodo anillado (*Criconemoides xenoplax*), del nematodo daga (*Xiphinema americanum*) y de los nematodos formadores de quistes y de los que provocan nódulos radiculares (National Academy of Sciences, 1986). La escasa aireación en el suelo reduce la supervivencia y la densidad poblacional de los nematodos. Este es el caso típico de los suelos que presentan alta humedad (Cepeda, 2009 citado en Vera, 2014).

2.2.10. *Meloidogyne* spp. en vid

Anwar et al. (2000), evaluó la resistencia de los portainjertos Freedom y Harmony, frente a las poblaciones de *Meloidogyne incognita* y *M. arenaria*; encontrándose que Freedom es más susceptible a *M. arenaria*; mientras Harmony presentó menor infestación y además reaccionó con mayor actividad radicular. Concluyendo que la población de *M. arenaria* es altamente virulenta, mientras que *M. incognita* es moderadamente virulenta.

Anwar y McKenry (2002); estudio la resistencia y respuesta de los patrones RS-9 y Teleki 5C, frente a *M. arenaria*; demostrándose que a 35 días después de la inoculación, sólo el 5 % y el 25 % del inóculo inicial, alcanzaron el estado adulto en raíces de RS-9 y Teleki 5C, respectivamente, en comparación con el 32 % en las raíces de Cabernet (planta susceptible).

La reducción de población en cultivos perennes leñosas, gracias a la respuesta de hipersensibilidad o necrosis cortical que restringe la capacidad de los J2 para llegar a los haces vasculares, restringe el acceso a los sitios de alimentación, que lleva a la muerte de los juveniles.

Cousins y Walker (2002), evaluaron la resistencia genética de seis patrones, durante seis semanas frente a *Meloidogyne incognita* raza 3, encontrándose que Harmony y Freedom presentaron mayor nivel de resistencia; mientras que los portainjertos Dogridge, Ramsey, y 1613C presentaron niveles intermedios de resistencia, y por ultimo 161-49C, fue el portainjerto que presentó menos resistencia.

Vera, 2014. Realizó el primer reporte de *M. arenaria*, en Lima, Perú; *M. arenaria* también ha sido reportada en vid en Cuba (Rodríguez, 2011), donde se encontró en mayor proporción que *M. incognita* y *M. javanica*. En el mismo trabajo no se pudo determinar, por características del patrón perineal, la especie de algunas poblaciones presentes en el cultivo y se menciona que se realizarán pruebas moleculares posteriores. En Grecia se indicó a *M. arenaria* como una especie prevalente junto con *M. javanica* en vid (Karanastasi, 2008 citado en Vera, 2014), también se ha reportado *M. arenaria* en vid en Chile (Magunacelaya y Dagnino, 1999 citado en Vera, 2014) y más recientemente la especie *M. ethiopica*, la cual indican es la más importante no sólo por estar mayormente presente en el cultivo sino por su mayor agresividad y difícil control (Carneiro et al., 2004; 2007; Aballay et al., 2009; 2013; Vilches, 2010 citado en Vera, 2014).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en dos fases, campo y laboratorio. La fase de campo se realizó en cuatro, de seis departamentos distribuidos en dos zonas del Perú, Norte (Piura, Lambayeque, La Libertad, y Ancash), y Sur (Ica y Arequipa); los cuales se detallan en la figura N°1.

La identificación de los géneros de nematodos fitopatógenos, se realizó en el Laboratorio Agrícola Biaster, ubicado en el departamento de Ica.



Figura N°1. Mapa del Perú indicando las seis zonas de muestreo.

3.2. Recolección de muestras de suelo y raíces

Para la colección de las muestras de suelo y/o raíces, se procedió a recoger las muestras, conformado por 16 submuestras, para cada muestra; para coleccionar cada muestra se usó el método sistemático al azar en forma de zig – zag, esto permite detectar variaciones espaciales en la comunidad vegetal. En cada punto se realizó una calicata a una profundidad de 15 a 30 cm en forma de V. Se recolectó un aproximado de 100 cc de suelo en cada punto. Las muestras se colocaron en bolsas de polietileno previamente etiquetadas.

Las submuestras de suelo y/o raíces se depositaron en bolsas nuevas, previamente rotuladas, para luego ser mezclado. Se cogió de ésta una muestra compuesta de 1000 gramos de suelo y 10 gramos de raíces, y se identificaron para ser llevado al laboratorio Biaster en Ica. El muestreo se realizó durante la época de envero a postcosecha.

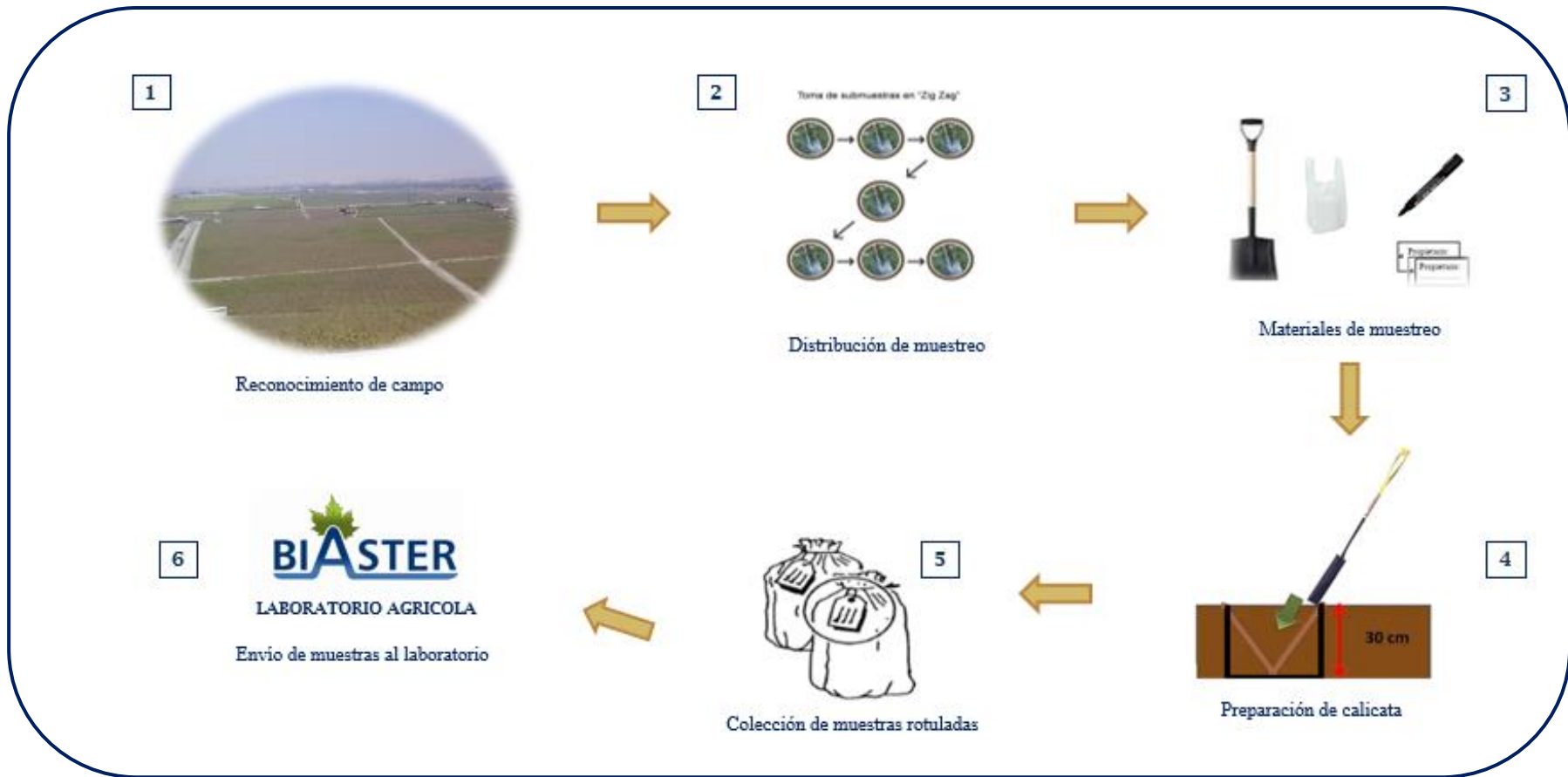


Figura N°2. Recolección de muestras de suelo y raíces.

3.3. Extracción de individuos de suelo, método de centrifugación (Jenkins, 1964)

Según la técnica descrita por Jenkins (1964) se comenzó con la homogenización de la muestra de suelo utilizado, luego de separar 100 cm³, el cual se mezcló con 1 litro de agua, hasta conseguir fragmentar los terrones y liberar a los nematodos. Seguidamente se vertió la mezcla a través de tres tamices. Primero por el tamiz de 80 Mesh (177 micras), seguido del tamiz de 100 Mesh (149 micras) y la suspensión se vertió a un balde para volver a tamizar con la ayuda de una piseta en un tamiz más fino de 635 Mesh (20 micras). Se tomó 50 ml en un tubo de ensayo con capacidad de 100 ml, y se añadió una cucharada de caolin y se colocó a los tubos de centrifugación, a centrifugarse por cuatro a cinco minutos a una velocidad de 1,750 rpm.

Después del centrifugado se eliminó el sobrenadante del tubo falcon. Luego se añadió la solución de sacarosa (500 gramos de azúcar disuelta en 1 litro de agua) en cada tubo de centrifugación para volver a centrifugar a 1,750 rpm por uno a dos minutos. Retiramos los tubos de la centrifugadora y se filtraron a través de un tamiz de 500 Mesh, individualmente, y se retiró la solución de sacarosa lavando con abundante agua, finalmente la solución filtrada se llevó a un vaso de precipitación, cada muestra de manera individual (30 a 80 ml) para su lectura al microscopio. Fig. 3

3.4. Identificación de nematodos fitopatógenos

Las observaciones, e identificación de géneros fitopatógenos, se realizaron en el laboratorio Biaster. Además se utilizaron claves taxonómicas especializadas:

- Tylenchida parasites of plants and insects 2nd edition M.R. Siddiqi.
- Chave para identificação de gêneros de fitonematoides assinalados no Brasil – L.C.C.B. Ferraz (2012).
- Clave de identificación de nematodos fitopatógenos. UNALM - Perú. Dr. Manuel Canto Saenz.



Figura N°3. Extracción de individuos de suelo, método de centrifugación (Jenkins, 1964)

3.5. Incidencia, abundancia y selección de índices de biodiversidad.

Para el análisis de los datos, se determinó la incidencia de cada uno de los géneros fitopatógenos en cada una de los departamentos estudiados mediante la fórmula Ogawa (1986):

$$\text{Incidencia (I)} = (\text{N}^{\text{a}} \text{ de muestras infestadas} / \text{total de muestras}) * 100$$

Por otro lado se seleccionaron los índices más apropiados para nuestros propósitos, es decir, aquellos que cumplen con los requisitos de ser cuantificables, comparables y representativos. En consecuencia, sólo se tomaron en cuenta los índices que se adecuan al análisis de diversidad.

3.5.1. Cálculo de la diversidad relativa de los géneros

Para la obtención de este índice de diversidad de géneros se precisa conocer tanto el número de especies de un género (n_i) como el número total de especies dentro de la parcela (N). Para obtener el número total de especies (N) se realizó la sumatoria de todas las especies de los géneros pertenecientes a cada departamento. A través de la siguiente fórmula se conoció la diversidad de los géneros dentro de cada departamento, con esta fórmula se calculó la diversidad de todos los géneros con sus valores correspondientes.

$$\text{Índice de diversidad: } \text{divR} = (n_i/N) * 100$$

Donde:

divR = Diversidad relativa de los géneros

n_i = Número de especies de un género

N = Sumatoria de todos los géneros de las muestras

La diversidad de los géneros expresa la relación porcentual entre el número de especies de un determinado género y el número de todas las especies de la muestra.

3.5.2. Índice de dominancia de Simpson

Para determinar el índice de dominancia se utilizó el índice de (Simpson), basándose en el principio de riqueza y abundancia contempla la siguiente fórmula para la obtención de dominancia:

$$\Lambda = \sum p_i^2$$

Donde:

Λ = dominancia

P_i = es la proporción del número de individuos de la especie i con respecto a N

Obteniendo p_i de la división del número de individuos de una especie con la sumatoria del número total de individuos de todas las especies.

En principio se obtiene el grado de dominancia que representa cada una de las especies dentro de cada bloque y en segundo lugar se obtiene el grado de dominancia de las especies para el total del área.

3.5.3. Índice de diversidad de especies Shannon Winer

Para estimar en principio el índice de diversidad de especies se empleó la fórmula de Shannon winer descrita a continuación:

$$H = - \sum p_i * \ln (p_i)$$

Donde:

H = Diversidad de especies

P_i = es la proporción del número de individuos de la especie i con respecto a N

$\ln (p_i)$ = logaritmo natural de p_i .

3.6. Reproducción de *Meloidogyne* sp, en plantas indicadoras.

Las muestras de suelo, luego de la extracción de individuos de suelo, el suelo restante se llevó al invernadero y colocadas en macetas con plantines de tomate Var. Rio grande para permitir la reproducción de los mismos y formación de estadios hembras y masa de huevos. Siendo los estadios hembras los que se emplearan para el desarrollo de las metodologías de montaje e identificación morfológica.

