

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMIA

Actividad nematocida sobre *Meloidogyne hapla* de extractos acuosos
de especies arbóreas y arbustivas de la zona sur de Chile

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de
Licenciado en Agronomía

Daniela Alicia Hidalgo Araneda

VALDIVIA - CHILE

2008

PROFESOR PATROCINANTE

Laura Böhm Stoffel

Ing. Agr.

Facultad de Ciencias Agrarias

PROFESORES INFORMANTES

Rodrigo Acuña López

Ing. Agr. M. Sc. Dr. Hort.

Facultad de Ciencias Agrarias

Ricardo Fuentes Pérez

Ing. Agr. M. Sc.

Facultad de Ciencias Agrarias

A mis padres Marcelino y Alicia
por su eterna paciencia y amor

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Características generales	3
2.2	Distribución	3
2.3	Clasificación	4
2.3.1	Nemátodo del nudo de la raíz <i>Meloidogyne hapla</i> Chitwood, 1949	5
2.3.1.1	Clasificación taxonómica de <i>M. hapla</i> Chitwood, 1949	5
2.3.1.2	Biología de <i>Meloidogyne</i>	5
2.4	Efectos y daño de <i>M. hapla</i> en plantas	7
2.5	Control de nemátodos	9
2.5.1	Control tradicional	9
2.5.2	Rotación de cultivos	10
2.5.3	Uso de plantas antagonistas	11
2.5.3.1	Compuestos alelopáticos presentes en plantas	14
2.5.4	Otras técnicas de control	15
2.6	Descripción de las especies evaluadas	15
2.6.1	Arrayán (<i>Luma apiculata</i> Burret)	15
2.6.2	Canelo (<i>Drymis winteri</i> J.R. Foster)	15
2.6.3	Maitén (<i>Maytenus boaria</i> Mol)	16
2.6.4	Maqui (<i>Aristotelia chilensis</i> (Mol.) Stunz)	16
2.6.5	Avellano (<i>Gevuina avellana</i> Mol)	17
2.6.6	Murta (<i>Ugni mollinae</i> Moll)	17
2.6.7	Eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i> Labill)	17
2.6.8	Matico (<i>Buddleja globosa</i> Hoppe)	18
3	MATERIAL Y METODO	19
3.1	Materiales	19

3.1.1	Material vegetal	19
3.1.2	Material de laboratorio	19
3.1.3	Reactivos	19
3.1.4	Sustrato	19
3.1.5	Equipamiento	19
3.1.6	Inóculo de <i>Meloidogyne hapla</i>	20
3.2	Método	20
3.2.1	Especies vegetales a evaluar	20
3.2.2	Preparación de los extractos	20
3.2.3	Obtención de juveniles de <i>M. hapla</i>	21
3.2.4	Exposición de huevos y juveniles II a los extractos acuosos	22
3.2.4.1	Comportamiento <i>in vitro</i> de huevos y juveniles de <i>M. hapla</i> sometidos a los extractos acuosos	22
3.2.4.2	Inoculación de plantas de tomate con propágulos de <i>M. hapla</i>	24
3.2.4.2.1	Incorporación de extractos acuosos a las macetas inoculadas	24
3.2.4.2.2	Estimación del efecto de los tratamientos en la capacidad infestiva del nemátodo	25
3.2.5	Diseño Experimental	26
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	27
4.1	Ensayo <i>in vitro</i>	27
4.1.1	Sobrevivencia de popágulos de <i>M. hapla</i> transcurridas 24 y 72 horas de exposición a extractos acuosos	27
4.1.2	Sobrevivencia de juveniles de <i>M. hapla</i> en placas transcurridas 24 y 72 horas de exposición a los extractos.	30
4.1.3	Efecto de los tratamientos en la viabilidad de huevos de <i>M. hapla</i> transcurridas 24 y 72 horas de exposición.	34
4.2	Ensayo en macetas	38
4.2.1	Efecto de la incorporación de extractos al sustrato en la capacidad de infección de <i>M. hapla</i>	38
4.2.2	Número de agallas encontradas por planta	38
4.2.3	Multiplicación de <i>M. hapla</i> en las plantas	42
4.2.4	Presencia de juveniles de <i>M. hapla</i> en plantas de tomate	43
4.2.5	Presencia de huevos de <i>M. hapla</i> en las plantas de tomate	44
4.2.6	Tasa de multiplicación de <i>M. hapla</i> en plantas de tomate	45

5	CONCLUSIONES	47
6	RESUMEN	49
	SUMMARY	51
7	BIBLIOGRAFIA	53
	ANEXOS	62

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Características de pH, conductividad eléctrica y Potencial osmótico de las concentraciones utilizadas	21
2	Distribución de tratamientos del ensayo <i>in vitro</i> (placas Petri)	23
3	Distribución de tratamientos del ensayo en macetas	24
4	Índices de agallamiento de raíces de acuerdo a dos escalas comparables	25
5	Número de propágulo de <i>M. hapla</i> sobreviviente después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos	28
6	Número de juveniles de <i>M. hapla</i> activos recuperados después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos	31
7	Número de huevos viables de <i>M. hapla</i> encontrados por tratamiento	35
8	Índices de agallamiento de raíces de acuerdo a las dos escalas utilizadas	40
9	Número total de propágulo de <i>M. hapla</i> desarrollado por planta	42
10	Número de juveniles vivos de <i>M. hapla</i> recuperados por planta	43
11	Número de huevos viables de <i>M. hapla</i> recuperados por planta	45

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Porcentaje de mortalidad de propágulo de <i>M. hapla</i> transcurridas 24 horas de exposición a los extractos	29
2	Porcentaje de mortalidad del propágulo transcurridas 72 horas de exposición a los extractos	30
3	Porcentaje de mortalidad de juveniles de <i>M. hapla</i> transcurridas 24 horas de exposición a los extractos	32
4	Porcentaje de mortalidad de juveniles de <i>M. hapla</i> transcurridas 72 horas de exposición a los extractos	34
5	Porcentaje de mortalidad de huevos de <i>M. hapla</i> transcurridas 24 horas de exposición a los extractos	36
6	Porcentaje de mortalidad de huevos de <i>M. hapla</i> transcurridas 72 horas de exposición a los extractos	37
7	Índice de agallamiento A	41
8	Índice de agallamiento B	41
9	Relación porcentual en la distribución de huevos y juveniles de <i>M. hapla</i> en cada concentración de los extractos acuosos	44
10	Tasa de multiplicación de <i>M. hapla</i> en plantas de tomate inoculadas	46

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Desviación Standard de propágulo de <i>M. hapla</i> sobrevivientes después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos	63
2	Desviación Standard de juveniles de <i>M. hapla</i> sobrevivientes después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos	63
3	Desviación Standard de huevos de <i>M. hapla</i> sobrevivientes después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos	64
4	Desviación Standard de índices de agallamiento de raíces de plantas de tomate	64
5	Análisis de varianza del número de propágulo de <i>M. hapla</i> encontrado en placas	65
6	Análisis de varianza de la interacción de factores del número de propágulo de <i>M. hapla</i> encontrado en placas	65
7	Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 24 horas de exposición del propágulo a los extractos acuosos	66
8	Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 72 horas de exposición del propágulo a los extractos acuosos	66
9	Análisis de varianza del número de juveniles de <i>M. hapla</i> encontrado en placas	66
10	Análisis de varianza de la interacción de factores del número de juveniles de <i>M. hapla</i> encontrado en placas	67
11	Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 24 horas de exposición de juveniles a los extractos acuosos	67
12	Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 72 horas de exposición de juveniles a los extractos acuosos	68
13	Análisis de varianza del número de huevos de <i>M. hapla</i> encontrados en placas	68

14	Análisis de varianza de la interacción de factores del número de huevos de <i>M. hapla</i> encontrado en placas	69
15	Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 24 horas de exposición de huevos a los extractos acuosos	69
16	Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 72 horas de exposición de huevos a los extractos acuosos	70
17	Análisis de varianza del número de propágulo de <i>M. hapla</i> encontrado en raíces de plantas de tomate	70
18	Análisis de varianza de la interacción de factores del número de propágulo de <i>M. hapla</i> encontrado en raíces de plantas de tomate	70
19	Análisis de t Student, entre concentraciones, para propágulo de <i>M. hapla</i> encontrado por planta de tomate	71
20	Análisis de varianza del número de juveniles de <i>M. hapla</i> encontrado en raíces de plantas de tomate	71
21	Análisis de varianza de la interacción de factores del número de juveniles de <i>M. hapla</i> encontrado en raíces de plantas de tomate	71
22	Análisis de t Student, entre concentraciones, para juveniles de <i>M. hapla</i> encontrados por planta de tomate	72
23	Análisis de varianza del número de huevos de <i>M. hapla</i> encontrado en raíces de plantas de tomate	72
24	Análisis de varianza de la interacción de factores del número de huevos de <i>M. hapla</i> encontrado en raíces de plantas de tomate	72
25	Análisis de t Student, entre concentraciones, para huevos de <i>M. hapla</i> encontrados por planta de tomate	73
26	Análisis de varianza del índice de agallamiento "A" evaluado en raíces de plantas de tomate	73
27	Test de comparaciones múltiples, factor especie para el índice de agallamiento "A"	73
28	Test de comparaciones múltiples, factor concentración para el índice de agallamiento "A"	74
29	Análisis de Mann Whitney, entre concentraciones, para el índice de agallamiento "A"	74
30	Análisis de varianza del índice de agallamiento "B" evaluado en raíces de plantas de tomate	74

31	Test de comparaciones múltiples, factor especie para el índice de agallamiento "B"	75
32	Test de comparaciones múltiples, factor concentración para el índice de agallamiento "B"	75
33	Análisis de Mann Whitney, entre concentraciones, para el índice de agallamiento "B"	75

1 INTRODUCCION

Los nemátodos son uno de los grupos de invertebrados más numerosos sobre la tierra, encontrándose entre ellos especies fitoparásitas de gran importancia en la agricultura debido a los problemas que causan. Una parte de los daños se generan debido a la secreción que los nemátodos inyectan al alimentarse de la planta. Esta secreción afecta el tejido vegetal causando necrosis, destrucción de las paredes celulares o provocando la supresión de la división celular en el meristema apical, impidiendo así el crecimiento de la raíz. Además, los nematodos predisponen a las plantas para la infección por otros organismos, ya que al penetrar en las raíces causan cambios fisiológicos en los tejidos, lo que facilita la acción de los hongos, bacterias y virus que habitan el suelo.

Entre los nemátodos fitoparásitos las especies del género *Meloidogyne* producen agallas en raíces, reduciendo su capacidad de absorción de agua y de los nutrientes disponibles en el suelo. Por tratarse de parásitos muy pequeños, normalmente pasan desapercibidos, así como el daño que producen, hasta que éste se expresa en la parte aérea de las plantas, con pérdida de vigor, reducción de largo de brotes, entrenudos cortos, hojas más pequeñas, clorosis, marchitamiento en horas de mayor calor, entre otros.

La persistencia de las especies de *Meloidogyne* en el suelo, los daños que causan en la producción y los costos relativamente elevados de su control cultural y químico, hacen que la creación de nuevas alternativas de control resulten atractivas para el sector agrícola, especialmente porque algunos productos químicos son muy cuestionados por sus efectos ambientales.