3.7. Extracción y montaje de hembras de *Meloidogyne* spp.

Las raíces fueron lavadas cuidadosamente sumergiéndolas en un recipiente conteniendo agua, evitando el desprendimiento de las masas de huevos.

Con la ayuda de un microscopio estereoscópico y agujas de disección se abrió el tejido con nódulos tratando de no dañar las hembras maduras, las cuales fueron transferidas a ácido láctico al 45 %, donde permanecerán por al menos 24 horas.

Se extrajeron 10 hembras maduras con sus respectivas masas de huevos y se realizaron montajes de sus patrones perineales, los cuales fueron observados al microscopio óptico con 4X a 40X aumentos.

Para la realización de los montajes del patrón perineal (Figura 4); con la ayuda del microscopio estereoscópico, se ubicó el diseño perineal en la hembra madura y se procedió a cortarlo en forma rectangular. Los cortes perineales fueron colocados en un portaobjeto conteniendo una pequeña gota de glicerina; orientando la vulva del diseño hacia la parte superior del portaobjeto, así como la parte interior de la cubierta del cuerpo hacia abajo. Se colocó un cubreobjeto y se selló con esmalte de uñas, colocando las etiquetas con su código respectivo.

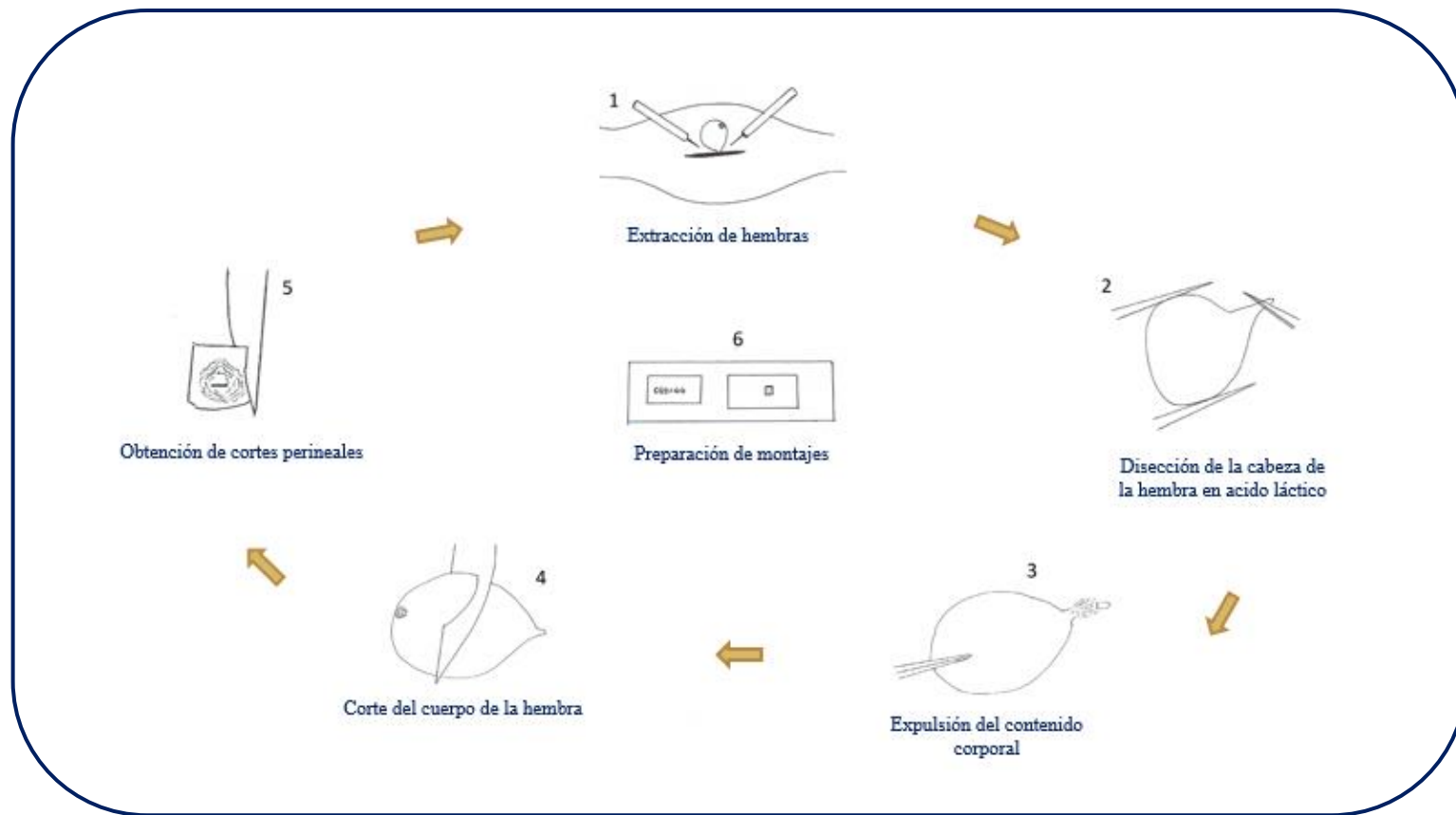


Fig. 4: Extracción y montaje de hembras de *Meloidogyne* spp.

3.8. Identificación morfológica de poblaciones de *Meloidogyne* spp.

Las características usadas para la identificación de especies de *Meloidogyne* spp. se basó principalmente en la morfología del patrón perineal de las hembras. La interpretación de estas observaciones se realizó según las características e ilustraciones descritas por varios autores (Eisenback et al, 1983; Taylor y Sasser, 1983; Eisenback, 1985; Hunt y Handoo, 2009).

3.9. Caracterización isoenzimática para identificar especies de *Meloidogyne* spp.

Se extrajo 40 hembras adultas de coloración blanca lechosa de las raíces de Vid, con ayuda de una aguja de punta fina, un microscopio y un estereoscopio. Las masas de huevos se almacenaron en microtubos (ependorf) con contenido de solución salina al 0.1 %.

Las hembras adultas de *Meloidogyne* spp. fueron colocadas en un tubo capilar y se mantuvieron bajo hielo en una solución de 2-3 uL del tampón de extracción (solución de sacarosa). Después de extraer las hembras, se preparó el gel de poliacrilamida al 7 % (11 x 18 cm, 1 mm de espesor).

Luego las hembras fueron maceradas individualmente con ayuda de una jeringa, y llevadas al papel filtro cualitativo (3 mm Whatman); se depositó una gota de azul de bromofenol (0,01 %) en la primera, media y última muestra del respectivo gel. Posteriormente el gel se colocó en una cuba a una fuente de 80 voltios. (Carneiro y Almeida, 2001).

Después de la migración de 5 cm del azul de bromofenol en el gel (2 horas), la potencia se apagó y el gel, fue sometido a la enzima esterasa, utilizando una solución de 50 ml de tampón fosfato (50 mg de Fast Blue RR sal y 1,5 ml de α - naftil acetato 1 %).

El material fue incubado por 20 a 30 minutos a una temperatura de 37 °C, hasta que las bandas esterásticas (oscuro) aparezcan sobre fondo claro. Luego los geles se transfirieron a una solución de ácido acético al 10 % y una solución de alcohol metílico al 40 % durante 30 minutos. Posterior a la fijación, los geles se colocaron entre dos hojas de papel de celofán y se secaron a temperatura ambiente.

Para la identificación de fenotipos se desarrolló el cálculo de la movilidad relativa (Rm) de cada banda polimórfica de la primera banda de *M. javanica*. Los fenotipos enzimáticos

fueron identificados por una letra y un número que corresponderá, en orden. Para iniciar el nombre específico del cultivo junto con el número de bandas (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985). Los fenotipos que se mostraron fueron expresados en porcentajes.

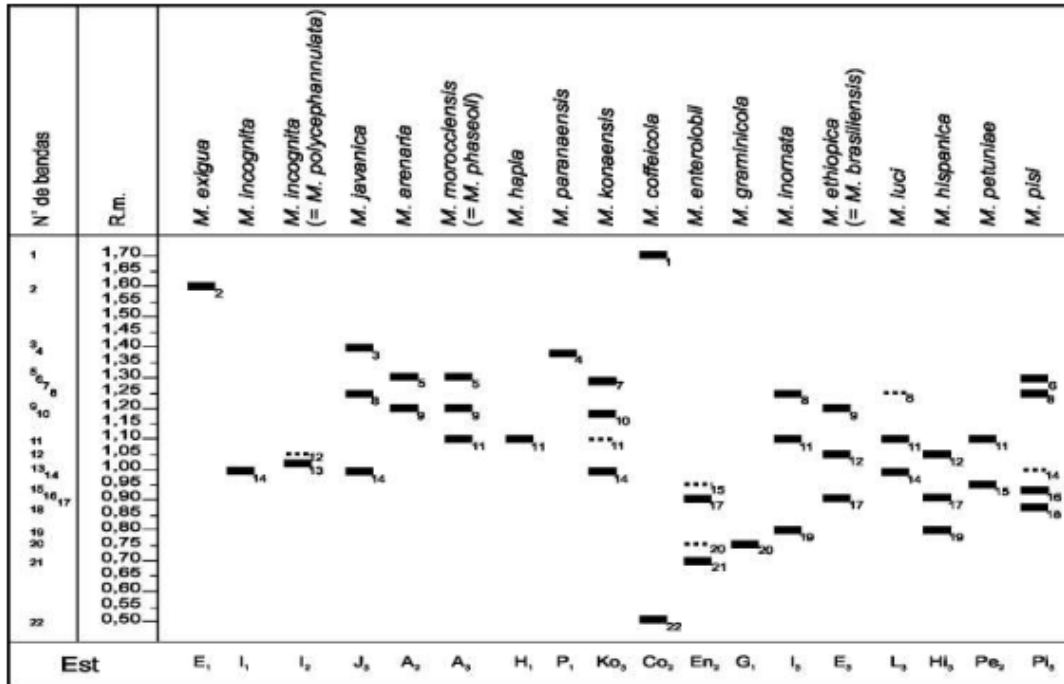


Fig. 5: Caracterización fenotípica para identificar especies de *Meloidogyne* spp.

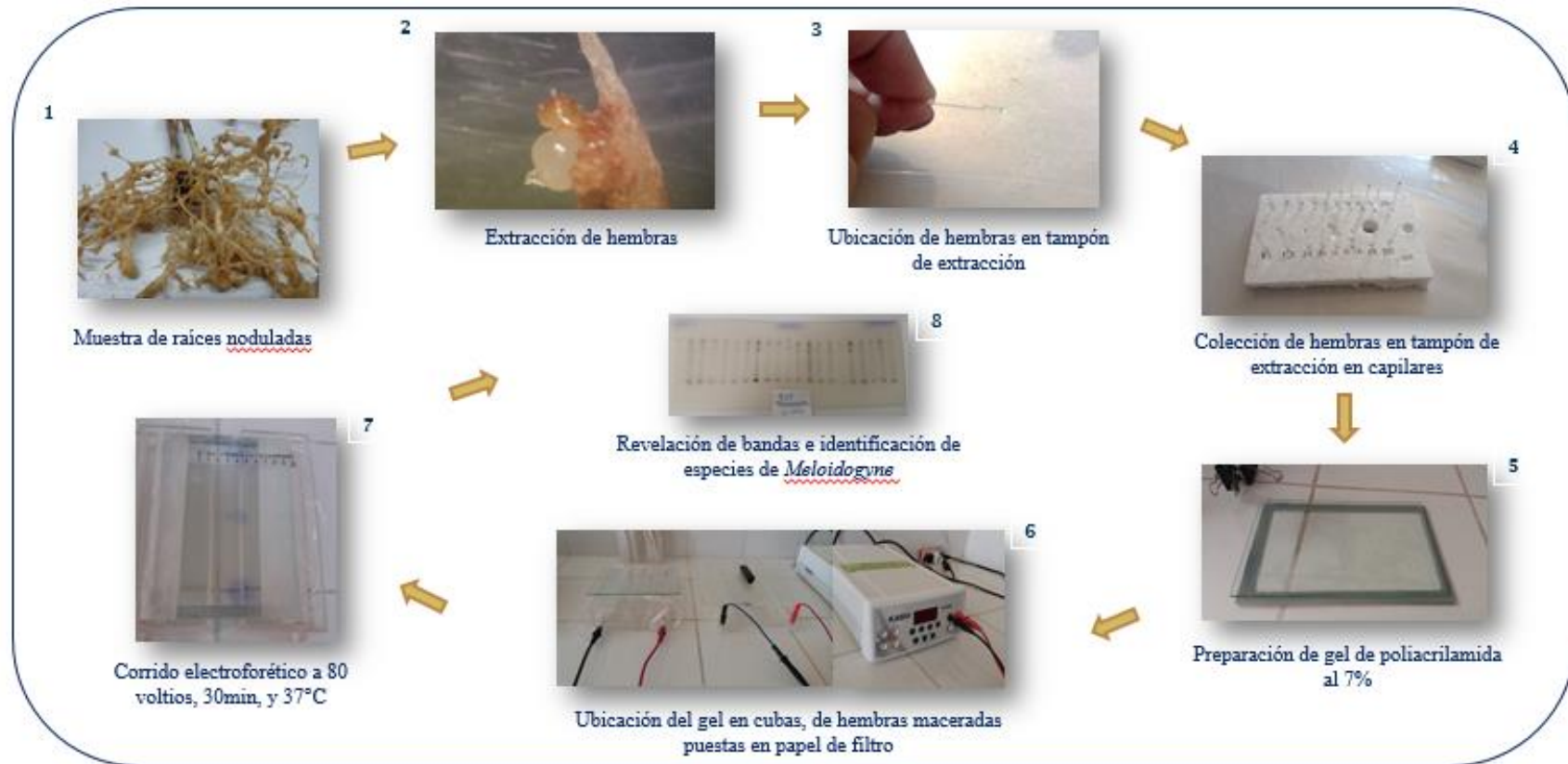


Figura 6. Técnica de electroforesis para la identificación de especies de *Meloidogyne*.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Ubicación de las unidades de muestreo de suelo y raíces

Durante la primera fase desarrollo de la presente investigación se logró evaluar seis departamentos (Ica, Ancash, Lambayeque, La Libertad, Piura y Arequipa) y se identificó diferentes géneros fitopatógenos en cada una de las zonas, bajo diferentes condiciones agroecológicas como porta-injertos (Cuadro N.1, Fig. 7), tipos de suelo (suelo de valle franco arenoso o franco arcilloso y suelo de desierto arenoso); cultivo anterior (cultivos tradicionales en Ica: papa y algodón, bosque seco en el norte, cultivos de exportación: paprika y esparrago, en diferentes zonas del Perú), etapa fenológica y estación del año. (Cuadro N.2),

Cuadro N. 1. Proporción de variedades y patrones presentes en las muestras evaluadas

DEPARTAMENTOS	VARIETADES (%)																	PATRONES (%)							
	RG	FL	SUP	CR	THO	SG	ES	SR	JS	SJ	IFG	CC	SC	MAG	QUE	TIM	IT	MGT	FRE	HR	PO	SC	FO4	DR	VLV
ICA - VALLE	7.8	22.9	5.4	51.2		3.0	2.4			2.4			2.4	0.6	1.2	0.6		3.0	4.2	16.9	50.6	25.3			
ICA - VILLACURY	40.4	7.1	5.1	33.3		3.0	1.0	1.0	2.0	1.0	1.0	3.0	2.0						10.1			86.9			3.0
PIURA	45.7		15.2	39.1															13.0	84.8		2.2			
ANCASH	67.4		30.4														2.2	50.0	19.6	26.1	4.3				
AREQUIPA	66.7	16.7			16.7													33.3	33.3	33.3					
TRUJILLO	100.0																						100		
LAMBAYEQUE	73		27																	27		33		40	

Leyenda:

VARIETADES	RG	Red Globe	SJ	Sweet Jubile	PATRONES	MGT	101-14 MGT
	FL	Flame	IFG	IFG		FRE	Freedom
	SUP	Superior	CC	Cotton Candy		HR	Harmony
	CR	Crimson	SC	Sweet Celebrate		PO	Poulsen
	THO	Thompson	MAG	Magenta		SC	Salt Creek
	SG	Sweet Globe	QUE	Quebranta		FO4	FO4
	ES	Early Sweet	TIM	Timco		DR	Dog Ridge
	SR		IT	Italia		VLV	VLV
	JS	Jack salute					

Figura 7. Porcentaje de Variedades y patrones presentes en las muestras evaluadas por departamento

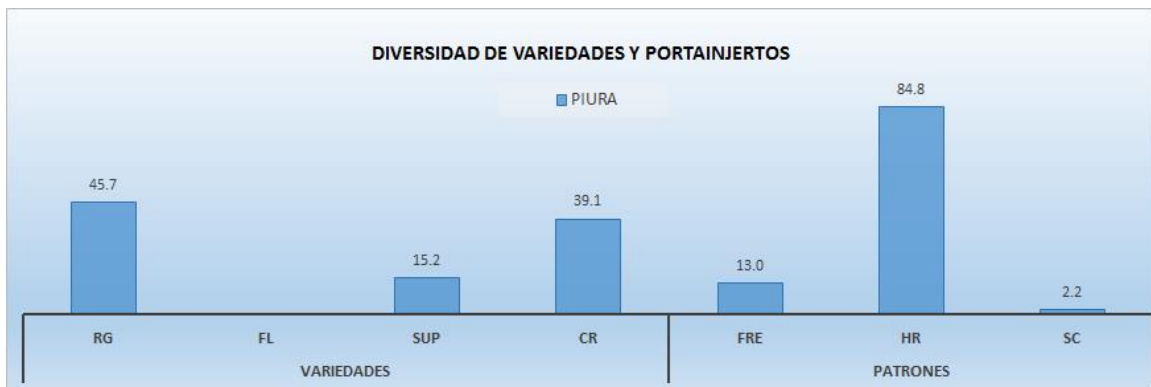
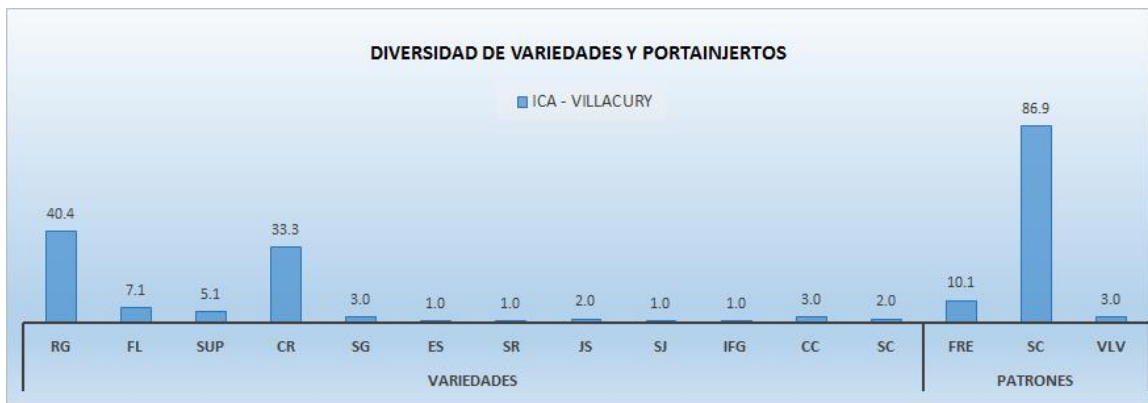
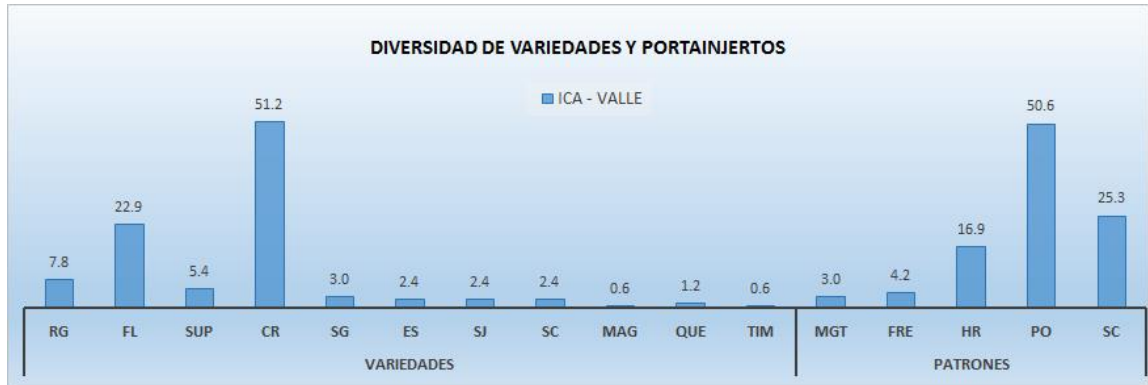
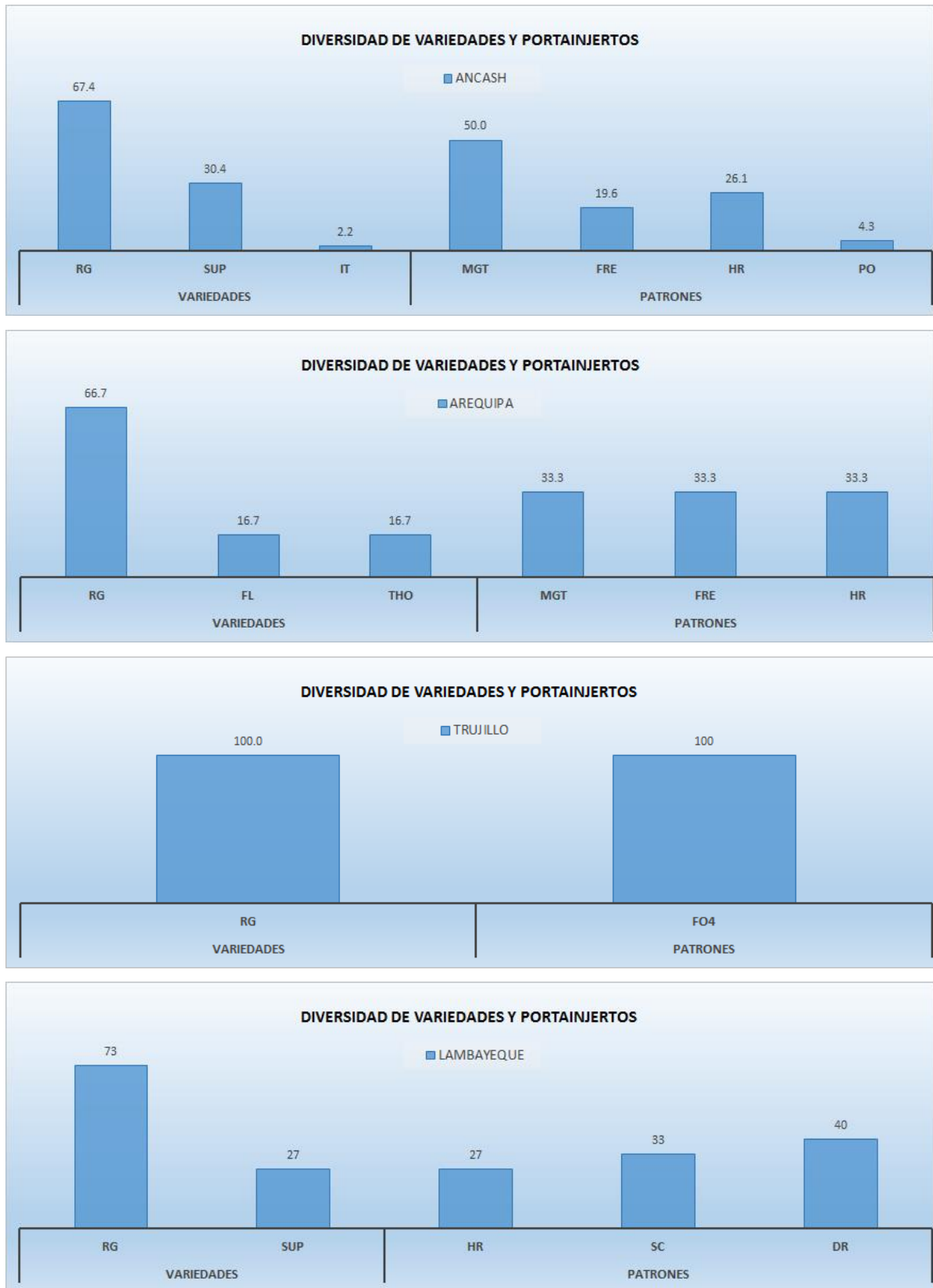


Figura 7. Porcentaje de Variedades y patrones presentes en las muestras evaluadas por departamento



Cuadro N. 2. Localización de muestras analizadas y cultivo anterior

Departamento	Fase de desarrollo y muestreo	Época de colección 2016 – 2017. Vid	Procedencia		N° de muestras	N° de muestras	Cultivo anterior
			Fundo	Localidad			
Ica - Valle	Post-cosecha, brotación, llenado de bayas	Verano, otoño, Invierno y primavera	Yancay	Los Molinos	21	166	Papa
			Santa Rosa	Santa Rosa	5		Papa
			Carrizales	Los Aquijes	2		-
			Misterio	Tinguiña	12		Papa
			Don Carlos	Tinguiña	42		Papa
			Cuesta Vieja	San Juan	1		-
			Manuelita	Bautista	15		-
			Beta	Los Aquijes	2		Algodón
			Guayabo	La Venta	2		Algodón
			Tacaraca	La Venta	20		Algodón
			La portada	Pueblo Nuevo	10		-
			San Fernando	Yauca	6		Algodón
			IQF	La Venta	16		Algodón
			La Venta	Pueblo Nuevo	2		-
			Cayetano	Ocucaje	2		Algodón
			Ica Fruta	Santiago	2		Papa
			Carmen Luisa	Tinguiña	2		Algodón
	La venta	6	-				
Ica - Villacury	Post-cosecha, brotación, llenado de bayas	Verano, otoño, Invierno y primavera	California		19	99	Paprika
			Natalia		15		-
			RVR		14		-
			AIB		2		-
			Huarmey		8		-
			Miranda	Villacury	6		-
			Sacramento	Pisco	13		-
			Greenvik		4		-
			San isidro		6		-
			Gonzalo		6		-
Hacienda del sur		2	-				
San pedro		4	Esparrago				
			-				
Piura	Formación y brotación	Verano e Invierno	Fruit change		37	46	Bosque seco
			Piura grace	Sullana	1		
			Tungasuca	Medio Piura	2		
			Agrimuto		4		
			Agrograce		2		
Ancash	Formación y brotación	Verano e Invierno	Sang Barrent	Nepeña	46	46	-
Arequipa	Post-cosecha y brotación	Verano e Invierno	La joya	La joya	3	6	-
			Agro MKC	La joya	2		
			El pedregal	El pedregal	1		
Trujillo	Brotación	Invierno	Chao	Chao	6	12	-
			Cascas	Cascas	6		
Lambayeque	Formación y brotación	Verano e Invierno	A.Olmos	Olmos	3	15	-
			Chongollape	Chongollape	7		
			Pacanguilla	Pacanguilla	3		
			Delicia del poma		2		
TOTAL						391	

4.2. Evaluación de las poblaciones de nematodos fitoparásitos

Géneros identificados

Considerando la totalidad de 391 muestras analizadas, en las prospecciones realizadas se identificaron 13 géneros de nematodos fitoparásitos.