El control biológico de nemátodos fitoparásitos, así como las prácticas de manejo integrado de los mismos, son medidas que cada día adquieren mayor importancia en Chile, ya sea por la necesidad de efectuar una producción

ecológicamente mas compatible y sustentable, como por las exigencias del mercado interno y externo en los productos hortofrutícolas.

Debido a lo anterior, se han realizado diversos estudios con el fin de buscar alternativas de control eficiente y compatible con el medio ambiente. De estos estudios se deriva que existen muchas plantas con efectos antagonistas a nemátodos, entre las cuales destacan las que presenten altas concentraciones de aceites aromáticos, como también taninos y fenoles en sus tejidos. Son estas características, también presentes en especies arbóreas y arbustivas de la zona sur de Chile, las que plantean la posibilidad de encontrar compuestos aleloquímicos que presenten actividad nematicida hacia el nemátodo de las agallas radiculares *Meloidogyne hapla* en el tejido foliar de especies nativas y naturalizadas.

La presente investigación tiene por objetivo general:

Evaluar la actividad nematicida sobre *Meloidogyne hapla* de extractos acuosos de ocho especies arbustivas y arbóreas comunes de la zona sur de Chile.

Los objetivos específicos son:

Establecer la actividad nematicida de extractos acuosos del follaje seco de: *Luma apiculata* Burret (arrayán), *Drymis winteri* J.R. Foster (canelo), *Maytenus boaria* Mol. (maitén), *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stunz, (maqui), *Gevuina avellana* Mol (avellano), *Ugni mollinae* Moll (murta), *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto) y *Buddleja globosa* Hoppe (matico).

Evaluar *in vitro* los extractos acuosos foliares de las especies vegetales en estudio, en diferentes concentraciones, sobre huevos y juveniles infestivos de *Meloidogyne hapla*.

Determinar la capacidad infestiva de juveniles II de *M. hapla* expuestos a extractos acuosos del tejido seco de las especies evaluadas sobre plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum mill*).

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Características generales

Los nemátodos tienen un aspecto vermiforme, pero taxonómicamente son bastante distintos de los verdaderos gusanos (AGRIOS, 1996). La mayoría de las varias miles de especies de nemátodos viven libremente en gran número en aguas saladas, dulces, o en el suelo, alimentándose de plantas y animales microscópicos. Numerosas especies de ellos atacan y parasitan al hombre y a los animales, en los que producen diversas enfermedades. Sin embargo, se sabe que varios centenares de especies se alimentan de plantas vivas en las que producen una gran variedad de enfermedades (AGRIOS, 1996; BRIDGE y WILLIAMS, 2002).

SASSER (1989), menciona que los nemátodos son animales simétricos, no segmentados, incoloros y cubiertos por una cutícula, lisa u ornamentada, dependiendo de la especie; el cuerpo típico es de forma alargada o fusiforme y en algunas especies ocurre un marcado dimorfismo sexual. Las hembras adultas de ciertas especies sedentarias pueden tener forma de limón, pera, arriñonada, u otro tipo de cuerpo esferoide, pero los machos conservan su forma y motilidad como la mayoría de las especies de nemátodos. Los nemátodos fitoparásitos varían en longitud; usualmente los machos son más grandes que las hembras. En general, carecen de patas u otros apéndices externos.

De acuerdo a MAI (1985), los nemátodos son organismos tubulares alargados, pequeños, usualmente de 1 a 2 mm de longitud y de 0,15 a ,35 μ de diámetro, lo cual impide que sean observables a simple vista, pero se pueden ver con facilidad en el microscopio.

2.2 Distribución

Los nemátodos fitoparásitos se encuentran distribuidos en todos los suelos donde haya plantas cultivadas o silvestres y prosperan si se mantienen sus requerimientos de hospederos, clima y suelos (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999).

Se establecen en forma pasiva, a través de semillas parasitadas, restos vegetales, del agua, viento, suelo adherido a las maquinarias y otros implementos agrícolas y, sobre todo, de plántulas infestadas (CHAVES, 2002).

AGRIOS (1996) y STARR *et al.* (2002), señalan que la mayoría de los nemátodos fitopatógenos viven parte de su vida en el suelo, aún en el caso de los nemátodos sedentarios especializados, los machos y las etapas larvarias preparásitas. La temperatura humedad y aireación del suelo afectan a la supervivencia y el movimiento de los nemátodos en él. De acuerdo a BEEN y SCHOMAKER (2006), los nemátodos se encuentran con mayor abundancia en la capa de suelo comprendida entre los 0 y 15 cm de profundidad, aunque su distribución en los suelos cultivados es irregular y es mayor en torno a las raíces de las plantas susceptibles, a las que en ocasiones siguen hasta profundidades de 30 a 50 cm o más.

2.3 Clasificación

Las especies de nemátodos fitoparásitos pueden ser clasificados en tres grupos de acuerdo a su hábito alimenticio (MAI, 1985). Los menos especializados son los ectoparásitos, los cuales tienen una forma primitiva de parasitismo. Estos permanecen fuera de la raíz y usan su estilete para alimentarse de las células epidermales o de las células más internas de la raíz. Con la excepción de unas pocas especies que se alimentan de ápices radicales, los nemátodos con este tipo de hábito alimenticio, generalmente causan un daño poco evidente al tejido vegetal (AGRIOS, 1996).

Otro grupo corresponde a los endoparásitos migratorios, los cuales penetran y se movilizan dentro del tejido vegetal para alimentarse, pudiendo abandonarlo y penetrar nuevamente al vegetal, causando una considerable destrucción de tejidos (BARRIA, 1997; BRIDGE y WILLIAMS 2002).

BRIDGE y WILLIAMS (2002), indican que el tercer y más importante grupo son los endoparásitos sedentarios, los cuales están altamente especializados en la relación de alimentación que establecen con sus hospederos. SASSER y CARTER (1985), señalan que estos nemátodos entran en las raíces como juveniles vermiformes y luego al comenzar a alimentarse, sus cuerpos comienzan a engrosar y van quedando inmóviles dentro de ellas.

2.3.1 Nemátodo del nudo de la raíz *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949. Los nemátodos del género *Meloidogyne* son endoparásitos sedentarios, inducen la formación de agallas en las raíces y otros órganos subterráneos, causando disminución del crecimiento de la parte aérea en sus hospederos, los que incluyen en su mayoría hortalizas, cereales y algunas especies arbóreas (DROPKIN, 1980). Debido a que las agallas se reconocen a simple vista, el nemátodo del nudo de la raíz es el más ampliamente conocido de los nemátodos fitoparásitos (AGRIOS, 1996).

Según HUSSEY y JANSSEN (2002), los nemátodos del nudo de la raíz, dañan a las plantas al debilitar las puntas de la raíz y al inhibir su desarrollo o estimular una formación radical excesiva, pero principalmente al inducir la formación de hinchamientos en las raíces, las cuales no solo privan a las plantas de sus nutrientes sino también deforman y disminuyen el valor comercial de muchas raíces de los cultivos.

2.3.1.1 Clasificación taxonómica de *M. hapla* Chitwood, 1949. SOUTHEY (1978), señala que todos los nemátodos fitoparásitos pertenecen al Phylum Nematoda y que la mayoría de los géneros parásitos importantes pertenecen al orden Tylenchida.

Phylum: Nematoda
Clase: Secernentea
Orden: Tylenchida
Suborden: Tylenchina
Superfamilia: Heteroderoidea
Familia: Meloidogynidae
Subfamilia: Meloidogyninae
Género: *Meloidogyne*
Especie: *Meloidogyne hapla*

2.3.1.2 Biología de *Meloidogyne sp.* Las especies del género *Meloidogyne*, sobreviven en el suelo como huevo y juvenil II (LUC *et al.*, 1990). Los huevos son depositados por las hembras maduras en una especie de saco de huevos, el que corresponde a una matriz gelatinosa adherida a la parte posterior del cuerpo y que es secretada por la hembra para proteger los huevos de la deshidratación (Willmott *et al.*, 1972 citado por BARRIA, 1997; BRIDGE y WILLIAMS, 2002).

El ciclo de vida de *Meloidogyne spp.* involucra cinco estados de desarrollo, que comienza con el desarrollo embriogénico dentro del huevo de lo cual resulta la formación del primer estado juvenil; éste posteriormente muda y da origen al segundo estado juvenil (II) dentro del huevo. El juvenil II eclosa del huevo y migra en el suelo buscando su alimento, siendo éste el único estado infectivo (SASSER y CARTER, 1985).

El juvenil II puede sobrevivir en el suelo bajo condiciones adversas en un estado de quiescencia por un cierto período de tiempo, el que dependerá de sus reservas alimenticias, disminuyendo su infectividad con la disminución progresiva de éstas (EVANS *et al.*, 1993).

Después el juvenil se mueve a través del suelo en busca de una raíz de la cual alimentarse y guiados por exudados que emanan las plantas desde la raíz, se va desplazando directamente hacia la punta de ésta (TAYLOR y SASSER, 1978).

HUSSEY y GRUNDLER (1998), afirman que los juveniles II logran penetrar a la raíz a través de heridas, provocadas por la acción de pinchar en forma sucesiva con el estilete las células corticales y en este proceso es ayudado por la incorporación de secreciones glandulares en las células vegetales entre las cuales se encuentran.

Los juveniles infestivos generalmente penetran a las raíces sobre la caliptra (TAYLOR y SASSER, 1978). Una vez que han ingresado, los juveniles infestivos migran en la raíz intercelularmente a través del tejido cortical hacia la región de diferenciación celular, para finalmente establecerse con su cabeza insertada en la periferia de los tejidos vasculares, mientras que su cuerpo queda en la región cortical paralelo al eje de la raíz (DROPKIN, 1980).

VOISIN *et al.* (1999) indican que cuando el hospedero es susceptible al nemátodo, responde a la penetración del estilete, e inyección de enzimas de éste, modificando las células las que comienzan a incrementar su división y crecimiento estimulando la formación de agallas (células gigantes); así una vez establecidos en el tejido, el juvenil aumenta su tamaño en un breve tiempo (DROPKIN, 1980).

La evolución continúa dentro de la raíz y los nemátodos pasan por los estadios juveniles o larvales tercero y cuarto (JIII y JIV); durante este proceso su cuerpo va ensanchando y forman los órganos reproductores hasta convertirse en adultos (RODRIGUEZ *et al.*, 1997).

En esta especie de hábito endoparásito sedentario, las hembras adultas son piriformes y pueden observarse asomando de las agallas, como resultado de la ruptura de la cutícula de las raíces (SASSER y CARTER, 1985). El macho es un parásito sedentario solamente durante su desarrollo larvario, por el contrario la hembra es sedentaria durante toda su vida, pues aquellos una vez llegados al cuarto estado de desarrollo se diferencian de las hembras, abandonan la cubierta larvaria y la raíz en forma de gusano delgado y sus hábitos de aquí en adelante no son bien conocidos (RODRIGUEZ *et al.*, 1997).

Según FERRIS *et al.* (1982), el número de juveniles que logra establecer un sitio de alimentación en la raíz se relaciona directamente con la susceptibilidad del hospedero y la competencia intraespecífica que ocurre en el momento.