En el Cuadro N. 3, se exponen la relación de géneros de nematodos fitoparásitos identificadas en diferentes zonas productoras de vid, agrupadas según los grupos tróficos a que pertenecen.

El grupo de los nematodos ectoparásitos, con nueve géneros (35 %), domina ampliamente el conjunto de géneros diagnosticadas, seguido por los endoparásitos sedentarios con tres géneros (63 %), y los endoparásitos migratorios con un género (2 %). Fig. 8 a

La mayoría de los géneros pertenecen al Orden Tylenchida, y dentro del mismo predominan los representantes de la superfamilia Tylenchoidea, la que presenta géneros dentro de dos grupos tróficos mencionados. Fig. 8 b

Solo dos de los géneros identificadas se clasifican dentro del orden Dorylaimida. En total están representadas once subfamilias en la lista de géneros. Fig. 8 b

Cuadro 3. Nematodos **ectoparásitos** y **endoparásitos** identificados en la prospección de diferentes zonas productoras de Vid.

PARASITISMO	Phylum	Clase	Subclase	Superorden	Orden	Suborden	Superfamilia	Familia	Subfamilia	Género	Especie
ECTOPARÁSITOS	Nemata	Adenophorea	Enoplia	Terrenoplica	Dorylaimida	Dorylaimina	Dorylaimoidea	Longidoridae	Xiphinematinae	<i>Xiphinema</i>	
						Diphterophodrina	Belondiroidea	Trichodoridae	Trichodorinae	<i>Trichodorus</i>	
		Secementea	Diplogasteria	Tylenchida	Tylenchina	Tylenchoidea	Belonolaimidae	Telotylenchinae	<i>Tylenchorhynchus</i>		
							Hoplolaimidae	Hoplolaiminae	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Hoplolaimus</i>	
						Criconematoidea	Criconematidae	Criconematinae	<i>Criconemella</i>	<i>Criconema</i>	
							Hemicyclophoridae	Hemicyclophorinae	<i>Hemicyclophora</i>		
							Tylenchulidae	Paratylenchinae	<i>Paratylenchus</i>		
ENDOPARÁSITO MIGRATORIO	Nemata	Secementea	Diplogasteria		Tylenchida	Tylenchina	Tylenchoidea	Pratylenchidae	Pratylenchinae	<i>Pratylenchus</i>	
ENDOPARÁSITOS SEDENTARIO	Nemata	Secementea	Diplogasteria	Tylenchida	Tylenchina	Tylenchoidea	Tylenchidae	Tylenchinae	<i>Tylenchulus</i>		
							Rotylenchulidae	Rotylenchulinae	<i>Rotylenchulus</i>		
							Meloidogynidae	Meloidogyninae	<i>Meloidogyne</i>	<i>Meloidogyne arenaria</i> (Neal) Chitwood	
									<i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid y White) Chitwood		
									<i>Meloidogyne javanica</i> (Treub) Chitwood		
			<i>Meloidogyne moroniensis</i>								

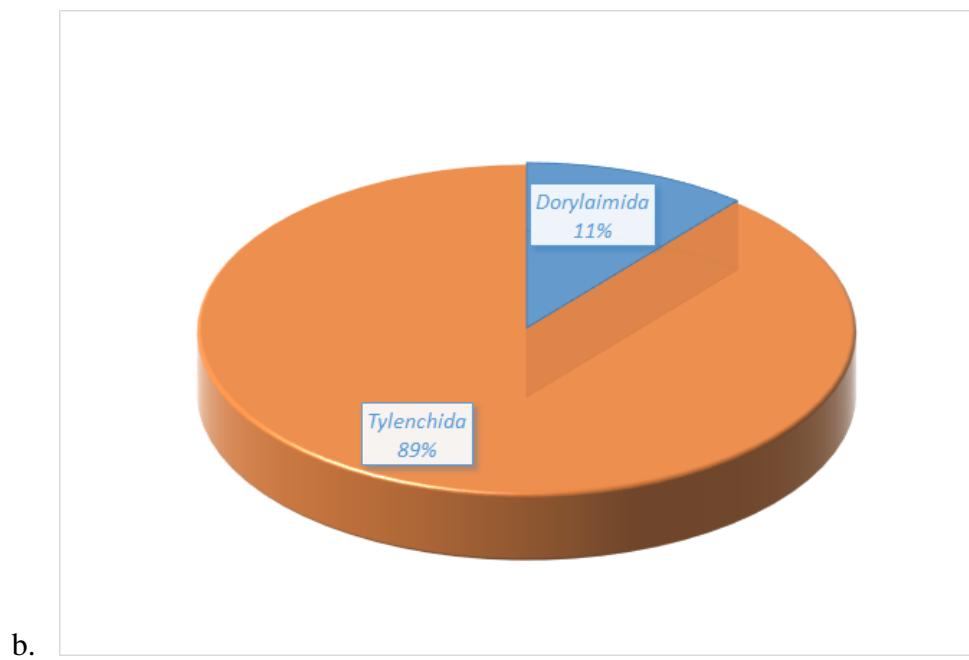
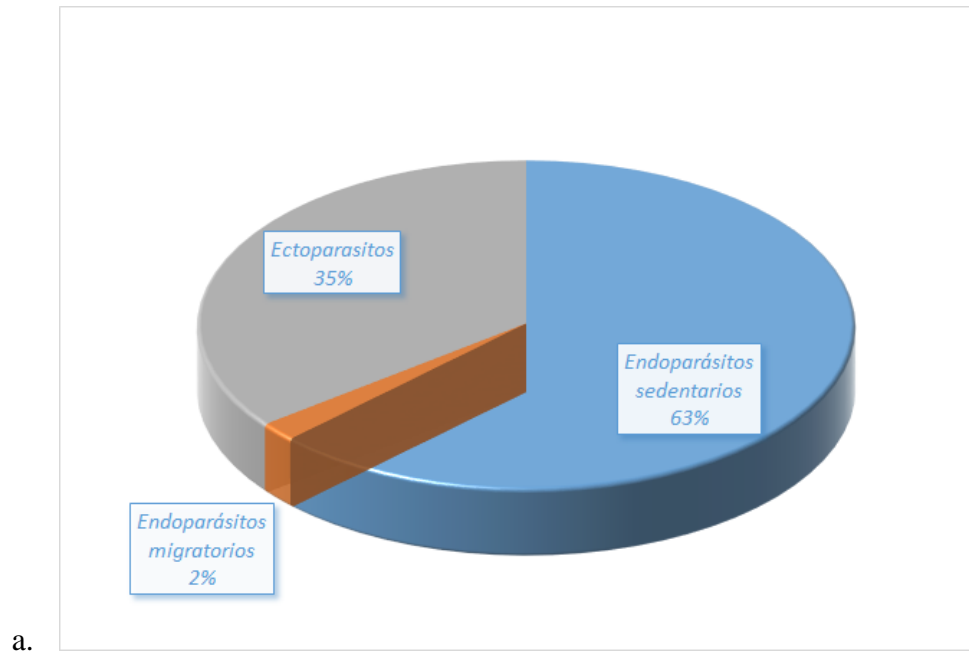


Fig. 8. Proporción de nematodos fitoparásitos encontrados en las principales zonas productoras de vid, en Perú, pertenientes a los grupos tróficos (a) y orden detectados (b).

4.3. Incidencia y abundancia de los diferentes géneros en la muestra total

Con frecuencia variable, los 13 géneros identificados estuvieron presentes en el suelo de muestreo, distribuidos en cada zona de estudio, los géneros con mayor incidencia en orden de mayor a menor fueron: *Meloidogyne* sp, fue el género presente con mayor frecuencia; seguido de *Rotylenchulus* sp, *Helicotylenchus* sp y *Xiphinema* sp. Los mismos que muestran también los rangos más altos de población en 100 cm³ de suelo.

Los géneros con menor incidencia en la prospección fueron *Criconema* sp, *Hemicycliophora* sp, *Tylenchulus* sp, *Pratylenchus* sp, *Paratylenchus* sp, *Tylenchorhynchus* sp, *Hoplolaimus* sp, *Criconemella* sp, *Trichodorus* sp.

Cuadro 4. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de las principales zonas productoras de vid.

Géneros	Incidencia %	N° de ind/100cc de suelo	
		Mediana	Rango
<i>Meloidogyne</i>	76.5	175	1-10065
<i>Rotylenchulus</i>	56.8	236	1-6519
<i>Helicotylenchus</i>	35.0	27	1-1786
<i>Xiphinema</i>	23.3	7	1-465
<i>Criconema</i>	8.7	3	1-786
<i>Criconemella</i>	0.3	791	3-1579
<i>Tylenchulus</i>	1.5	205.5	1-760
<i>Pratylenchus</i>	2.3	4	1-62
<i>Hemicycliophora</i>	5.6	2	1-9
<i>Paratylenchus</i>	1.3	336	25-455
<i>Trichodorus</i>	0.3	11	11
<i>Tylenchorhynchus</i>	1.3	6	1-84
<i>Hoplolaimus</i>	0.5	81	21-141

4.4. Análisis discriminado por departamento

4.4.1. Ica

Ica es una de la más grande y principal zona productora de Vid, con dos zonas marcadamente diferentes en topografía, condiciones ambientales, y antecedentes, identificadas como Ica-valle e Ica-Villacury, separadas para nuestro estudio.

A. Ica - Villacury

Se analizaron noventa y nueve muestras de suelo, identificándose tres géneros de nematodos fitoparásitos, los datos obtenidos muestran a *Meloidogyne* sp, con una incidencia del 66.7 %, y fue el género presente en mayor número, seguido de *Rotylenchulus* sp, con 38.4 % de incidencia y *Helicotylenchus* sp, con 4 % de incidencia.

Cuadro 5. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Ica - Villacury.

Géneros	Incidencia %	N° de ind/100cc de suelo	
		Mediana	Rango
<i>Meloidogyne</i>	66.7	95	1-3233
<i>Rotylenchulus</i>	38.4	406	1-2783
<i>Helicotylenchus</i>	4	27	1-108

B. Ica - Valle

Se analizaron 166 muestras de suelo, identificándose 8 géneros de nematodos fitoparásitos, los datos obtenidos muestran a *Rotylenchulus* sp, con una incidencia del 77.1 %, y fue el género presente en mayor número, seguido de *Meloidogyne* sp, con 70.5 % de incidencia, *Helicotylenchus* sp, con 36.7 % de incidencia, *Xiphinema* sp, con 25.9 %, *Criconema* sp, con 12.7 % de incidencia, *Criconemella* sp, con 0.6 %, *Tylenchulus* sp, con 3 %, y *Pratylenchus* sp, con 0.6 % de incidencia.

Cuadro 6. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Ica - Valle.

Géneros	Incidencia %	N° de ind/100cc de suelo	
		Mediana	Rango
<i>Meloidogyne</i>	70.5	95	1-10065
<i>Rotylenchulus</i>	77.1	406	1-6519
<i>Helicotylenchus</i>	36.7	27	1-1556
<i>Xiphinema</i>	25.9	7	1-103
<i>Criconema</i>	12.7	3	1-786
<i>Criconemella</i>	0.6	1579	1-1579
<i>Tylenchulus</i>	3.0	79	1-760
<i>Pratylenchus</i>	0.6	62	1-62

4.4.2. Piura

Se analizaron 46 muestras de suelo, identificándose 10 géneros de nematodos fitoparásitos, los datos obtenidos muestran a *Meloidogyne* sp, con una incidencia del 89.1 %, y fue el género presente en mayor número, seguido de *Rotylenchulus* sp, con 63 % de incidencia, *Helicotylenchus* sp, con 60.9 %, *Xiphinema* sp, con 76.1 % de incidencia, *Criconema* sp, con 6.5 %, *Tylenchulus* sp, con 2.2 % de incidencia, *Pratylenchus* sp, con 2.2 %, *Hemicycliophora* sp, con 26.1 %, y *Paratylenchus* sp, con 10.9 % de incidencia, y *Trichodorus* sp, con 2.2 % de incidencia.

Cuadro 7. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Piura.