DROPKIN (1980) indica que el ciclo de vida puede completarse entre 3 a 4 semanas, dependiendo, entre otros factores, de la temperatura del suelo. Para *M. hapla* y especies afines de clima frío el intervalo óptimo de temperatura puede ir desde 15° a 25° C (RODRIGUEZ *et al.*, 1997).

2.4 Efectos y daño de *M. hapla* en plantas

Los efectos de la infección de *Meloidogyne* spp. sobre el desarrollo de las plantas son bien conocidos. Por una parte se produce una deformación y reducción del sistema radicular, tubérculos y cormos. Las raíces de las plantas atacadas presentan los típicos nódulos, están poco o nada ramificadas y carentes de pelos radiculares. Por otra parte, decrece notablemente la eficiencia en la normal translocación de agua y nutrientes por obstaculación mecánica y como consecuencia ocurren las típicas marchiteces de las plantas infectadas (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999; RODRIGUEZ *et al.*, 1997).

Las agallas, producidas por una hipertrofia e hiperplasia celular en respuesta al ataque de las especies de *Meloidogyne*, traen como consecuencia plantas achaparradas o poco desarrolladas y un gran número de raíces en relación al vástago de la planta (SOUTHEY, 1978). SASSER y CARTER (1985), agregan que las plantas infectadas aumentan su susceptibilidad al estrés hídrico y además se incrementa la síntesis de proteínas en las agallas ocurriendo un trastorno en el normal transporte de sustancias entre raíces y sector aéreo. SOUTHEY (1978), señala que en un cultivo establecido las raíces con agallas son más fácilmente infectadas por otros microorganismos patógenos, que raíces sanas. Existe evidencia de que los exudados producidos por raíces infectadas, afectan la microflora de la rizosfera de la planta.

De acuerdo a TAYLOR y SASSER (1983) y HUSSEY y JANSSEN (2002), los efectos de la infección causada por las especies de *Meloidogyne* en el crecimiento de las plantas, pueden clasificarse en efectos físicos, como el acortamiento y deformación de las raíces y la disminución de la eficiencia radicular; por otro lado, esta infección trae consigo efectos fisiológicos en la planta como la pérdida de eficiencia radicular o la reducción en crecimiento y rendimiento. Un tercer efecto sería la predisposición a otras enfermedades, debido a que las especies de *Meloidogyne* hacen más susceptible a las plantas para la infección provocada por hongos y bacterias.

Así, la mayor parte del daño que los nemátodos de las agallas radicales causan a las plantas está relacionado con el proceso de alimentación, pues disminuye la capacidad de las raíces para captar y transportar nutrientes al resto de la planta, lo que se traduce en un debilitamiento general y en pérdidas de producción (CHRISTIE, 1974).

En general, los efectos de los nemátodos parásitos de plantas sobre los cultivos se subestiman, situación que ocurre también en el caso de las especies de *Meloidogyne*, debido a los síntomas inespecíficos que producen, suelen confundirse con desordenes nutricionales, estrés hídrico, problemas de fertilidad del suelo, así como con otras infecciones secundarias causadas por hongos y bacterias (HUSSEY, 1985). No obstante, estimaciones de diversas fuentes sugieren que los nemátodos fitoparásitos reducen la producción agrícola mundial en un 11% aproximadamente (ANDRES, 2003; AGRIOS, 1996). Los nemátodos son especialmente problemáticos

en condiciones marginales de suelo o irrigación, es decir, en suelos muy arenosos o demasiado arcillosos, en perfiles poco profundos, cuando el agua es un factor limitante y cuando las prácticas agrícolas no son las adecuadas (marcos de plantación demasiado altos, monocultivos y rotaciones con varios cultivos susceptibles al mismo nemátodo) (MONTEALEGRE, 2005).

2.5 Control de nemátodos.

El objetivo de realizar un control de nemátodos fitoparásitos, es disminuir la densidad de población de la plaga existente, de manera que no provoque un daño económico importante (SANCHEZ, 2006). La forma tradicional de enfocar este problema en los huertos ha sido por medio de productos sintéticos (métodos químicos con la aplicación de distintos productos nematicidas) (ABALLAY, 2005).

Debido a los problemas presentados por los métodos tradicionales de control y al aumento de las regulaciones de prácticas agrícolas, se ha acentuado la tendencia a buscar y emplear otras alternativas que sean más sustentables y menos dañinas para el manejo de las plagas, como por ejemplo el Sistema de Manejo Integrado, en el cual se busca una producción rentable y de alta calidad, dando prioridad a la aplicación de métodos ecológicamente más seguros, minimizando la utilización de agroquímicos y sus efectos secundarios negativos con el fin de dar protección al medio ambiente y a la salud humana (STIRLING y STIRLING, 2003; ABALLAY, 2005).

2.5.1 Control tradicional. Los nematicidas frecuentemente son una alternativa atractiva para el control de nemátodos fitopatógenos y son usados con objeto de obtener buenas cosechas en calidad y cantidad. Corrientemente los nematicidas disponibles no tienen un amplio espectro de nemátodos sobre los cuales actuar y ven interferida su acción por otros aspectos, como características del suelo y aspectos pluviométricos (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999). Por otro lado según CHITWOOD (2002), estos productos pueden presentar otros problemas al ser altamente tóxicos, persistentes, y poseer compuestos que pueden contaminar el agua y el suelo, representando un riesgo potencial para los organismos benéficos y el medio ambiente, desequilibrando el ecosistema y ocasionando cambios en la flora y fauna; además, ABALLAY (2005), agrega que pueden generar resistencia y su uso es generalmente de alto costo.

De acuerdo a Marban y Thomason (1985) citados por PARADA y GUZMAN (1997), los nematocidas actúan inhibiendo la actividad neuromuscular, reduciendo con ello la capacidad de movimiento; como éstos no causan directamente la muerte de los nemátodos, a tales productos se les denomina como “nematásticos” o “nematistáticos”, ya que inhiben la capacidad de movimiento y alteran al mismo tiempo la infección, eclosión y alimentación. SOUTHEY (1978), señala que en el caso del género *Meloidogyne*, los juveniles II pueden soportar prolongados períodos de hambruna, pero con el tiempo, los nemátodos así afectados mueren al agotarse sus reservas o al ser fácil presa de sus enemigos naturales, afectando de esta manera la tasa de reproducción.

2.5.2 Rotación de cultivos. La rotación de cultivos con especies no susceptibles, y los cultivares resistentes, son también utilizados para el control de estos parásitos (AGRIOS, 1996). La rotación de cultivos es una medida eficaz de manejo cuando se dispone de cultivos alternos no hospedantes (CHAVES, 2002). Un buen ejemplo se puede dar con el nemátodo dorado de la papa *Globodera rostochiensis* que sólo es capaz de sobrevivir en tres especies de plantas cultivables hospederas: papa, tomate y berenjena, en consecuencia es relativamente fácil encontrar cultivares para realizar una rotación (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999). Para las especies de *Meloidogyne*, este tipo de control es más dificultoso porque la mayoría de los nemátodos formadores de nódulos de la raíz tienen un rango amplio de hospedantes (SASSER y CARTER, 1985). Otro problema que presenta *Meloidogyne* es su alta tasa de reproducción, ya que en corto tiempo es capaz de recuperar los niveles poblacionales altos, y superar los niveles poblacionales mínimos de daño (CHAVES, 2002; SASSER, 1989).

En estudios realizados en Cuba por GOMEZ y RODRIGUEZ (2005), se utilizó un esquema de rotación de cultivos donde el cultivo principal fue el tomate. Los cultivos empleados en la rotación se plantaron después del cultivo principal en el orden siguiente: acelga-lechuga (planta trampa)-col y tomate. Las poblaciones de nemátodos formadores de agallas se redujeron de 20-30 j_2/cm^3 de suelo a 2-3 j_2/cm^3 , probablemente influenciado por la extracción de un gran número de estos conjuntamente con las raíces de lechuga. Según Cuadra *et al.* (2000) citado por GOMEZ y RODRIGUEZ (2005), al mantener este cultivo solamente 25- 28 días en el suelo, más del 90% de los juveniles que penetran a la raíz son eliminados del sustrato,

antes de concluir su ciclo de vida, pues los nemátodos presentes en las raíces infestadas no se encuentran todavía en la etapa reproductiva. Además, se detectó la presencia de poblaciones mezcladas de *M. incognita* y *M. arenaria* en la misma área de cultivo, la primera predominando en las raíces de tomate y la segunda en las de acelga y col.

Estos resultados demuestran que la rotación de cultivo, aún en presencia de poblaciones mezcladas es favorable para la disminución de las poblaciones de *Meloidogyne spp.* Por otra parte, estos resultados, ayudan a comprender la importancia del diagnóstico como herramienta fundamental en la implantación de los métodos de control de este género, así como a considerar la variedad de poblaciones de diferentes especies que se puedan encontrar cohabitando en un área determinada para establecer esquemas de rotación eficaces empleando cultivares menos susceptibles o resistentes (GOMEZ y RODRIGUEZ, 2005).

PIEDRA BUENA *et al.* (2005), determinaron una clara asociación entre el monocultivo de tomate y la presencia de poblaciones virulentas de *M. incognita*. Por su parte, Kaloshian *et al.* (1996), Verdejo *et al.* (1997), Tzortzakakis *et al.* (1998, 1999) y Castagnone (2002) citados por PIEDRA BUENA *et al.* (2005), sugieren que el monocultivo con plantas resistentes actúa sobre las poblaciones de nemátodos ejerciendo una presión de selección que hace prevalecer a los genotipos virulentos.

En la actualidad, están siendo investigadas otras alternativas de control que sean ecológicamente benignas y sustentables. Una de estas alternativas está basada en la actividad alelopática que presentan algunas plantas, lo que ha suscitado un creciente interés en los últimos años (HALBRENDT, 1996).

2.5.3 Uso de plantas antagonistas. Se han reportado numerosas especies de plantas, representando varias familias botánicas, que producen compuestos nematicidas, las que se denominan como plantas nematicidas o como plantas antagónicas a los nemátodos (CHITWOOD, 2002). En agricultura es factible usar algunas de estas plantas antagónicas para el manejo de nemátodos, tanto en rotaciones, como en cultivos en cobertera, en entre hileras, enmiendas o abono verde en suelos cultivables (HALBRENDT, 1996; ABALLAY e INSUNZA, 2002).

Las plantas antagónicas mas estudiadas en los sistemas de cultivo son especies del genero *Tagetes* y algunas Asteráceas, entre ellas especies de cosmo, gaillardia, zinnia (Winoto,1969; Gommers, 1973; Bano *et al.*,1986 citados por ABALLAY e INSUNZA, 2002) y Brassicáceas (Crucíferas) como el raps (*Brassica napus* L.), mostaza (*Sinapis alba* L.), rábano forrajero (*Raphanus sativus* L.) (Halbrendt, 1992, 1993 citado por ABALLAY e INSUNZA, 2002).

La familia de las Asteráceas ha mostrado tener una efectiva acción nematóxica en algunas partes de las plantas como hojas, tallos, frutos y semillas. Es así como en algunas especies se ha encontrado una mayor propiedad nematocida en la parte aérea de estas plantas que en la radicular (ABALLAY, 2005).