Géneros	Incidencia %	N° de ind/100cc de suelo	
		Mediana	Rango
<i>Meloidogyne</i>	89.1	109	1-1858
<i>Rotylenchulus</i>	63.0	18	1-2770
<i>Helicotylenchus</i>	60.9	209.5	1-1786
<i>Xiphinema</i>	76.1	16	1-465
<i>Criconema</i>	6.5	1	1-9
<i>Tylenchulus</i>	2.2	816	1-816
<i>Pratylenchus</i>	2.2	1	1
<i>Hemicycliophora</i>	26.1	1.5	1-7
<i>Paratylenchus</i>	10.9	336	25-455
<i>Trichodorus</i>	2.2	11	11

4.4.3. Ancash

Se analizaron 46 muestras de suelo, identificándose 7 géneros de nematodos fitoparásitos, los datos obtenidos muestran a *Meloidogyne* sp, con una incidencia del 97.8 %, y fue el género presente en mayor número, seguido de *Rotylenchulus* sp, con 30.4 % de incidencia, *Helicotylenchus* sp, con 63 %, *Criconema* sp, con 21.7 %, *Pratylenchus* sp, con 15.2 % de incidencia, *Hemicycliophora* sp, con 21.7 %, y *Tylenchorhynchus* sp, con 10.9 % de incidencia.

Cuadro 8. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Ancash.

Géneros	Incidencia %	N° de ind/100cc de suelo	
		Mediana	Rango
<i>Meloidogyne</i>	97.8	297	2-1858
<i>Rotylenchulus</i>	30.4	26	1-460
<i>Helicotylenchus</i>	63.0	14	1-1117
<i>Criconema</i>	21.7	2.5	1-145
<i>Pratylenchus</i>	15.2	4	1-225
<i>Hemicycliophora</i>	21.7	2.5	1-9
<i>Tylenchorhynchus</i>	10.9	1	1-84

4.4.4. Arequipa

Se analizaron 06 muestras de suelo, identificándose 5 géneros de nematodos fitoparásitos, los datos obtenidos muestran a *Meloidogyne* sp, con una incidencia del 83.3 %, y fue el género presente en mayor número, seguido de *Rotylenchulus* sp, con 33.3 % de incidencia, *Helicotylenchus* sp, con 33.3 %, *Xiphinema* sp, con 33.3 %, y *Hoplolaimus* sp, con 33.3 %.

Cuadro 9. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Arequipa.

Géneros	Incidencia %	N° de ind/100cc de suelo	
		Mediana	Rango
<i>Meloidogyne</i>	83.3	302	133-490
<i>Rotylenchulus</i>	33.3	3	1-5
<i>Helicotylenchus</i>	33.3	25.5	2-49
<i>Xiphinema</i>	33.3	137.5	21-141
<i>Hoplolaimus</i>	33.3	81	0

4.4.5. Trujillo

Se analizaron 12 muestras de suelo, identificándose 3 géneros de nematodos fitoparásitos, los datos obtenidos muestran a *Meloidogyne* sp, con una incidencia del 100 %, y fue el género presente en mayor número, seguido de *Rotylenchulus* sp, con 66.7 % de incidencia, y *Xiphinema* sp, con 8.3 %.

Cuadro 10. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Trujillo.

Géneros	Incidencia %	N° de ind/100cc de suelo	
		Mediana	Rango
<i>Meloidogyne</i>	100.0	73.5	5-2124
<i>Rotylenchulus</i>	66.7	1.5	1-9
<i>Xiphinema</i>	8.3	1	1

4.4.6. Lambayeque

Se analizaron 13 muestras de suelo, identificándose 4 géneros de nematodos fitoparásitos, los datos obtenidos muestran a *Meloidogyne* sp, con una incidencia del 100 %, y fue el género presente en mayor número, seguido de *Rotylenchulus* sp, con 25.6 % de incidencia, *Xiphinema* sp, con 25.6 %, y *Helicotylenchus* sp, con 10.3 %.

Cuadro 11. Incidencia, mediana y rango de densidades de población de nematodos fitoparásitos en suelo de vid, en Lambayeque.

Géneros	Incidencia %	N° de ind/100cc de suelo	
		Mediana	Rango
<i>Meloidogyne</i>	100.0	430	1-1588
<i>Rotylenchulus</i>	76.9	15.5	3-522
<i>Xiphinema</i>	76.9	4.5	1-129
<i>Helicotylenchus</i>	30.8	464	392-2103

4.5. Índices de biodiversidad de nematodos fitopatógenos.

Se determinaron diferentes índices de diversidad de los nemátodos fitoparásitos asociados al cultivo de vid para seis departamentos de la costa peruana, obteniendo valores para cada uno de ellos. Con los valores obtenidos para cada bloque se realizó un análisis de diversidad para el área total del muestreo.

4.5.1. Diversidad relativa de géneros entre departamentos

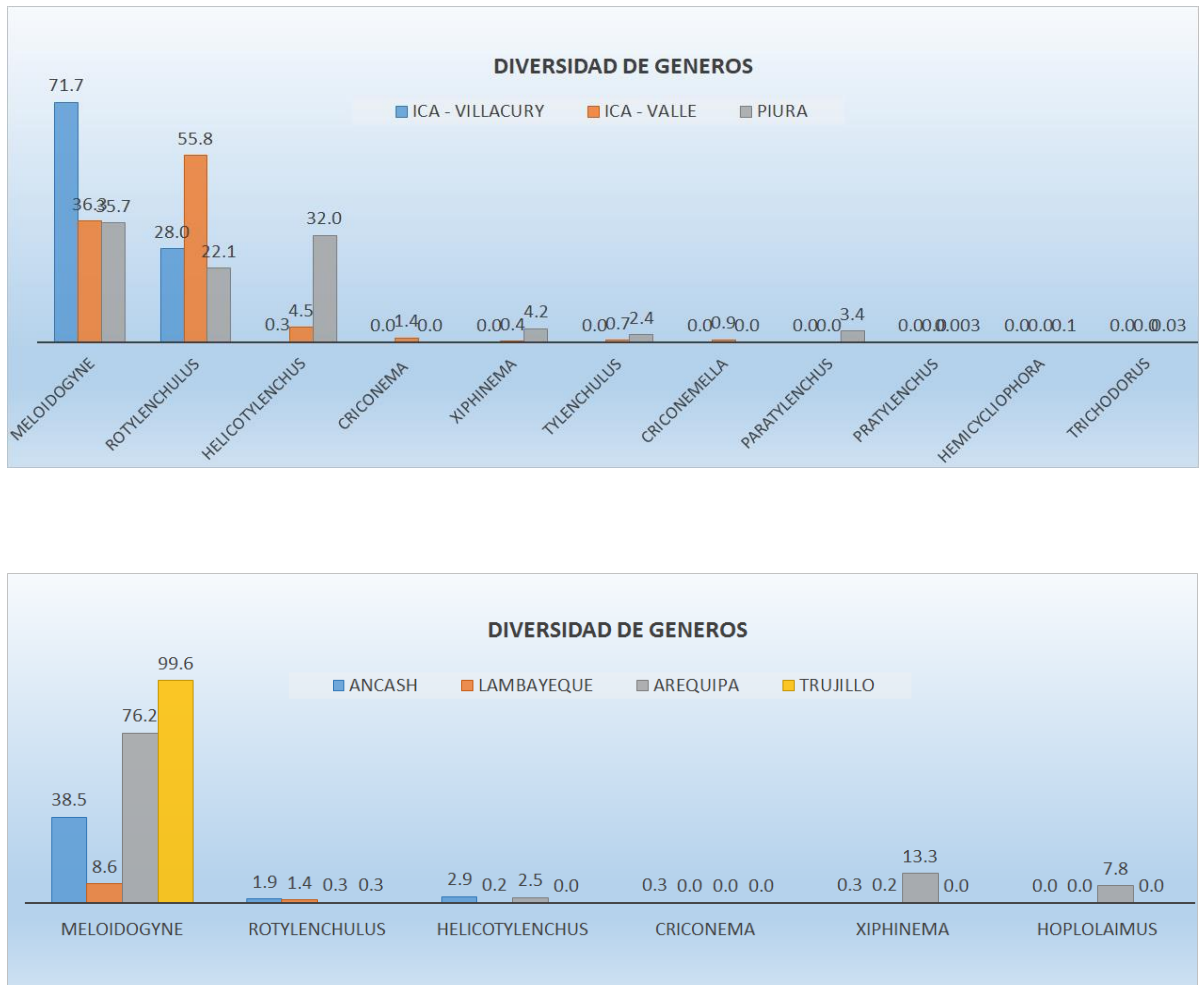


Fig. 9. Diversidad relativa de los géneros

En la Fig. 10. Comparando la diversidad de géneros entre departamentos, el género que presenta mayor porcentaje en Ica Villacury es *Meloidogyne* sp, con un valor de (71.7 %), seguido del género *Rotylenchulus* sp y *Helicotylenchus* sp. Para Ica – Valle podemos observar que el género con mayor porcentaje es *Rotylenchulus* sp. con un valor de (55.8 %), seguido del género *Meloidogyne* sp. En tanto que los departamentos de Ancash, Moquegua, La libertad y Arequipa, muestran un mayor porcentaje del género *Meloidogyne* sp.

4.5.2. Diversidad relativa de los géneros para el área total del muestreo.

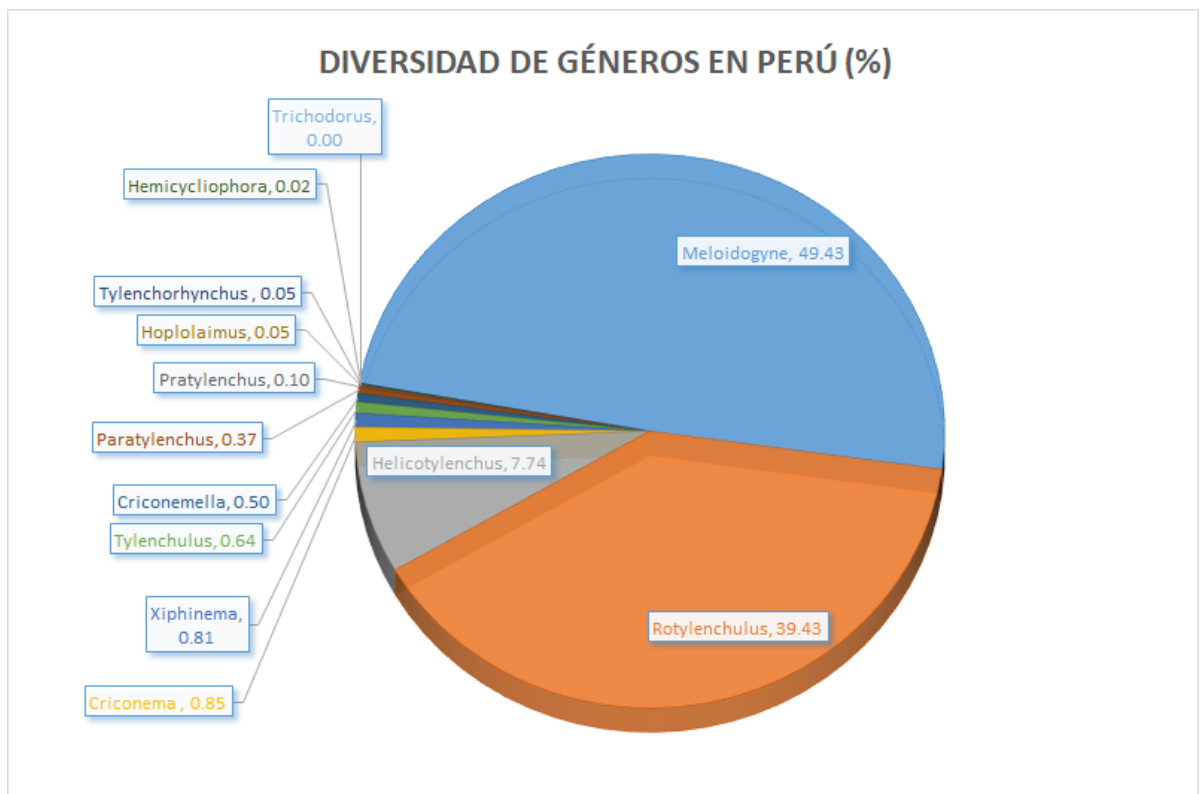


Figura 10. Porcentajes de diversidad de los géneros para el área total del muestreo.

En la Fig. 11. los resultados indican que el género que presentó mayor porcentaje de diversidad para el área total del muestreo fue *Meloidogyne* sp. con (49.43 %) seguido del nemátodo *Rotylenchulus* sp. (39.43 %) y el género *Helicotylenchus* sp, (7.74 %).

4.5.3. Índice de dominancia de las especies de Simpson



Figura 11: Comparación de la dominancia de géneros entre bloques.

En la Fig. 12. tomando en cuenta los valores de dominancia de Simpson de estos géneros dentro de cada departamento, se puede observar que existe una dominancia media en Ica-Villacury y Arequipa fundamentalmente del género *Meloidogyne* sp. Para Trujillo una alta dominancia del género *Meloidogyne* sp. Para Ica – Valle, dominancia media de *Rotylenchulus* sp, y una alta diversidad de géneros. Mientras que para Piura, Ancash y Lambayeque hay una alta diversidad de géneros. De acuerdo al índice de Simpson entre más aumente el valor a 1, la diversidad disminuye, por tanto tomando este concepto la mayoría de los departamentos, a excepción de Trujillo y Arequipa presentan una alta diversidad de especies ya que el valor máximo de dominancia.