También se han estudiado algunas Brásicas como *Brassica napa*, *Ricinus comunis*, *Asparagus officinalis*, *Sesamun oriental*, y algunas Fabaceas como *Crotalaria spp.*, *Stizolobium deernigianum*, *Cassia fasciculata*, las cuales poseen un efecto nematocida y no son buenas hospederas de nemátodos fitoparásitos, por lo cual pueden ser utilizadas en rotaciones, abonos verdes, cultivos intercalados o de cobertera, o como enmiendas (ABALLAY, 2005).

Otros estudios, han mostrado que *Brassica napa* puede reducir poblaciones de nemátodos fitoparásitos y que esta reducción es mayor si el cultivo es incorporado como materia verde. Esta actividad nematocida es atribuida a la producción de compuestos tóxicos cuando estas plantas son dañadas o descompuestas, donde algunos compuestos glucosinolatos son responsables de esta reacción. Los glucosinolatos no son tóxicos hasta que entran en contacto con la enzima mirosinasa, la cual se encuentra dentro de los tejidos de la planta. El daño a estas plantas permite que la enzima y los glucosinolatos entren en contacto, hidrolizándolos, llevando a la producción de sustancias tóxicas principalmente isothiocianatos y nitrilos. Los glucosinolatos difieren entre las especies y cultivares de Brassicaceas y su concentración varía con la parte, edad y nutrición de la planta, por lo tanto la actividad biológica de los glucosinolatos va a depender del tipo y de la concentración de éstos (ABALLAY, 2005).

INSUNZA *et al.* (2001), evaluaron la actividad nematocida de 30 especies de plantas (nueve nativas y 21 naturalizadas en Chile) en una población de *Xiphinema americanum sensu lato*. Se probaron extractos acuosos de material vegetal fresco y material vegetal secado al aire libre. La actividad nematocida se evaluó según la motilidad de los nemátodos luego de 24 y 48 horas de exposición a los extractos, seguido de 24 horas de agua destilada. La inmovilidad de los nemátodos se observó luego de 24 horas con los extractos de *Tagetes erecta*, *T. patula nana*, *Zinnia elegans*, *Asparagus officinalis*, *Brassica campestris*, *Calendula officinalis*, *Melissa oficinalis*, *Plantago major*, *Ruta graveolens*, *Thymus serpyllum*, y de las plantas nativas chilenas *Aristotelia chilensis*, *Cestrum parqui*, *Oenothera affinis*, *Oxalis rosea*, *Stachys albicaulis*, *Quillaza saponaria* y *Vestia lycioides*. Después de 48 horas de exposición, la inmovilidad de los nemátodos se observó con la totalidad de las plantas utilizadas; estos resultados confirman estudios anteriores sobre las propiedades nematocidas de las 30 plantas evaluadas.

De estudios realizados por ABALLAY e INSUNZA (2002), se desprende que el uso de raps (*Brassica napus*) como abono verde es una herramienta factible de utilizar para el control de *Xiphinema index* y probablemente de otros nemátodos fitoparásitos que afectan a la vid en Chile, disminuyendo con ello el uso de nematocidas órgano-sintéticos.

En Puerto Rico, se evaluaron cuatro enmiendas orgánicas (mucura, kudzu, corteza de pino y urea-N) para el manejo de *Meloidogyne incognita*. Las enmiendas fueron aplicadas al suelo en dosis de 0 y 5% y el suelo fue sembrado con soya (*Glycine max*). El experimento duró diez semanas, tras las cuales se determinó que la mayoría de las enmiendas fueron efectivas en reducir la nodulación de la raíz e incrementaron la población de nemátodos no parásitos. La actividad de la ureasa fue estimulada en proporción a las dosis de enmiendas utilizadas y hubo una supresión de *M. incognita* en los suelos enmendados (CHAVARRIA y RODRIGUEZ, 1998).

INSUNZA y VALENZUELA (1995), evaluaron el efecto nematocida potencial de 18 plantas de la flora chilena sobre ajo (*Allium sativum*), infectado con *Ditylinchus dipsaci*. Los dientes de ajo provenientes de predios infestados fueron tratados durante 24 horas por inmersión en los extractos de plantas obtenidos a partir de material

vegetal fresco o secado al aire. Al momento de la cosecha (luego de 14 semanas en condiciones de campo), se encontró que los extractos frescos de hojas de *Plantago major* y *Ruta graveolens*, controlaron totalmente al nemátodo y dieron los mejores resultados en cuanto a calidad de las plantas. Extractos de *Aristotelia chilensis*, *Chenopodium ambrosioides* y *Ovidia pillopollo*, redujeron las densidades finales del nemátodo y los síntomas de la enfermedad comparados con las plantas sin tratar.

2.5.3.1 Compuestos alelopáticos presentes en plantas. De acuerdo a MOREND (1999), los vegetales producen dos tipos de componentes químicos, los metabólicos primarios (proteínas, glúcidos y lípidos) que derivan de la fotosíntesis y los metabólicos secundarios, que derivan de la asimilación del nitrógeno. Estos últimos ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, que reduce el desequilibrio orgánico propio de una enfermedad.

A juicio de Ciudad (2000), citado por SEPULVEDA (2003), los metabolitos secundarios, fenólicos, terpénicos y nitrogenados no proteicos (alcaloides), constituyen la parte esencial de los mecanismos de defensa y subsistencia de las plantas. Algunos de ellos pueden utilizarse en agricultura para mejorar la resistencia al ataque de plagas en la elaboración de plaguicidas biorracionales.

Varias especies de plantas liberan compuestos alelopáticos a través de la volatilización, exudación de las raíces, o de la disolución y descomposición de las plantas o residuos. Muchos de estos compuestos son nematódicos o nematostáticos sobre distintas especies de nemátodos fitoparásitos. Estos compuestos pueden ser biocidas, o interferir de otras formas en el ciclo vital del nemátodo (Gommers y Backer, 1988; Alam *et al.*, 1990; Chitwood, 1992; Sukul, 1992 citados por ABALLAY e INSUNZA, 2002).

Según ABALLAY (2005), los compuestos de estas plantas además pueden interferir en la localización del hospedero, reconocimiento, alimentación y actividad reproductiva. Estos componentes pueden tener más de un modo de acción, los que interactúan interfiriendo en el desarrollo del nemátodo. Pueden tener efectos indirectos sobre la planta hospedera, ya sea estimulando el crecimiento de la planta, aumentando

la tolerancia al ataque o también gatillando un aumento en la reacción de defensa en el hospedero.

2.5.4 Otras técnicas de control. Otras técnicas menos utilizadas son la desinfección del suelo con vapor inyectado a presión y la solarización (CHAVES, 2002). La solarización es especialmente efectiva en zonas donde se alcanzan temperaturas ambientales altas y en las que durante la noche la temperatura se mantiene sin grandes variaciones; las temperaturas letales son en general mayores a los 50 °C (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999).

2.6 Descripción de las especies evaluadas.

HALBRENDT (1996), afirma que algunas plantas poseen o liberan compuestos con interesantes efectos sobre los nemátodos fitoparásitos. Existen unas 2.400 especies de plantas con propiedades plaguicidas a escala mundial, de las cuales 350 tendrían acción nematicida y estarían en Chile.

2.6.1 Arrayán (*Luma apiculata* Burret). De acuerdo a RODRIGUEZ *et al.* (1983); es un árbol de la familia Myrtaceae de hasta 20 m de altura, cuya principal característica es su corteza rojiza, ferrugínea, que se desprende dejando pedazos más claros y sus hojas aromáticas. Es un árbol endémico de los bosques subantárticos de Chile, formando parte de la selva valdiviana. HOFFMANN *et al.* (1992), afirman que se distribuye desde la Provincia de Valparaíso (V región) hasta la Provincia de Aysén (XI región), entre el nivel del mar hasta los 1.000 m.s.n.m. Según los autores anteriores, los principios activos son aceite esencial, taninos, resinas, la esencia se compone de a-b apineno, cíñelo y mirtol. Además, se han encontrado flavonoides, quercitina, camferol y miricetina (HOFFMAN, 1992).

2.6.2 Canelo (*Drymis winteri* J.R. Foster). Pertenece a la familia Winteraceae, alcanza hasta 25 m de altura y 1 m de diámetro, posee una copa de forma piramidal, con hojas simples verde pálidas en el haz y glaucas en el envés (CAMPOS, 1998). Es un árbol endémico de los bosques subantárticos que crece desde el río Limarí (IV región) hasta el Archipiélago del Cabo de Hornos (XII región). Se distribuye en ambas cordilleras, desde el nivel del mar hasta los 1.700 m.s.n.m., preferentemente en lugares húmedos y pantanosos, a orillas de ríos o esteros (RODRIGUEZ *et al.*, 1983).

Según HOFFMANN *et al.* (1992), los principios activos son Vitamina C, cuya concentración en la corteza del árbol es superior incluso a la de los frutos del naranjo y limón, también presenta aceite esencial (compuesto por ascaridol, limoneno, eugenol, pineno, entre otros). Además presenta varios terpenoides, taninos y flavonoides tales como cirsimarina, taxifalina, quercitina, kamferol, y rutina (VARAS, 2004; SOSA, 2004).

2.6.3 Maitén (*Maytenus boaria* Mol). Según CAMPOS (1998), esta especie de la familia Celastraceae puede alcanzar de 20 a 25 m de altura y hasta 1 m de diámetro, posee ramas delgadas y colgantes, con hojas simples, aserradas, y flores pequeñas y amarillentas.

RODRIGUEZ *et al.* (1983) y HOFFMANN (1992), mencionan que se distribuye entre la Provincia de Huasco (III región) y la Provincia de Chiloé (X región), en ambas cordilleras y en el valle central, entre los 15 y 1.800 m.s.n.m., en lugares más o menos secos.

El maitén ha sido bastante estudiado desde el punto de vista fitoquímico y farmacológico, de las hojas y tallos se han extraído principios activos tales como daucosterina, dulcitol, lupenona, beta amyrina, ácido oleanoico, beta sitosterol y alfa spinasterol. En las raíces se han encontrado flavonoides, esteroides, azúcares y taninos (HOFFMANN *et al.*, 1992).

2.6.4 Maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stunz). COSME (2003), describe esta especie como un pequeño árbol siempre verde, de unos 4 a 5 metros de altura, posee ramas delgadas y flexibles, de corteza lisa, hojas opuestas, de forma oval y de borde aserrado; su fruto es una baya de color negro. Esta especie crece desde Limarí hasta Aysén, tanto en el valle central como en los faldeos de ambas cordilleras, encontrándose desde casi el nivel del mar hasta los 2.500 m.s.n.m. (RODRIGUEZ *et al.*, 1983).

Los principios activos aislados en esta especie son alcaloides y taninos, especialmente en los frutos (HOFFMANN *et al.*, 1992).

2.6.5 Avellano (*Gevuina avellana* Mol). Es una especie endémica y género monotípico de los bosques subantárticos de Chile, el árbol puede llegar hasta 20 m de alto con 60 cm de diámetro, sus hojas son siempre verdes (HOFFMANN, 1991; RODRIGUEZ *et al.*, 1995; MEDEL *et al.* 2003). Según MEDEL y MEDEL (2000), su distribución geográfica está restringida entre los paralelos 35° y 44° latitud sur, desde el río Tenoy Mataquito hasta las Islas de las Guaitecas, abarcando un amplio territorio.

PAREDES (1976), logró aislar robinina de hojas y ramas de avellano.

2.6.6 Murta (*Ugni mollinae* Moll). Arbusto de hasta dos metros de altura, pubescente en brotes nuevos con tricomas de color blanco. La epidermis rojiza se vuelve café amarillenta con el tiempo. Las hojas son ovadas y de ápice agudo, lámina coriácea con el envés más claro y los márgenes resolutos (MONTES y WILKOMIRSKY, 1985). Posee flores solitarias generalmente pentámeras y fragantes, los frutos de color rojo oscuro miden alrededor de un centímetro de diámetro. La murta crece en lugares relativamente secos a húmedos desde Linares y Maule a Chiloé (HOFFMANN *et al.*, 1992).

Estudios realizados por AGUIRRE *et al.* (2004), a partir de hojas de murta demostraron la presencia de actividad antioxidante de distintos compuestos del tipo triterpenoides y flavonoides además, indicaron la presencia de taninos. Los principios activos antiinflamatorios tópicos identificados fueron ácido oleanólico, ácido ursólico y ácido asiático.

2.6.7 Eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill). Según MONTES y WILKOMIRSKY (1985), este árbol puede alcanzar hasta 60 metros de altura, tiene una corteza blanquecina que se desprende fácilmente en tiras en los ejemplares adultos. Sus frutos son como una cápsula campaniforme de color blanco, cubierta de un polvo blanquecino, de 1,4 a 2,4 cm de diámetro.

El eucalipto es sensible a las sequías prolongadas y se desarrolla mejor en suelos ligeramente ácidos y frescos. Este árbol es también medicinal, ya que sus hojas contienen aceites que al ser destilados se destinan a las industrias químico farmacéuticas y de confitería (MONTES y WILKOMIRSKY, 1985). De sus hojas

también se han identificado flavonoides como kamferol, luteolina, myricetina, quercitina y rutina (VARAS, 2004).

Su distribución es desde la ciudad de Copiapó, en el norte del país, hasta la Isla de Chiloé en el extremo sur. Entre dichas latitudes existen suelos y climas extremadamente diferentes, lo que habla de la gran capacidad de adaptación de esta especie (MONTES y WILKOMIRSKY, 1985).

2.6.8 Matico (*Buddleja globosa* Hoppe). Esta especie perenne puede llegar hasta los 3 metros de altura, posee hojas opuestas, entre 10 a 15 cm de largo, lanceoladas y de borde almenado, rugosas en la cara superior y pilosas en la parte inferior de ellas (HOFFMANN *et al.*, 1992). Los autores anteriores afirman que es una especie medicinal, la cual crece en forma silvestre en cerros y quebradas entre Santiago y Chiloé.

VARAS (2004), logró identificar en hojas de matico luteolina, myricetina y rutina.

3 MATERIAL Y METODO

3.1 Materiales

A continuación se describe el material utilizado en la investigación y posteriormente se presenta la metodología aplicada.

3.1.1 Material vegetal. El material vegetal utilizado en el ensayo corresponde a tejido foliar de arrayán, avellano, canelo, maitén, maqui, matico, eucalipto y murta, además de semillas de tomate (*L. esculentum*) cv. "Cherry".

3.1.2 Material de laboratorio. Para el desarrollo del ensayo se utilizó diverso material de laboratorio como son: bandejas, frascos de vidrio, palas manuales, portaobjetos, cubreobjetos, vasos de precipitado, pipetas, probetas, placas Petri, tubos de ensayo, rejillas porta tubos. También material fungible como: bolsas de papel, lápices marcadores, etiquetas, cinta de papel engomada, tamices, toalla Nova, vasos plásticos de 200 cc.

3.1.3 Reactivos. El único producto químico usado en el ensayo fue hipoclorito de sodio (Clorox^{MR} 4,9 %).

3.1.4 Sustrato. El sustrato para el crecimiento de las plantas se preparó con suelo orgánico obtenido de una pila de acumulación de residuos vegetales en la Estación Experimental Santa Rosa, y arena de río lavada, en una proporción de 1:1 y esterilizado en autoclave a 120 atmósferas por 15 minutos.

3.1.5 Equipamiento. Durante el ensayo se utilizaron: tamices de bronce de diferente graduación, refrigerador, lupa estereoscópica, microscopio, cámara bioclimática y micropipetas.

3.1.6 Inóculo de *Meloidogyne hapla*. Se utilizó como inóculo huevos y juveniles II de *Meloidogyne hapla* Chitwood 1949, extraídos de plantas de peonía infestadas (especie previamente identificada).

3.2 Método

La metodología desarrollada en el ensayo se presenta a continuación.

3.2.1 Especies vegetales a evaluar. Durante el mes de marzo de 2007, se seleccionaron tres árboles o arbustos vigorosos de cada una de las especies a evaluar: arrayán, avellano, canelo, maitén, maqui, matico, eucalipto y murta, a partir de árboles y arbustos establecidos en el sector Isla Teja (Arboretum y Campus Isla Teja, Universidad Austral de Chile), en los alrededores de Valdivia. De cada especie se cortaron brotes del sector medio de las plantas, tomando solamente aquellos que presentaban hojas completamente expandidas en la temporada.

Las hojas de cada especie se dejaron secar sobre bandejas y a temperatura ambiente por varios días. Posteriormente se molió (partículas de 1 mm) y fue guardado, e identificado en frascos de vidrio y mantenidos en una sala fría en oscuridad.

3.2.2 Preparación de los extractos. Se utilizó un extracto base de cada especie el cual se evaluó en base a dos concentraciones: 50 y 100% preparadas con agua destilada estéril; el testigo correspondió a la concentración 0% (solo agua destilada). El extracto base de cada especie se preparó mezclando en un matraz de 250 mL de capacidad, 4 g de tejido finamente trozado en 100 mL de agua destilada estéril y dejando en agitación a 160 rpm en un agitador orbital (marca Barnstead) durante 24 horas a temperatura ambiente. Luego esta suspensión se filtró a través de papel filtro (Whatman) y se cubrió con un embudo plástico dispuesto sobre un matraz Erlenmeyer hasta que el filtrado dejó de escurrir. Para obviar problemas de contaminación, como esta solución no era estéril, en cada caso se utilizó en forma inmediata.

De cada extracto se determinó los siguientes parámetros: conductividad eléctrica, potencial osmótico y pH.

En el Cuadro 1 se muestra las características de conductividad eléctrica (dSm^{-1}) que fue determinada con un conductímetro diseñado en la Universidad Austral de Chile. También incluye el pH de las dos concentraciones de cada solución utilizada medido con un equipo Inolab pH 720. El potencial osmótico de los ocho extractos acuosos se determinó de manera indirecta a través de la fórmula utilizada por CASAS y CASAS (1999): $\text{PO} = 0,36 * \text{CE}$, donde el potencial osmótico del extracto es medido en atmósferas.

CUADRO 1 Características de pH, conductividad eléctrica y Potencial osmótico de las concentraciones utilizadas.

Especie	Concentración %	pH	Conductividad eléctrica (dSm^{-1})	Potencial osmótico (atm)
arrayán	100	4,64	1,87	0,673
	50	4,85	1,17	0,421
avellano	100	3,86	1,08	0,389
	50	4,31	0,56	0,203
canelo	100	3,84	1,45	0,522
	50	4,27	0,84	0,301
maitén	100	5,40	1,65	0,594
	50	5,54	0,95	0,340
maqui	100	4,00	1,25	0,450
	50	4,38	0,59	0,212
matico	100	4,22	1,75	0,630
	50	4,60	0,92	0,331
eucalipto	100	4,08	1,14	0,410
	50	4,40	0,68	0,243
murta	100	4,25	1,51	0,544
	50	4,56	0,80	0,288

3.2.3 Obtención de juveniles de *M. hapla*. Los juveniles necesarios para el ensayo se obtuvieron a partir de raíces de peonía infestadas con *M. hapla* y mantenidas en el laboratorio. Ello se realizó siguiendo la metodología tradicional para la extracción de inóculo de individuos del género *Meloidogyne* establecida por HUSSEY y BARKER (1973), que consigna los siguientes pasos: se separaran las raíces infestadas (se

cortan con tijera en trozos de 1 a 2 cm), para depositarlas en un frasco al que se incorporará 200 mL de una solución de NaOCl al 1% y se agita vigorosamente por cuatro minutos. Luego, el contenido del frasco se vierte sobre un set de tamices de 100, 270 y 500 mallas/pulgada (equivalentes a 150, 53 y 25 μ de abertura de poros respectivamente) lavando con agua corriente a presión suave y recuperando con una pisceta el residuo del tamiz más fino en un vaso de precipitado. La suspensión obtenida en éste último contenedor se afora a un volumen conocido de agua y previamente homogenizada, se toma una alícuota de 0,5 mL, la que se deposita en un portaobjetos para realizar el recuento de huevos y juveniles al microscopio.

El recuento se realizó tres veces promediando el resultado. En este caso se contaron por separado los huevos y juveniles para conocer la proporción de ambos en la suspensión.

Para realizar las pruebas del efecto de los distintos extractos en los huevos y juveniles del nemátodo se debió lograr una suspensión aproximada de 320 huevos y juveniles por mL.

3.2.4 Exposición de huevos y juveniles II a los extractos acuosos. En la investigación se evaluó la sobrevivencia y la capacidad infestiva que presentaban los propágulos (huevos y juveniles II) del nemátodo, después de ser expuestos a extractos acuosos de tejido seco de cada una de las especies vegetales en estudio, y su comportamiento en relación al tratamiento testigo (agua destilada estéril). Esta etapa se dividió en dos partes, llevadas a cabo en forma paralela.

3.2.4.1 Comportamiento *in vitro* de huevos y juveniles de *M. hapla* sometidos a los extractos acuosos. Del extracto de cada especie (ocho especies) y concentración (100 % y 50 %) se tomaron alícuotas de 5 mL las que se agregaron a placas Petri estériles (6 cm diámetro) previamente etiquetadas; a éstas se incorporó con micropipeta 160 huevos y juveniles de *M. hapla* (0,5 mL), del inóculo previamente preparado (punto 3.2.3). Cada extracto se dejó interactuar con los propágulos del nemátodo durante dos períodos de tiempo (24 y 72 hrs), disponiéndolos en una cámara climática a 20°C y oscuridad. El efecto de los extractos sobre los huevos y juveniles se evaluó

transcurridas 24 y 72 horas contabilizando el número de juveniles y huevos en cada placa.

Así los tratamientos a evaluar fueron 34: dos concentraciones (100 y 50%) de extracto acuoso de ocho especies vegetales, con dos tiempos de exposición del nemátodo (24 horas y 72 horas) más dos testigos (agua destilada estéril a 24 horas de interacción y agua destilada estéril a 72 horas de interacción).

Cada tratamiento contempló tres repeticiones, correspondiendo cada una de ellas a una placa Petri con 5 mL de extracto más 0,5 mL de inóculo (160 juveniles y huevos).

CUADRO 2 Distribución de tratamientos del ensayo *in vitro* (placas Petri).