4.5.4. Índice de diversidad de géneros de Shannon

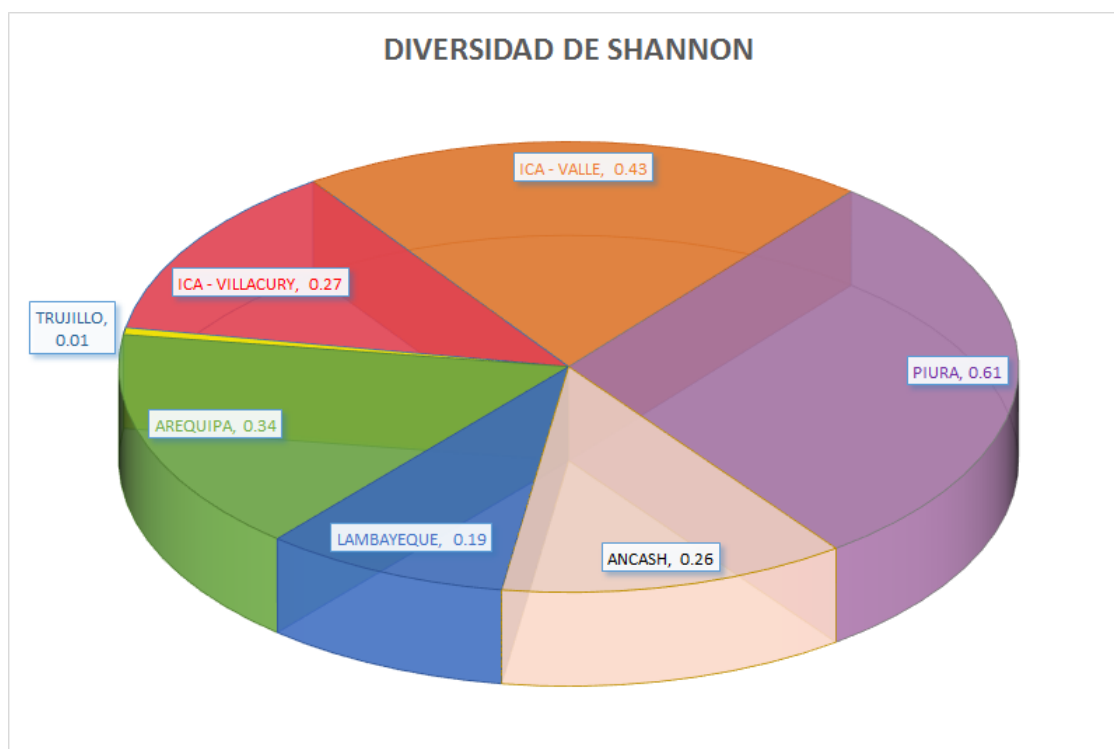


Figura 12: Comparación de diversidad de géneros entre bloques.

Piura presentó la más alta abundancia de morfotipos (10 géneros), con dominancia de *Meloidogyne* sp. Piura además fue el más diverso (Índice de Shannon $H=0,61$); mientras que Trujillo presentó la menor diversidad ($H=0,01$). Los resultados obtenidos por ser menor a 2 indican una baja diversidad en los seis departamentos.

4.6. Identificación morfológica de *Meloidogyne* sp

La identificación morfológica, mediante la técnica de cortes perineales de hembras de *Meloidogyne* sp, se realizaron en el laboratorio Biaster, los cuales fueron posteriormente identificados en el laboratorio de Embrapa Clima Temperado Brazil (Fig. 13).

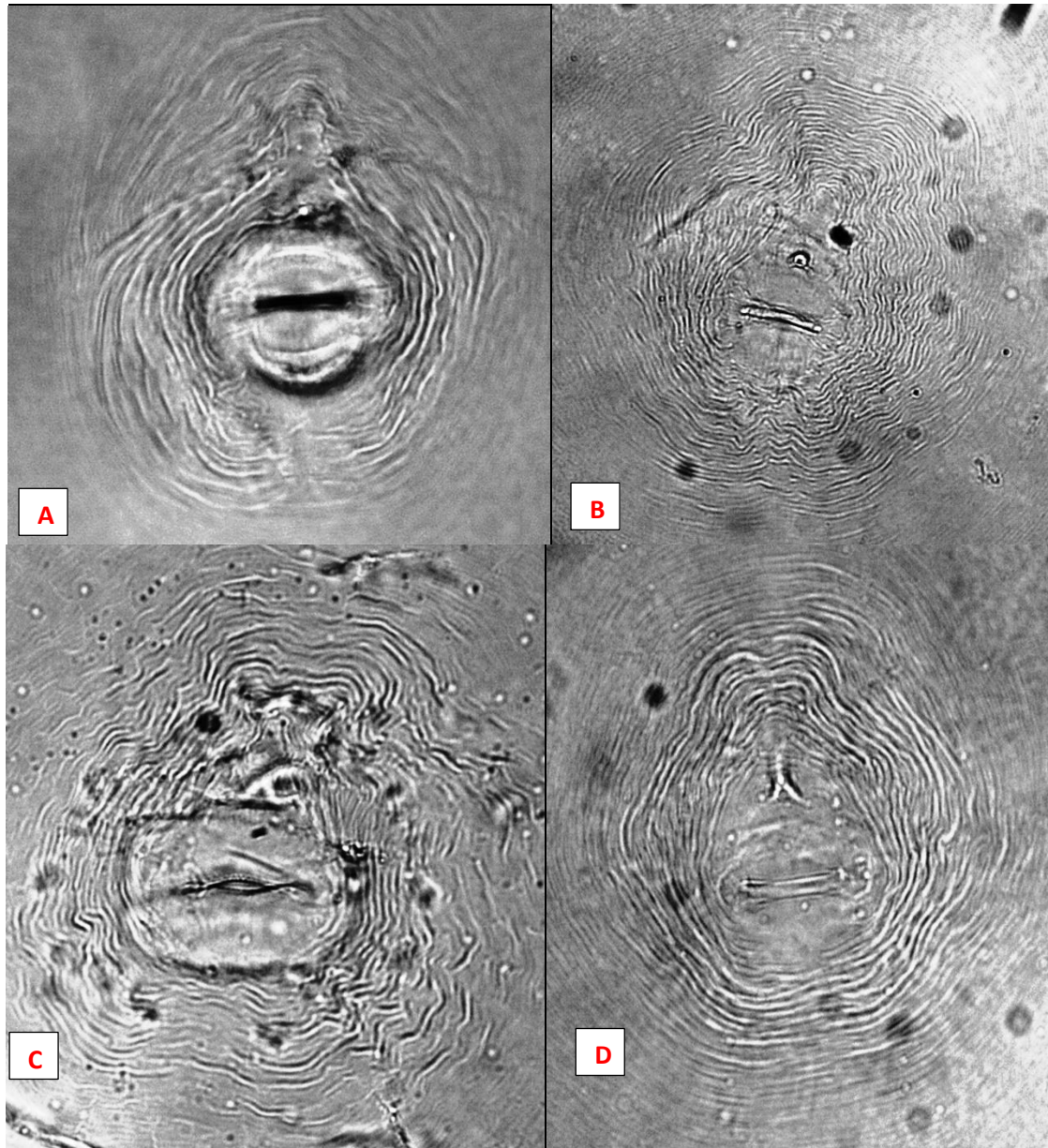


Fig. 13. Patrones perineales de *Meloidogyne* al microscopio electrónico de barrido (SEM): A) *M. arenaria*, B) *M. hapla*, C) *M. incognita*, D) *M. javanica*. La regla en las fotografías indica 20 μm .

4.7. Caracterización isoenzimática para identificar especies de *Meloidogyne* spp.

Luego de la reproducción de nematodos en plantas de tomate y recolectar muestras frescas de raíces de vid infestadas, se hizo una selección de muestras, realizándose un total de 18 corridos electroforéticos, en muestras de cuatro departamentos seleccionados (Piura, Ancash, Ica y Arequipa). Cuadro 12.

Cuadro 12. Corridos electroforéticos e identificación de especies de *Meloidogyne* en cuatro departamentos productores de Vid.

No de muestra	Código	Localidad	Patrón	Especie	Fenotipo esterasa	%
1	AQP la joya	Arequipa	R110	<i>M. arenaria</i>	A1	100 %
2	SBS rg-2/p-40	Ancash	Salt Creek	Sp2	Sp2	100 %
3	SBS rg-10/p41	Ancash	Salt Creek	Sp2	Sp2	100 %
4	Sacramento l-5	Ica	Salt Creek	<i>M. arenaria</i>	A2	100 %
5	Misterio ii v-3	Ica	Poulsen	Variado	A1, I2	20% ; 80 %
6	Don Luis v-7/p-1	Ica	Poulsen	Variado	I2 A2	70%; 30 %
7	6has l-1 y 2	Ica	MGT	Variado	I2 A2	100 %
8	La Portada rg-9	Ica	R110	Variado	I2 A2	100 %
9	Iqf Tacaraca l-102	Ica	Poulsen	Variado	Sp3 A2 J3	100 %
10	Greenvic l-11	Ica	Salt Creek	<i>M. arenaria</i>	A2	100 %
11	Carmen Luisa l-2	Ica	Salt Creek	<i>M. arenaria</i>	A2	100 %
12	Agromundo	Ica	Salt Creek	Variado	A2 Sp3	65 % ; 35 %
13	Matzue uve rg-3	Ica	Salt Creek	<i>M. arenaria</i>	A2	100 %
14	Queirolo	Ica	Uva Pisquera	<i>M. morociensis</i>	M2	100 %
15	Delicia del poma	Piura	Salt Creek	<i>M. arenaria</i>	A1	100 %
16	Praxedes m-2	Piura	MGT	Variado	Sp2 A2	68 % ; 32 %
17	Tungasuca	Piura	Harmony	<i>M. javanica</i>	J3	100 %
18	Agrimuto	Piura	Freedom	<i>M. arenaria</i>	A3	100 %

Cuadro 13. Ubicación geográfica de las muestras seleccionadas para corridos electroforéticos e identificación de especies de *Meloidogyne*.

No de muestra	Código	Región	Provincia	Localidad	Latitud	Longitud	Altitud
1	Aqp la joya	Arequipa	Arequipa	La Joya	16°42'02"	71°54'17"	1595
2	SBS rg-2/p-40	Ancash	Santa	Nepeña	9°09'06"	78°22'26"	144
3	SBS rg-10/p41	Ancash	Santa	Nepeña	9°09'00"	78°22'15"	144
4	Sacramento l-5	Ica	Ica	Villacury	13°52'43"	75°58'46"	425
5	Misterio ii v-3	Ica	Ica	Tinguiña	14°00'25"	75°42'23"	432
6	Don Luis v-7/p-1	Ica	Ica	San Juan Bautista	14°00'31"	75°43'54"	416
7	6has l-1 y 2	Ica	Ica	Casa Blanca	14°08'54"	75°43'09"	374
8	La Portada rg-9	Ica	Ica	Los Aquijes	14°08'22"	75°39'14"	475
9	Iqf Tacaraca l-102	Ica	Ica	Pueblo Nuevo	14°07'47"	75°43'02"	390
10	Greenvic l-11	Ica	Ica	Villacury	13°55'36"	75°57'05"	425
11	Carmen Luisa l-2	Ica	Ica	La Venta	14°17'16"	75°38'18"	1605
12	Agromundo	Ica	Nazca	Santa Cruz	14°30'44.6"	75°16'33.7"	
13	Matzue uve rg-3	Ica	Pisco	Santa Fe de Lanchas	13°47'56"	76°08'44"	
14	Queirolo	Ica	Ica	Tinguiña	13°59'49"	75°41'01"	432
15	Delicia del poma	Lambayeque	Chiclayo	Batan Grande			
16	Praxedes m-2	Piura	Sullana	Cieneguillo	05°04'57"	80°42'18"	84
17	Tungasuca	Piura	Sullana	Cieneguillo			83
18	Agrimuto	Piura	Sullana	Somate			120

En el cuadro 14. la distribución de las especies de *Meloidogyne*, se encontró distribuida de la siguiente manera:

Cuadro 14. Distribución de especies de *Meloidogyne* en cuatro departamentos productores de Vid.

Departamentos	N° de Muestras	Especies
Arequipa	1	<i>M. arenaria</i>
Ancash	2	<i>M. sp2</i>
Ica	11	<i>M. arenaria</i> , <i>M. incognita</i> , <i>M. sp3</i> , <i>M. javanica</i> y <i>M. morociensis</i>
Piura	4	<i>M. arenaria</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. sp2</i> , <i>M. sp3</i>

En el cuadro 15. Se identifica como la especie predominante en nuestro país, a *M. arenaria*, con una incidencia de 77.8 %, en segundo lugar tenemos a *M. incognita*, seguida de *M. javanica*, *M. morociensis*, sp3, y sp2. Por otro lado se puede apreciar que *M. arenaria*, se encuentra presente en todos los patrones a excepción de Harmony (Hr), *M. incognita* se encontró ausente en los patrones Freedom (Fr) y Harmony, *M. javanica* se detectó solo en el patrón Harmony. *M. sp2* se detectó en el patrón Salt creek, y *M. sp3*, se detectó en los patrones Poulsen (Po) y Salt creek (SC).

Cuadro 15. Incidencia de especies de *Meloidogyne* en cuatro departamentos productores de Vid.