Especies	Concentración		Tiempo exposición		Repeticiones
	100%	50%	24h	72h	
Arrayán	+	+	+	+	3
Canelo	+	+	+	+	3
Maitén	+	+	+	+	3
Maqui	+	+	+	+	3
Avellano	+	+	+	+	3
Murta	+	+	+	+	3
Eucalipto	+	+	+	+	3
Matico	+	+	+	+	3
Testigo	agua	agua	+	+	3

Transcurridas 24 y 72 horas de interacción, se agitó la placa para homogenizar la muestra y con una pipeta se tomó una alícuota de 0,5 mL de cada tratamiento y repetición, la que se depositó en un portaobjetos para realizar el recuento de huevos y juveniles al microscopio. Para ambos se consideraron vivos aquellos huevos que no mostraban deformación y los juveniles activos. De esta forma se logró comparar la composición de huevos y juveniles del nemátodo que presentaba la suspensión al momento y después de la exposición del inóculo a los extractos.

Es necesario recalcar que solo se realizó el recuento de huevos viables y juveniles vivos del nemátodo, por lo tanto todos los análisis de mortalidad de huevos y juveniles realizados en este ensayo corresponden sólo a estadística descriptiva y los datos graficados fueron obtenidos mediante la diferencia de los recuentos realizados.

3.2.4.2 Inoculación de plantas de tomate con propágulos de *M. hapla*. La segunda parte de la evaluación se realizó con plantas de tomate (5 cm de altura con a lo menos una hoja verdadera expandida), dispuestas individualmente en macetas de 200 cc capacidad, conteniendo como sustrato una mezcla de suelo y arena (1:1) esterilizado en autoclave. Cada planta fue inoculada con 440 huevos y juveniles, los que fueron inyectados con ayuda de una micropipeta a 2 cm de profundidad, en cuatro perforaciones distintas de la maceta alrededor de la planta. Posteriormente se realizó un riego suave. Una vez inoculadas y debidamente identificadas las macetas, se colocaron sobre placas de vidrio individuales para evitar contaminación cruzada a través del drenaje del riego.

3.2.4.2.1 Incorporación de extractos acuosos a las macetas inoculadas. Transcurridas 48 horas desde inoculadas de las plantas, a cada tratamiento y repetición se le incorporó con pipeta el extracto acuoso correspondiente (10 mL), de acuerdo a lo señalado en el Cuadro 3.

CUADRO 3 Distribución de tratamientos del ensayo en macetas.

Especies	Concentración		Repeticiones
	100%	50%	
Arrayán	+	+	10
Canelo	+	+	10
Maitén	+	+	10
Maqui	+	+	10
Avellano	+	+	10
Murta	+	+	10
Eucalipto	+	+	10
Matico	+	+	10
Testigo	agua	agua	10

Las macetas se llevaron a invernadero (20 °C), dispuestas sobre bandejas y distribuidas al azar durante 90 días, siendo cambiadas de lugar constantemente.

3.2.4.2.2 Estimación del efecto de los tratamientos en la capacidad infestiva del nemátodo. Transcurridos 90 días desde la inoculación, se revisó en el sistema radical de las plantas el desarrollo logrado por el nemátodo, tomando dos evaluaciones, índice de agallamiento y número de propágulos (huevos y juveniles) en raíces.

Para ello en primer lugar se separaron cuidadosamente las plantas del suelo. Las raíces se lavaron dentro de un vaso de precipitado para extraer la tierra adherida y se revisaron directamente bajo lupa para estimar el número de agallas desarrolladas y el porcentaje de raíces con agallas. Para lo anterior se tomó como referencia los índices de agallamiento de TAYLOR y SASSER (1978) y de HUSSEY y JANSSEN (2002), descritos en el Cuadro 4.

CUADRO 4 Índices de agallamiento de raíces de acuerdo a dos escalas comparables

Nivel	A*	B
0	sin agallas	sin agallas
1	1-2 agallas	algunas agallas pequeñas
2	3-10 agallas	< 25% de las raíces agalladas
3	11-30 agallas	25-50% de las raíces agalladas
4	31-100 agallas	51-75% de las raíces agalladas
5	más de 100 agallas	> 75% de las raíces con agallas

FUENTE: * (A) TAYLOR y SASSER (1978) escala numérica y (B) HUSSEY y JANSSEN (2002) escala porcentual.

Una vez finalizado esta evaluación las raíces de cada repetición y tratamiento se procesaron siguiendo el método de HUSSEY y BARKER (1973), descrito en el punto 3.2.3, para estimar el número de huevos y juveniles presentes, lo cual se realizó contabilizando bajo microscopio los individuos recuperados en la suspensión.

3.2.5 Diseño Experimental. Los diseños experimentales utilizados para este ensayo correspondieron a un arreglo factorial con tres fuentes de variación (especie, concentración de los extractos y tiempo de exposición) mas dos testigos ($8 \times 2 \times 2 + 2$) con tres repeticiones cada uno en la primera etapa y otro arreglo factorial con dos fuentes de variación (especie y concentración de los extractos) mas un testigo ($8 \times 2 + 1$) con diez repeticiones para la segunda etapa.

El test de comparación de medias usado para ambos diseños fue LSD (comparación múltiple). En el caso de los índices de agallamiento, como no poseen distribución normal, los análisis aplicados corresponden a estadística no paramétrica y se usó el test de Kruskal Wallis, realizándose comparaciones múltiples.

Para las comparaciones entre concentraciones de los extractos, se utilizó la prueba de t Student en todas las evaluaciones con excepción de los índices de agallamiento donde se aplicó el test de Mann Whitney.

Todos los análisis y test mencionados anteriormente, fueron realizados mediante el programa computacional Statgraphics Plus 5.1.

4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

A continuación se presentan y discuten los resultados obtenidos en el ensayo *in vitro* realizado en placas Petri y luego en el ensayo en macetas.

4.1 Ensayo *in vitro*.

Este ensayo tuvo por objetivo evaluar el efecto de la exposición directa de huevos y juveniles del nemátodo a las distintas concentraciones de los extractos acuosos.

4.1.1 Sobrevivencia de propágulos de *M. hapla* transcurridas 24 y 72 horas de exposición a extractos acuosos. Todos los tratamientos disminuyeron el número de propágulos (huevos + juveniles) sobrevivientes en las placas con respecto al testigo luego de 24 y 72 horas exposición, tanto para el 50% como para el 100% de concentración. En el Cuadro 5, se aprecia que hay una relación directa entre el tiempo de exposición y la sobrevivencia del propágulo debido a que conforme aumentan las horas de exposición, disminuye el número de individuos vivos. Esta tendencia de 24 a 72 horas coincide con estudios realizados por ADEGBITE y ADESIYAN (2005), donde la mortalidad de *M. incognita* aumentó en el 94% de los tratamientos luego de 12, 24 y 48 horas de exposición a extractos acuosos de las especies evaluadas.

Para las 24 horas de exposición las placas que contenían extractos de maqui, avellano y arrayán presentaron los menores promedios de sobrevivencia, logrando promedios de 50, 66,7 y 73,3 respectivamente en la concentración 100%, encontrándose diferencias significativas entre maqui y matico, eucalipto, canelo maitén y el testigo. Por otro lado, para el 50% de concentración, las placas con los extractos de maitén, canelo y eucalipto obtuvieron los promedios más bajos: 46,7, 63,3 y 63,3 respectivamente, encontrándose diferencias significativas entre maitén y arrayán, matico y el testigo (Cuadro 5).

CUADRO 5 Número de propágulo de *M. hapla* sobreviviente después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos.

Especie	24 horas de exposición		72 horas de exposición	
	100%	50%	100%	50%
Arrayán	73,3abc ¹ A ²	113,0 cd A	36,6ab A	96,6 de A
Canelo	103,3 bcd A	63,3ab A	53,3abcd A	46,6abc A
Maitén	136,0 de B	46,7a A	86,6 cde B	36,7ab A
Murta	90,0abc A	86,6abc A	26,5a A	36,6ab A
Matico	103,3 bcd A	160,0 e A	70,0abcde A	43,3abc A
Avellano	66,7ab A	70,0abc A	43,3abc A	30,0a A
Maqui	50,0a A	83,3abc A	46,7abc A	46,7abc A
Eucalipto	103,3 bcd A	63,3ab A	83,3 bcde A	46,6abc A
Testigo	140,0 de A	140,0 de A	104,0 e A	104,0 e A

1 Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según LSD < 0,05 entre las especies.

2 Letras distintas en la misma fila, para un mismo tiempo de exposición, indican diferencias significativas según t Student < 0,05 entre concentraciones.

Luego de 72 horas de exposición del inóculo a los extractos acuosos, murta y arrayán fueron las especies en que se obtuvo un menor promedio para 100% de concentración, con valores de 26,5 y 36,6 respectivamente, encontrándose diferencias significativas con maitén y el testigo. Con 50% de concentración avellano maitén y nuevamente murta presentaron los menores promedios de sobrevivencia del nemátodo: 30, 36,7 y 36,6 respectivamente, los que fueron significativamente menores que arrayán y el testigo (Cuadro 5).

En la Figura 1, que muestra la mortalidad del nemátodo a las 24 horas de manera porcentual, es fácil advertir que todos los tratamientos superaron ampliamente al testigo con excepción de matico con un 50% de concentración donde no hubo ningún control ni efecto sobre los propágulos ya que el número inoculado inicialmente se mantuvo hasta el final del ensayo.

Como se indicó anteriormente el control ejercido por las especies en comparación al testigo es destacable, ocho de los tratamientos controlaron por lo

menos a la mitad del propágulo inoculado, superando el 60% de mortalidad en cinco casos (arrayán, canelo, maitén y eucalipto al 50% de concentración, y maqui al 100% de concentración).

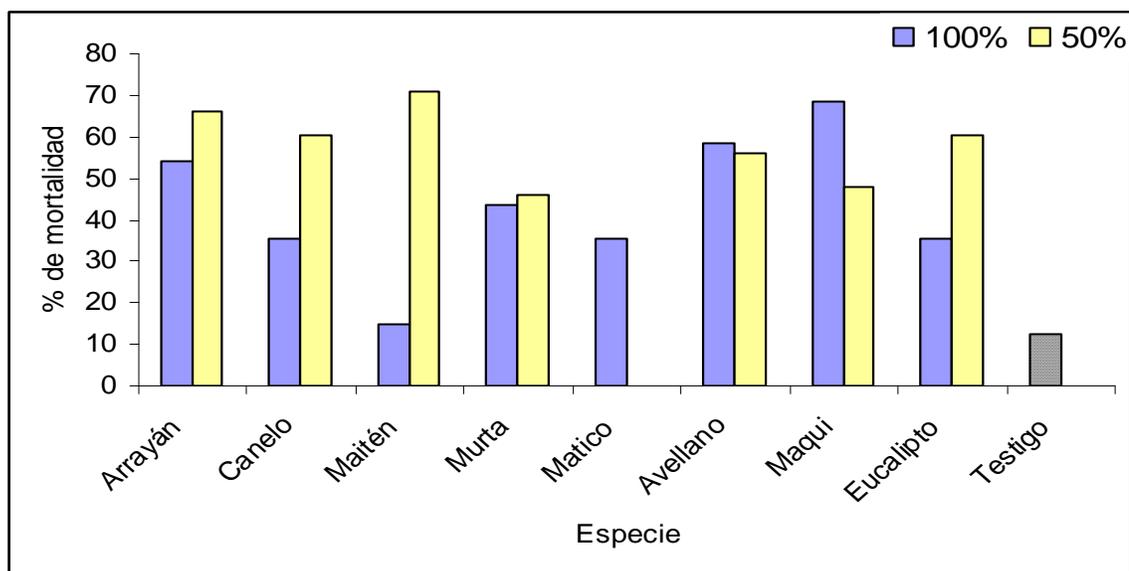


FIGURA 1 Porcentaje de mortalidad de propágulo de *M.hapla* transcurridas 24 horas de exposición a los extractos.