Especies	Incidencia %	Departamento	Patrón
<i>M. arenaria</i>	77.8	Ancash, Ica, Piura, AQP	Fr, MGT, Po, R110, SC
<i>M. incognita</i>	22.2	Ica	MGT, Po, R110, SC
<i>M. javanica</i>	11.1	Ica, Piura	Hr
<i>M. morociensis</i>	5.6	Ica	Sin patrón
Sp3	11.1	Ica	Po, SC
Sp2	16.7	Ancash, Piura	SC

4.8 DISCUSIÓN

El cultivo de vid, es uno de los cultivos más importantes y difundidos en nuestro país, debido a las condiciones ambientales favorables para su desarrollo, pero también favorable para diferentes plagas y enfermedades, siendo uno de los más importantes, el género *Meloidogyne*, un nematodo fitoparásito, de importancia a nivel mundial.

El cultivo de vid en nuestro país, no solo se ha visto afectado por *Meloidogyne* spp. Si no además se ha encontrado asociado con otros géneros fitoparásitos de importancia para el cultivo. Es así que en la Libertad – Perú, Murgia *et al.* 2001, identificó la presencia de diez géneros de nematodos fitoparásitos, asociados al cultivo de vid, siendo los siguientes: *Aphelenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicycliophora*, *Hoplolaimus*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, *Tylenchorynchus*, *Tylenchus* y *Xiphinema*. Sin embargo, en el presente proyecto se ha reportado solo tres géneros fitopatógenos, *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* y *Xiphinema*.

Jiménez *et al.* (2012) en Venezuela, detectó siete géneros fitoparásitos, siendo *R. reniformis* (85.4 %) y *M. incognita* (70.9 %), los nematodos más importantes y capaces de causar daños al cultivo. Estos resultados se dan de manera similar a lo encontrado en la presente investigación.

Delgado *et al.* (2012), en México, detectó la presencia de cinco géneros fitoparásitos *Helicotylenchus* sp., *Meloidogyne* sp, *Pratylenchus* sp, *Xiphinema* sp y *Rotylenchus* sp. En Chile, Martínez. (1998), determinó la incidencia de los principales géneros fitoparásitos, 37,8 % para *Meloidogyne* sp., luego tenemos a *Xiphinema americanum* con un 22,5 %, seguido por *Xiphinema index* con un 8,6 % y por último a *Trichodorus* sp., con un 1,3 %. En Brasil, Roberto (2005), determina la presencia de ocho géneros fitoparásitos en Vid, *Mesocriconema*, *Ogma*, *Meloidogyne*, *Paratrichodorus*, *Helicotylenchus*, *Xiphinema*, *Pratylenchus* y *Hemicycliophora*, detectándose a *Mesocriconema* en mayores densidades poblacionales, respecto a los demás géneros.

Pinkerton (1999), en Oregon, determina la presencia de siete géneros fitoparásitos en Vid, *Xiphinema*, *Mesocriconema*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, *Hemicycliophora* y *Helicotylenchus*. Siendo *Xiphinema* y *Mesocriconema*, los géneros presentes con mayor frecuencia y mayores densidades poblacionales, respecto a los demás géneros.

En la evaluación de biodiversidad de géneros fitopatógenos, se destaca que Piura presentó la más alta abundancia de morfotipos (10 de 13 géneros), con dominancia de *Meloidogyne* sp. Piura además fue el más diverso (Índice de Shannon $H=0,61$); mientras que Trujillo presentó la menor diversidad ($H=0,01$). Los resultados obtenidos por ser menor a 2 indican una baja diversidad en los seis departamentos.

Por otro lado los valores obtenidos mediante el índice de Simpson (S), para determinar la dominancia, resultando una dominancia alta en Trujillo; media en Ica y Arequipa; y baja en Piura Ancash y Lambayeque. Siendo la diversidad según Simpson inversamente proporcional a la dominancia.

Los sistemas convencionales de producción son afectados por altas poblaciones y por la dominancia de unas pocas especies de nematodos.

Sobre los diferentes portainjertos empleados en Vid, Anwar et al. (2000), evaluó la resistencia de los portainjertos Freedom y Harmony, frente a las poblaciones de *Meloidogyne incognita* y *M. arenaria*; encontrándose que Freedom es más susceptible a *M. arenaria*; mientras que, Harmony, presentó menor infestación y además reaccionó con mayor actividad radicular. Concluyendo que la población de *M. arenaria* es altamente virulenta, mientras que *M. incognita* es moderadamente virulenta.

En Chile, Anwar y McKenry. (2002); estudio la resistencia y respuesta de los patrones RS-9 y Teleki 5C, frente a *M. arenaria*; demostrándose que sólo el 5 % y el 25 % del inóculo inicial, alcanzaron el estado adulto en RS-9 y raíces Teleki 5C, respectivamente, en comparación con el 32 % en las raíces de Cabernet (planta susceptible).

Cousins y Walker. (2002). Evaluaron la resistencia genética de seis patrones, frente a *Meloidogyne incognita* raza 3, encontrándose que Harmony y Freedom presentaron mayor nivel de resistencia; mientras que, los portainjertos Dogridge, Ramsey, y 1613C presentaron niveles intermedios de resistencia, y por ultimo 161-49C, fue el portainjerto que presentó menos resistencia.

Somavilla (2011), evaluó la resistencia de porta-injertos tropicales a la reproducción de nematodos de nudos de raíz, IAC 313 – Tropical, ' Y ' IAC 572-Jales', resultaron resistentes a todas las especies de *Meloidogyne*; IAC 766-Campinas fue Resistente a *M. arenaria*, *M.*

javanica y *M. enterolobii*, además de comportarse como susceptible a *M. incognita*. Sin embargo, 'Traviú 106-8' fue susceptible a cuatro especies de *Meloidogyne*, los porta-injertos templados SO4, Kober K5BB, Salt Creek y Harmony, mostraron resistencia a todas las especies ensayadas, pero '420' y 'Rupestris du Lot' fueron susceptible a *M. incognita* y *M. arenaria*, y resistente a *M. javanica*. 'Rupestris du Lot' También mostró resistencia a *M. enterolobii*. El patrón '1103 Paulsen presentado Resistencia a todas las especies de *Meloidogyne* excepto a *M. arenaria*. Niágara Rosada y Chardonnay 'fueron los cultivares más susceptibles a todas las especies de *Meloidogyne* evaluadas.

El surgimiento de nuevos patrones, representarían una alternativa en el manejo de *Meloidogyne*, el cual debería investigarse a su vez en las principales zonas productoras como Perú.

En la presente investigación, se determinó como especie predominante a *M. arenaria*, especie que también fue reportada por Vera, 2014. quien realizó el primer reporte de *M. arenaria*, en Lima, Perú; *M. arenaria* también ha sido reportada en vid en Cuba (Rodríguez, 2011), donde se encontró en mayor proporción, que *M. incognita* y *M. javanica*; en Grecia se indicó a *M. arenaria* como una especie prevalente junto con *M. javanica* en vid (Karanastasi, 2008), también se ha reportado *M. arenaria* en vid en Chile (Magunacelaya y Dagnino, 1999) y más recientemente la especie *M. ethiopica*, la cual indican es la más importante no sólo por estar mayormente presente en el cultivo sino por su mayor agresividad y difícil control (Carneiro et al., 2004; 2007; Aballay et al., 2009; 2013; Vilches, 2010).

V. CONCLUSIONES

Se identificaron trece géneros de nematodos fitoparásitos, (*Meloidogyne* sp, *Rotylenchulus* sp, *Helicotylenchus* sp, *Xiphinema* sp, *Criconema* sp, *Tylenchulus* sp, *Pratylenchus* sp, *Hemicycliophora* sp, *Paratylenchus* sp, *Longidorus* sp, *Criconemella* sp, *Tylenchorhynchus* sp y *Trichodorus* sp) en los seis departamentos evaluados.

Meloidogyne sp, presentó una incidencia del 76.5 %, más frecuente, seguido de *Rotylenchulus* sp, *Helicotylenchus* sp y *Xiphinema* sp, (56.8 %, 35 %, 23.3 % respectivamente).

Se identificaron isoenzimáticamente seis especies de *Meloidogyne*, encontrándose predominante a *M. arenaria* (Est. A2), en los departamentos de Arequipa, Ica y Piura, con una incidencia de 77.8 %, seguida de *M. incognita* (Est. I2), en Ica; *M. javanica* (Est. J3), en los departamentos Ica y Piura; *M. morosiensis* en Ica; *M. sp3* en Ica y *M. sp2* en Ancash y Piura.

El patrón o portainjerto predominante en nuestro país, es Salt Creek, seguido de Poulsen, MGT, R11o, Freedom y Harmony. *M. arenaria*, se detectó en todos los patrones a excepción de Harmony; *M. incognita* se encontró ausente en los patrones Freedom y Harmony, mientras que *M. javanica* se identificó solo en el patrón Harmony.

VI. RECOMENDACIONES

Ampliar el número de aislamientos de *Meloidogyne* spp, en vid, en las diferentes zonas productoras, en especial de plantines importados.

Realizar pruebas de patogenicidad de las diferentes especies detectadas en Perú.

Establecer ciclos biológicos por especie de *Meloidogyne* spp, e identificar el potencial de daño económico de cada especie.

Establecer la relación entre cada especie de *Meloidogyne* spp, con los diferentes portainjertos empleados en Vid.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aballay, E y Montedonico, M. 2001. Evaluación de la resistencia de trece portainjertos de vid a *Meloidogyne* spp. en una viña de seis años. Aconex 72: 18-28.

Agrios, G. 1996. Fitopatología; 2da edición; Edit. Limusa; Mexico.

Agrios G. 2011. Fitopatología. México. Editorial Limusa S.A. de CV Grupo Noriega Editores. 745-749 p.

Agrobanco, 2008. Cultivo de la vid.

Anwar, SA., McKenry, MV., Faddoul, J. 2000. Reproductive Variability of Field Populations of *Meloidogyne* spp. on Grape Rootstocks. J Nematol. 2000 Sep;32(3):265-70.

Anwar, SA y McKenry, MV. 2002. Developmental Response of a Resistance-Breaking Population of *Meloidogyne arenaria* on *Vitis* spp. J Nematol. 2002 Mar;34(1):28-33.

Carneiro, RMDG., Almeida, MRA., Cofcewicz, ET., Magunacelaya, JC., Aballay, E. 2007. *Meloidogyne ethiopica*, a major root-knot nematode parasitising *Vitis vinifera* and other crops in Chile. Nematology 9 635-641.

Chitwood, D. y Perry, R. 2009. Reproduction, Physiology and Biochemistry in Perry, R; Moens M; Starr J. Eds Root-knot nematodes. pp182-194.

Coolen, WY. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Agricultural Research Centre. 77 p.

Cousins, P y Walker, A. 2002. Genetics of resistance to *Meloidogyne incognita* in crosses of grape rootstocks. Theor Appl Genet. 2002 Oct;105(5):802-807. Epub 2002 Jul 30.

Coyne, D., Nicol, J. y Claudius, B. 2007. Nematología Práctica: Una guía de campo y laboratorio. Traducido por Soledad Verdejo Lucas. International Institute of Tropical Agriculture. 93p.

Delgado, E., Rivera, B., Sotelo, M., Arias, B. 2012. Nematodos asociados a la rizósfera de 4 cultivares de uva de mesa (*Vitis vinífera*) en Caborca. INVURNUS, Vol. 7 No. 2 (Julio-Diciembre 2012): 32-37

Eisenback, J. D., Hirschmann, H., Sasser, J. N. y Triantaphyllou, A. C. 1983. Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nemátodo agallador (*Meloidogyne* especies), con una Clave Pictórica. International *Meloidogyne* Project. Raleigh, North Carolina.

Eisenback, J.D., Hirschmann, H., Sasser, J.N., and Triantaphyllou, A.C. 1981. A guide to the four most common species of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.), with a pictorial key. Department of Plant Pathology, North Carolina State University/USAID. North Carolina StateGraphics, Raleigh.

Esbenshade, P.R., and Triantaphyllou, A.C. 1985. Use of enzyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. Journal of Nematology 17: 6 – 20.

Esbenshade, P.R., and Triantaphyllou, A.C. 1990. Isozyme phenotypes for the identifications of *Meloidogyne* species. Journal of Nematology 22: 10 – 15.

Esbenshade, P., y Triantaphyllou, A. C. 1985. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. Journal of Nematology 17, 6-20 p.

Farfán, M. D. 2011. Comportamiento del nemátodo del nódulo *Meloidogyne incognita* (kofoid y white, 1919) chitwood, 1949 con 12 productos químicos. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en Fitopatología. Universidad Nacional Agraria la Molina. 79p.

Fassuliotis, G. 1979. Plant breeding for root-knot nematode resistance. In: Lambert, F. y Taylor, C.E. Ed. Root-knot nematode (*Meloidogyne* species). Systematics, Biology and Control. London: Academic Press. 425-453 p.

Ferris, H y McKenry, MV. 1975. Relationship of grapevine yield and growth to nematode densities. J Nematol. 1975 Jul;7(3):295-304.

Ferris, H., Zheng, L., Walker, MA. 2013. Soil Temperature Effects on the Interaction of Grape Rootstocks and Plant-parasitic Nematodes. J Nematol. 2013 Mar;45(1):49-57.