En la Figura 2, donde se presenta el porcentaje de mortalidad del nemátodo luego de 72 horas de exposición, se observa que en general hubo un alto efecto nematicida en todas las especies superando el 70% de mortalidad en 11 tratamientos, llegando incluso al 80% de mortalidad en murta al 100% de concentración y avellano al 50% de concentración. De acuerdo a estos resultados arrayán al 50% de concentración, fue el tratamiento menos efectivo en el control del nemátodo, pero aun así su efecto nematicida fue mejor que el obtenido por el testigo que no superó el 35% de mortalidad del propágulo.

Llama la atención, que sólo dos tratamientos, correspondientes a arrayán y murta en la mayor concentración, realizaron un mejor control sobre el nemátodo, provocando una mayor mortalidad, que con la concentración menor. Los tratamientos de canelo, maitén, matico, avellano y eucalipto al 50% de concentración provocaron mayor mortalidad de propágulo que al 100% de concentración (Figura 2).

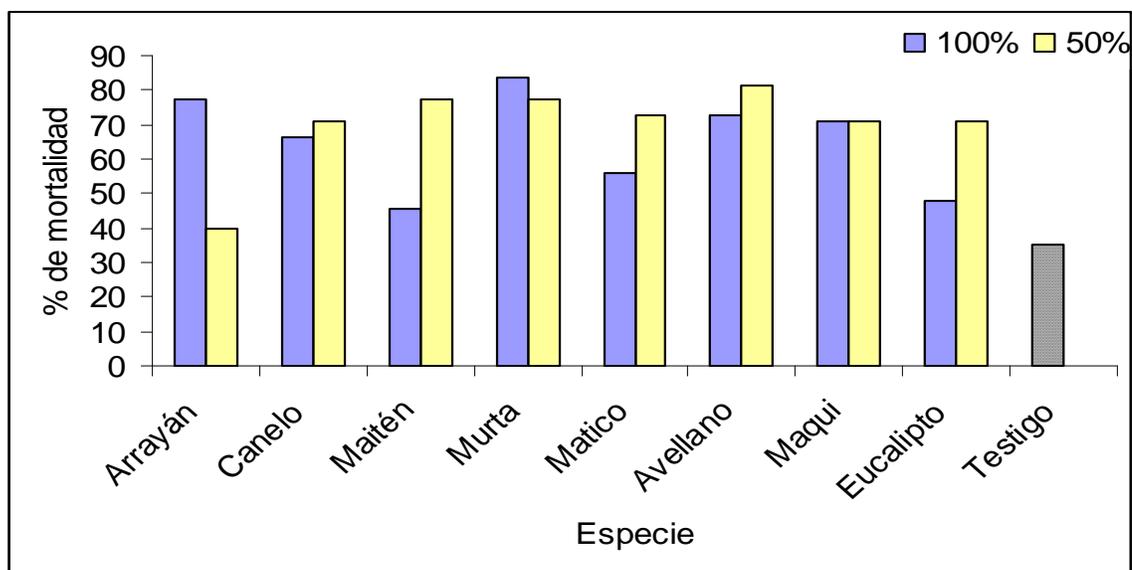


FIGURA 2 Porcentaje de mortalidad del propágulo transcurridas 72 horas de exposición a los extractos.

4.1.2 Sobrevivencia de juveniles de *M. hapla* en placas transcurridas 24 y 72 horas de exposición a los extractos. Cuando se evalúa la respuesta de los juveniles a las 24 horas de exposición a los extractos, el tratamiento que obtuvo un menor número de sobrevivencia fue maqui 100% con un promedio de 16,7 individuos y avellano para ambas concentraciones con un promedio 20 juveniles en cada una encontrándose diferencias significativas con el testigo. Por otro lado en la concentración del 50% los resultados fueron similares entre los extractos con excepción del extracto de matico cuyo número de juveniles fue significativamente superior a las otras especies y estadísticamente igual al testigo. Cabe señalar que en canelo 100% no se observó cambio alguno en el número de juveniles con respecto al testigo (Cuadro 6).

Los resultados anteriores son representados en la Figura 3 que indica porcentualmente la mortalidad de juveniles en cada tratamiento; aquí se puede apreciar claramente que de los 18 tratamientos aplicados 11 de ellos fueron capaces de controlar por lo menos al 50% de los juveniles inoculados, superando incluso el 70% de mortalidad en los tratamientos correspondientes a maqui 100%, avellano 100%, avellano 50% y eucalipto 50% de concentración.

CUADRO 6 Número de juveniles de *M. hapla* activos recuperados después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos.

Especie	24 horas de exposición				72 horas de exposición			
	100%		50%		100%		50%	
Arrayán	40,0abc ¹	A ²	30,0ab	A	13,3a	A	26,7ab	A
Canelo	56,7	cde A	33,3abc	A	26,7ab	A	33,3ab	A
Maitén	70,0	de B	30,0ab	A	36,7ab	A	20,0ab	A
Murta	23,3a	A	36,7abc	B	3,3a	A	0,0a	A
Matico	33,3abc	A	76,7	e B	0,0a	A	0,0a	A
Avellano	20,0a	A	20,0a	A	20,0ab	A	16,7ab	A
Maqui	16,7a	A	33,3abc	A	13,3a	A	10,0a	A
Eucalipto	50,0	bcd A	23,3a	A	56,7	b A	30,0ab	A
Testigo	56,7	cde A	56,7	cde A	23,3ab	A	23,3ab	A

1 Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según LSD < 0,05 entre las especies.

2 Letras distintas en la misma fila, para un mismo tiempo de exposición, indican diferencias significativas según t Student < 0,05 entre concentraciones.

En la Figura 3 llama la atención que los resultados obtenidos con la concentración mas baja, en cuatro de las especies fueron notablemente mejores que los con extractos al 100% de concentración; al respecto KHURMA y MANGOTRA (2004), concluyeron que la concentración de los extractos influye significativamente en la mortalidad de los juveniles II de *Meloidogyne*, en consecuencia, mientras más se diluye el extracto, menor es su efecto nematocida. Sin embargo, en el presente ensayo sólo se encontraron diferencias significativas (a las 24 hrs de exposición) entre las concentraciones de maitén, murta y matico, de las cuales murta y matico fueron mejores al 100% de concentración de sus extractos y maitén provocó un mayor control al 50% de concentración.

Por otro lado, MEYER *et al.* (2006) registraron que juveniles II de *M. incognita* fueron más sensibles que los huevos a los compuestos tóxicos en concentraciones más bajas (25% y 50%) de sus extractos acuosos, mientras que las concentraciones más altas (75% y 100%) fueron igualmente tóxicas para huevos como para juveniles.

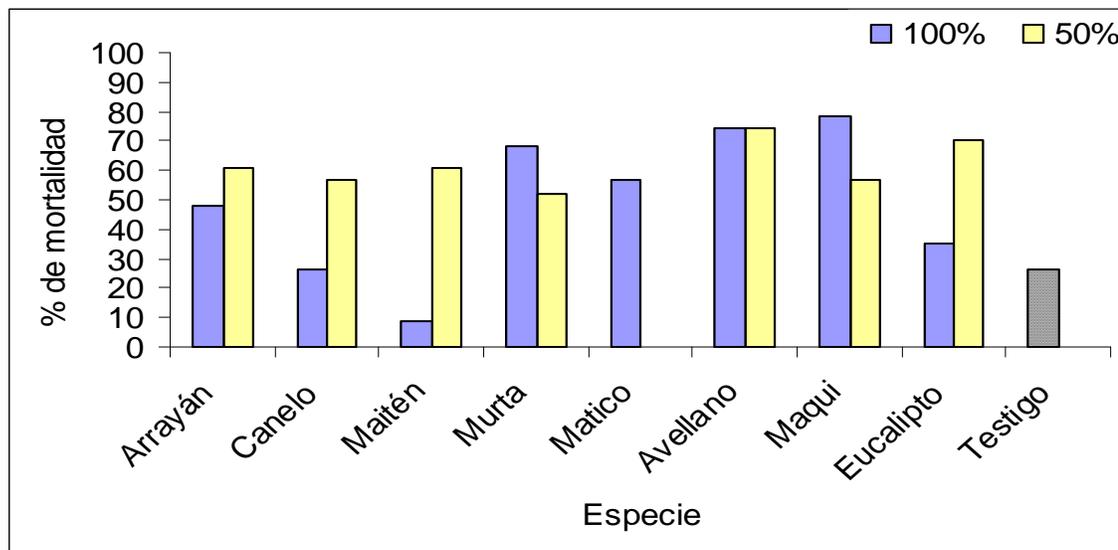


FIGURA 3 Porcentaje de mortalidad de juveniles de *M. hapla* transcurridas 24 horas de exposición a los extractos.

Los resultados anteriores se repiten en el estudio realizado por ZASADA *et al.* (2006), donde se demostró nuevamente que los huevos fueron menos sensibles a los extractos acuosos que la supervivencia de juveniles II de *M. incognita*. Aunque estas afirmaciones no se cumplen en el total de las especies en estudio, al menos cinco de los ocho extractos coinciden con los autores antes señalados.

Un estudio similar, realizado por TABA *et al.* (2008), donde se evaluó extractos acuosos de 29 especies vegetales para el control de juveniles II de *M. incognita* determinó que al menos el 38% de los extractos disminuyeron la sobrevivencia a más de la mitad de los juveniles II, los autores indicados evaluaron hojas, tallos y raíces de las especies, aunque los mejores resultados fueron obtenidos con los extractos a base de hojas.

El Cuadro 6 muestra que luego de 72 horas de exposición de juveniles a los extractos acuosos, en matico en ambas concentraciones y en murta al 50% de concentración, no se encontraron juveniles vivos presentando estos tratamientos diferencias significativas sólo con eucalipto al 100% de concentración y no con el testigo, en murta al 100% de concentración se encontró en promedio 3,3 juveniles lo que indicaría que estas dos especies, matico y murta, fueron las mas eficientes en el

control de juveniles a las 72 horas de exposición, aunque, en general, sin diferencias estadísticas entre especies. En maqui también se encontró un bajo número de individuos: 13,3 y 10 juveniles para 100% y 50% respectivamente.

ABID *et al.* (1997), obtuvo resultados similares al utilizar extractos acuosos de 60 especies de plantas, con 24, 48 y 72 horas de exposición de los juveniles de *M. incognita*, presentando algunas de ellas significativas propiedades nematocidas. Los porcentajes de mortalidad de los juveniles aumentaron con el tiempo de exposición a los extractos con una significativa diferencia entre las 24 y 72 horas de exposición en la mayoría de las especies.