Guiran, G. y Ritter, M. 1979. Life cycle of *Meloidogyne* species and factors influencing their development. /11: F. Lamberti and C.E. Taylor (eds.) Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species); systematics. biology and control. Acad. Press. London, pp. 173-191.

Hidalgo, L. 1999. Tratado de viticultura general. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 1172 pp.

Hussey, R. S. y Barker, K. B. 1973. A comparison of methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease 57:1025-1028 p.

Jenkins, W. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. . Plant disease reporter, v. 48. 692 p.

Jiménez-Pérez, N., Jiménez, R., Crozzoli, R. y Casanova, M. 2012. Nematodos fitoparásitos asociados con la vid en el Estado Lara, Venezuela

Karsen, G. y Moens, M. 2006. Root-knot nematodes. In: Perry RN, Moens M, editors. Plant Nematology. Wallingford, UK: CABI Publishing. 59-90p.

Martínez, J. 1998. Determinación de generos de nematodos asociados a uva vinífera, en zonas regadas, productoras de vino en Chile.

McKenry, MV y Anwar, SA. 2006. Nematode and grape rootstock interactions including an improved understanding of tolerance. J Nematol. 2006 Sep;38(3):312-8.

McKenry, MV y Anwar, SA. 2007. Virulence of *Meloidogyne* spp. and Induced Resistance in Grape Rootstocks. *J Nematol.* 2007 Mar;39(1):50-4.

Murgia, S. 2001. Perú. Nematodos fitoparasitos asociados al cultivo de *Vitis vinifera* L. en el distrito de Paijan, La Libertad, Perú. *Revista peruana de parasitología* 15:60-64, 2001.

Muños, I y Gonzales, H. sf. Portainjertos, clave para el futuro de la viticultura. Artículo: frutales y Viñas, INIA. Chile.

Ogawa, J. 1986. Fields test procedures for evaluation of fungicides to control. In: Hickey, K. (Ed.). *Methods for evaluating pesticides for control of plants pathogens.* Am. Phytophat. Soc. Press.p.152.-154.

Oostenbrink, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Wageningen: Landbouwhoge school 6: 1-46 p.

Perry, R. N., Moens, M. y Starr, J. L. 2009. *Root-knot Nematodes.* UK by the MPG Books Group. 530p.

Perry, R. N. y Moens, M. 2014. *Plant Nematology.* USA: UK by Biddles Ltd, a King's Lynn. 463 p.

Pinkerton, J.N., Forge, T.A., Ivors, K.L. and Ingham, R.E. 1999. Plant-Parasitic Nematodes Associated with grapevines, *Vitis vinifera*, in Oregon vineyards. Supplement to the *Journal of Nematology* 31:624-634.

Talavera, M. 2003. Introducción al Análisis y al control nematológico para agricultores y técnicas de agrupaciones de defensa vegetal. *Manual de Nematología Agrícola.* 23p.

Taylor, A. y Sasser, J. 1978. *Biología, identificación y control de los nemátodos del nódulo de la raíz.* Proyecto Internacional de *Meloidogyne.* North Carolina. EE.UU.:

Publicación Cooperativa entre el Departamento de Fitopatología de la Universidad del Estado.

Triantaphyllou, A. C. 1979. J. Nematol. 7, 356-364.

Vera, N. 2014. Técnica molecular de PCR para identificar las principales especies de *Meloidogyne* spp. en poblaciones provenientes de Perú. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae Fitopatología.

Weiland, C. 2001. España. Estado sanitario del cultivo de la vid (*Vitis vinifera* L.) respecto a infecciones de carácter viral en la denominación de origen condado de huelva y métodos de saneamiento del material vegetal. Tesis doctoral. Córdoba, España. Facultad de agronomía. Universidad de Córdoba. 219 p.

VIII. ANEXO

Anexo N° 1: Caracterización morfológica básica para la identificación de nematodos fitoparásitos.

GENERO DE LA CABEZA	ESCLEROTIZACIÓN ESTOMATOESTILETE	ODONTOESTILETE	ONCHIO ESTILETE	SUPERPOSICIÓN	COLA POSICIÓN	DE LA VULVA	OVARIOS
Pratylenchus	Corto, desarrollado			Ventral cónica	redonda		
Meloidogyne	Delgado c/porción hialina	Ventral subaguda					
Helicotylenchus	Desarrollado	Ventral punta hemisférica				55-69%	02
Heterodera	Desarrollado	Ventral aguda c/porción hialina					
Globodera	Desarrollado			No existe	Variable	50-55%	02
Xiphinema	Largo, desarrollado						
Tylenchulus	Débil, no existe	Term. puntiaguda subaguda					
Radopholus	Corto desarrollado			Dorsal redondeada	casi	59-60%	02
Rotylenchulus	Ligeramente desarrollado	Ventral terminal redondeado				57-63%	02
Ditylenchulus Hemicyclophora	Corto, no existe Largo delgado	Alongada, cónica terminal Hemisférica alongada aguda				80-85%	01
Rotylenchus	Bien desarrollado			Dorsal redondeada		51-62%	02
Trichodorus	Curvado	No existe		Cilíndrica		50-60%	02
Hirschmaniella	Bien desarrollado	Ventral terminal puntiaguda mic				48-58%	02
Paratylenchus	Variable	No existe		Curvada ventral		76-86%	01
Tylenchorhynchus	Bien desarrollado	No existe		Cónica redondeada		46-60%	02
Scutellonema	Bien desarrollado	Escutelo		Dorsal hemisférica		50-60%	02
Tylenchus	Débil	No existe		Filiforme		55-78%	02
Psilenchus	Débil	No existe		Filiforme clavida		55-78%	02
Aphelenchus	Débil	Sin nódulos		Dorsal roma redond		74-78%	01
Aphelenchoides	Débil	Dorsal cónica				62-83%	01
Bursaphelenchus	Débil	Ligeramente dorsal		Larga c/punta redon.			01
Criconemoides	Largo, fuerte	No existe		Cilíndrica		85-96%	01
Nacobbus	Fuerte dorsal redondeado			Cónica y aguda			

Género	Esclerotización de la cabeza	Estilete			Superposición	Cola	Posición de la vulva	Ovarios	Otros
		Estomatoestilete	Odontostilete	Onchioestilete					
Pratylenchus	Sí	Corto, desarrollado			ventral	cónica redonda	75-80%	01	
Meloidogyne (J2)	No	Delgado			ventral	subaguda, c/porción hialina	-	-	
Helicotylenchus	Sí	Desarrollado			ventral	punta hemisférica	55 -69%	02	
Heterodera (J2)	Sí	Desarrollado			ventral	aguda, c/porción hialina	-	-	
Globodera (J2)	Sí	Desarrollado							
Xiphinema	No		Largo, desarrollado		no existe	variable	50 - 55%	02	
Tylenchulus (J2)	No	Débil			no existe	subaguda, terminación punteaguda	-	-	
Radopholus	Sí	Corto, desarrollado			dorsal	redondeada casi punteaguda	50 - 69%	02	
Rotylenchulus	Sí, ligera	Desarrollado			ventral	adelgazandose en su terminal redondeado	57 - 63%	02	

**Anexo N° 1: Caracterización morfológica básica para la identificación de nematodos
fitoparásitos.**

Género	Esclerotización de la cabeza	Estilete			Superposición	Cola	Posición de la vulva	Ovarios	Otros
		Estomatoestilete	Odontoestilete	Onchioestilete					
Ditylenchus	No	Corto			no existe	elongada, cónica terminal subaguda	80-82%	01	
Hemicyclophora	No	Largo, delgado			no existe	hemisférica-elongada aguda	80 -85%	01	
Rotylenchus	Sí	Bien desarrollado			dorsal	redondeada, punta hemisférica	51 - 62%	02	
Trichodorus	No			Curvado	no existe	cilíndrica	50 - 60%	02	
Hirschmanniella	No	Bien desarrollado			ventral	terminal punteaguda o mucronada	48 - 58%	02	
Paratylenchus	No	Variable			no existe	curvada ventralmente	76 - 86%	01	
Tylenchorhynchus	No	Bien desarrollado			no existe	cónica-redondeada cilíndrica	46 - 60%	02	
Scutellonema	Sí	Bien desarrollado			dorsal	Hemisférica, escutelo	50 - 60%	02	
Tylenchus	No	Débil			no existe	filiforme	55 - 78%	01	
Psilenchus	No	Débil			no existe	filiforme clavada	55 - 78%	02	
Aphelenchus	No	Débil, sin nódulos			dorsal	roma (redondeada)	74 - 78%	01	

Género	Esclerotización de la cabeza	Estilete			Superposición	Cola	Posición de la vulva	Ovarios	Otros
		Estomatoestilete	Odontoestilete	Onchioestilete					
Aphelenchoides	No	Débil			dorsal	cónica	62 - 83%	01	
Bursaphelenchus	Sí	Débil			Ligeramente dorsal	Larga, con la punta redondeada		01	Muy largos y de apariencia de hilos
Criconemoides	No	Largo, fuerte			no existe	cilíndrica, cónica Aguda	85 - 96%	01	
Nacobbus	No	Fuerte			Dorsal	Redondeada			

Anexo N° 2: Cantidad y proporción de Variedades y patrones de las muestras analizadas

TOTAL	Departamento	VARIEDADES																PATRONES								
		RG	FL	SUP	CR	THO	SG	ES	SR	JS	SJ	IFG	CC	SC	MAG	QUE	TIM	IT	MG T	FRE	HR	PO	SC	FO4	DR	VLV
166	ICA - VALLE	13	38	9	85		5	4			4			4	1	2	1		5	7	28	84	42			
99	ICA - VILLACURY	40	7	5	33		3	1	1	2	1	1	3	2						10			86			3
46	PIURA	21		7	18															6	39		1			
46	ANCASH	31		14														1	23	9	12	2				
6	AREQUIPA	4	1			1													2	2	2					
12	TRUJILLO	12																						12		
15	LAMBAYEQUE	11		4																	4		5		6	
390	TOTAL																									

DEPARTAMENTOS	VARIEDADES																PATRONES									
	RG	FL	SUP	CR	THO	SG	ES	SR	JS	SJ	IFG	CC	SC	MAG	QUE	TIM	IT	MG T	FRE	HR	PO	SC	FO4	DR	VLV	
ICA - VALLE	7.8	22.9	5.4	51.2		3.0	2.4			2.4			2.4	0.6	1.2	0.6		3.0	4.2	16.9	50.6	25.3				
ICA - VILLACURY	40.4	7.1	5.1	33.3		3.0	1.0	1.0	2.0	1.0	1.0	3.0	2.0						10.1			86.9			3.0	
PIURA	45.7		15.2	39.1															13.0	84.8		2.2				
ANCASH	67.4		30.4														2.2	50.0	19.6	26.1	4.3					
AREQUIPA	66.7	16.7			16.7													33.3	33.3	33.3						
TRUJILLO	100.0																							100		
LAMBAYEQUE	73		27																	27		33		40		

Anexo N° 3: Índices de biodiversidad de nematodos fitoparásitos

divR	Perú	Ica - Villacury	Ica - valle	Piura	Ancash	Lambayeque	Arequipa	Trujillo
<i>Meloidogyne</i>		71.7	36.3	35.7	38.5	8.6	76.2	99.6
<i>Rotylenchulus</i>		28.0	55.8	22.1	1.9	1.4	0.3	0.3
<i>Helicotylenchus</i>		0.3	4.5	32.0	2.9	0.2	2.5	0.0
<i>Criconema</i>		0.0	1.4	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0
<i>Xiphinema</i>		0.0	0.4	4.2	0.3	0.2	13.3	0.0
<i>Tylenchulus</i>		0.0	0.7	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Criconemella</i>		0.0	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Paratylenchus</i>		0.0	0.0	3.4	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Pratylenchus</i>		0.0	0.0	0.003	0.4	0.0	0.0	0.0
<i>Hemicycliophora</i>		0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Trichodorus</i>		0.0	0.0	0.03	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Hoplolaimus</i>		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.8	0.0
<i>Tylenchorhynchus</i>		0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0

Simpson	Peru	Ica - villacury	Ica - valle	Piura	Ancash	Lambayeque	Arequipa	Trujillo
<i>Meloidogyne</i>		0.514	0.132	0.127	0.148	0.007	0.580	0.993
<i>Rotylenchulus</i>		0.079	0.311	0.049	0.0004	0.0002	0.00001	
<i>Helicotylenchus</i>		0.000	0.002	0.103	0.001	0.002	0.001	0.00001
<i>Xiphinema</i>			0.00002	0.002		0.00001	0.018	0.00000002
<i>Criconema</i>			0.0002	0.0000001	0.00001			
<i>Criconemella</i>			0.0001					
<i>Tylenchulus</i>			0.00005	0.001				
<i>Pratylenchus</i>			0.0000001	0.000000001	0.00002			
<i>Hemicycliophora</i>				0.000001	0.0000003			
<i>Paratylenchus</i>				0.000001				
<i>Trichodorus</i>				0.0000001				
<i>Hoplolaimus</i>							0.006	
<i>Tylenchorhynchus</i>					0.00001			

Anexo N° 4: Índice de biodiversidad de Shannon de nematodos fitopatógenos

Departamentos	Índice de Shannon
ICA - VILLACURY	0.27
ICA - VALLE	0.43
PIURA	0.61
ANCASH	0.26
LAMBAYEQUE	0.19
AREQUIPA	0.34
TRUJILLO	0.01