Una de las especies que no fue eficiente en el control de juveniles de *M. hapla* fue eucalipto, al igual que en los resultados obtenidos por IBRAHIM *et al.* (2006), quienes al evaluar extractos de 19 especies de plantas aromáticas sobre juveniles II de *M. incognita* luego de 24 horas de exposición a extractos de plantas, entre ellas eucalipto, concluyeron que el extracto de esta especie provocó uno de los menores porcentajes de mortalidad de los juveniles comparado con las otras especies. En esta especie también se aprecia que el número de juveniles aumentó desde las 24 a las 72 horas tanto para el 100% como para el 50% de concentración, lo que podría explicarse por una eclosión de juveniles desde los huevos que dio origen a nuevos juveniles II lo que se respalda por el hecho que en esta especie el número de huevos disminuyó considerablemente entre las 24 y 72 horas de exposición.

En la Figura 4, donde se muestra el porcentaje de mortalidad de juveniles luego de 72 horas de exposición a los extractos, es posible apreciar los altos porcentajes de mortalidad obtenidos en la mayoría de los tratamientos, con excepción de eucalipto, los que varían entre un 52% de mortalidad en maitén, hasta un 100% de mortalidad en los tratamientos correspondientes a matico 100%, matico 50% y murta 50% de concentración. Resultados similares a los reflejados en la Figura 4 fueron informados por CRISTOBAL *et al.* (2006), quienes evaluaron extractos vegetales de hojas tallos y raíz de 20 plantas nativas de Yucatán para el control de juveniles II de *M. incognita*. Los resultados indicaron que los extractos formulados a base de hojas presentaron la mayor actividad nematocida induciendo mortalidades de 84% después de 72 horas de exposición a *Eugenia winzerlingii* Standl.

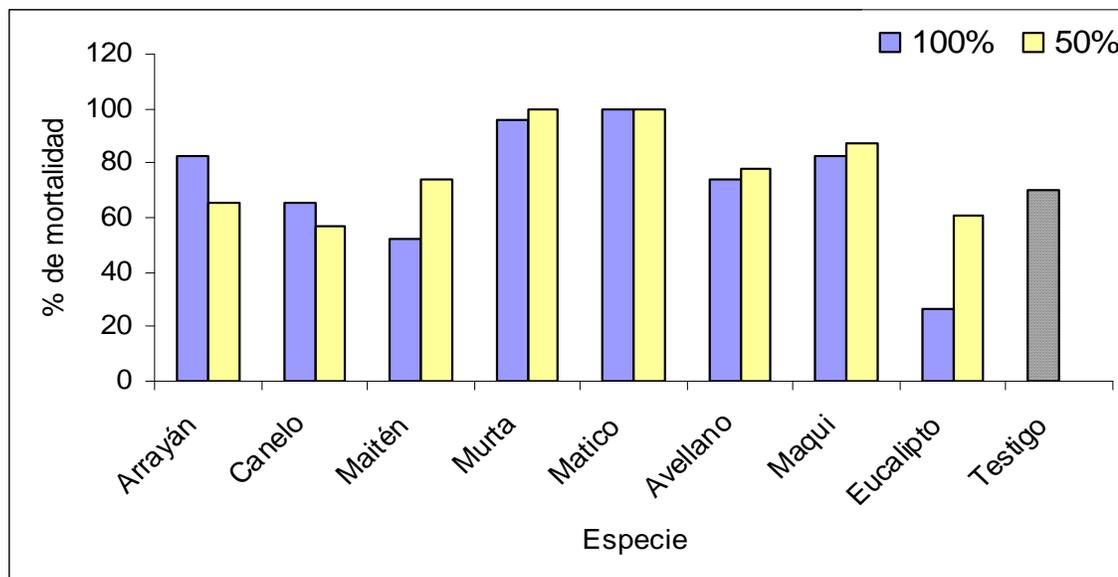


FIGURA 4 Porcentaje de mortalidad de juveniles de *M. hapla* transcurridas 72 horas de exposición a los extractos.

En los resultados de este ensayo el tratamiento testigo a las 72 horas de exposición mostró un alto porcentaje de mortalidad (70%), lo que podría atribuirse a una falta de oxígeno en la suspensión lo que también pudo reflejarse en los otros tratamientos.

4.1.3 Efecto de los tratamientos en la viabilidad de huevos de *M. hapla* transcurridas 24 y 72 horas de exposición. En esta evaluación se consideraron para el recuento sólo huevos viables y no huevos muertos o alterados en su forma. Se consideraron huevos viables a los huevos enteros, sin ruptura, sin cambios de color, deformaciones o signos de deshidratación.

Luego de 24 horas de exposición arrayán y maqui fueron los extractos que lograron un menor número de huevos viables con 33,3 como promedio para ambos en la concentración 100%, encontrándose diferencias significativas con el testigo (Cuadro 7). Canelo y avellano al 100% de concentración, presentaron promedios de 46,7 huevos cada uno, lo que corresponde casi a la mitad de lo encontrado en el testigo. Por otro lado, para la concentración 50% fue el extracto de maitén el que controló mejor el número de huevos, promediando 16,7 huevos; canelo nuevamente presentó

un promedio bajo igual a 30 huevos. Estas dos especies fueron significativamente mejores en el control de huevos que el testigo.

CUADRO 7 Número de huevos viables de *M. hapla* encontrados por tratamiento.

Especie	24 horas de exposición		72 horas de exposición	
	100%	50%	100%	50%
Arrayán	33,3ab ¹ A ²	83,3 d A	23,3abc A	70,0 ef B
Canelo	46,7abc A	30,0ab A	26,7abc A	13,3a A
Maitén	66,7 cd B	16,7a A	50,0 de A	16,7ab A
Murta	66,7 cd B	50,0 bc A	23,3abc A	36,7 bcd A
Matico	70,0 cd A	83,3 d A	70,0 ef A	43,3 cd A
Avellano	46,7abc A	50,0 bc A	23,3abc A	13,3a A
Maqui	33,3ab A	50,0 bc A	33,3abcd A	36,7 bcd A
Eucalipto	53,3 bcd A	40,0abc A	26,7abc A	16,7ab A
Testigo	83,3 d A	83,3 d A	80,7 f A	80,7 f A

1 Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según LSD < 0,05 entre las especies.

2 Letras distintas en la misma fila, para un mismo tiempo de exposición, indican diferencias significativas según t Student < 0,05 entre concentraciones.

En la evaluación de huevos luego de 72 horas de exposición, con 100% de concentración, todos los extractos, salvo matico disminuyeron en forma significativa la viabilidad de huevos con respecto al testigo. Cabe señalar que en seis de las ocho especies en estudio y en ambas concentraciones se obtuvo promedios de huevos significativamente inferiores a los del testigo. Matico y arrayán fueron las únicas especies en que no hubo diferencias significativas con respecto al testigo (Cuadro 7). De acuerdo a estos resultados no es posible establecer que existe una relación directa entre las concentraciones de los extractos y el número de huevos viables encontrados, debido a que en algunas especies el número de huevos disminuye al aumentar la concentración del extracto, pero en otros casos ocurre todo lo contrario. En cuanto al tiempo de exposición, si es posible observar una relación inversamente proporcional, debido a que, en general, al aumentar el tiempo de exposición a los extractos, disminuye el número de huevos encontrados en las placas, lo anterior podría atribuirse a la eclosión.

BHARADWAJ y SHARMA (2007) obtuvieron resultados opuestos al realizar un estudio similar en India en el que evaluaron el potencial de extractos acuosos de hojas de seis especies vegetales en el control de la eclosión de huevos de *M. incognita*. Los resultados reflejaron que a medida que aumenta la concentración del extracto, disminuye el porcentaje de eclosión, por lo tanto hay una relación inversamente proporcional entre la concentración del extracto y el control de la eclosión. Por otro lado el tiempo de exposición no fue realmente influyente en el control de la eclosión de huevos.

En la Figura 5 que presenta porcentualmente los huevos muertos o no viables de cada placa, se puede apreciar que cinco de las ocho especies en estudio dieron un mejor resultado con la concentración más baja debido a que se obtuvo mayores porcentajes de inviabilidad de huevos.

Estos resultados no concuerdan con lo observado por ADEGBITE y ADESIYAN (2005), quienes concluyen de sus observaciones que a medida que aumenta la concentración de los extractos acuosos, mayor es el efecto inhibitor sobre los huevos de *M. incognita*.

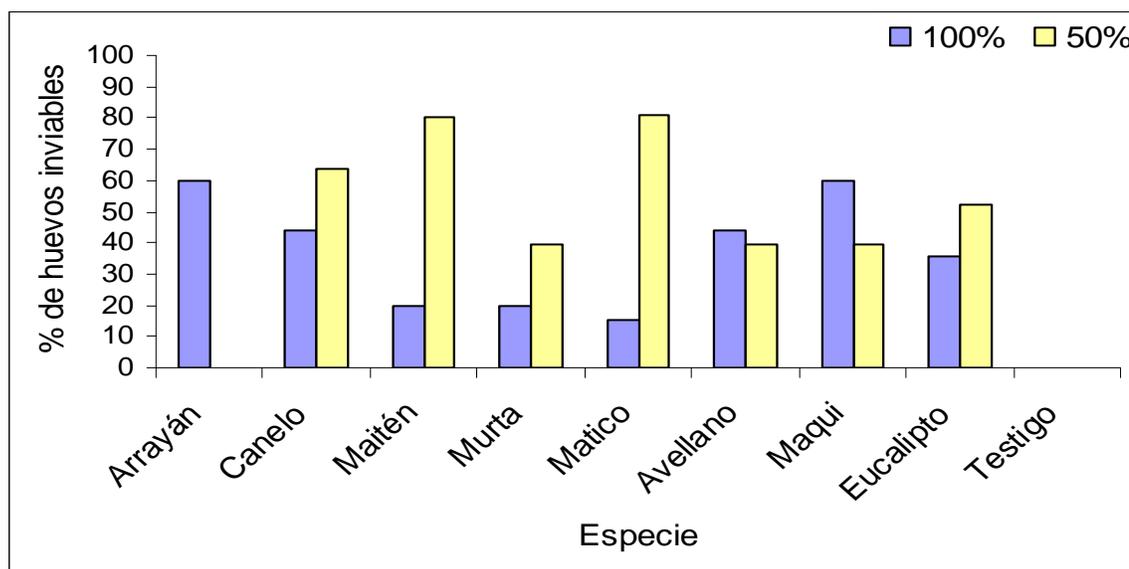


FIGURA 5 Porcentaje de mortalidad de huevos de *M. hapla* transcurridas 24 horas de exposición a los extractos.

La Figura 6 muestra que a las 72 horas de exposición disminuyó la viabilidad de los huevos con respecto a las 24 horas, al menos 10 de los 18 tratamientos superaron el 60% de huevos muertos encontrados en las placas alcanzando incluso el 80% de huevos inviábiles en canelo 50%, maitén 50%, avellano 50% y eucalipto 50% de concentración. Resultados similares, aunque menos efectivos, fueron los obtenidos por MEYER *et al.* (2006), en un estudio donde probaron extractos acuosos de *Plantago lanceolata*, registraron que con una concentración del 50% la eclosión de huevos se vio reducida en mas del 44%.

Por otro lado, en el testigo el porcentaje de huevos deformes o inviábiles encontrados fue muy bajo lo que hace suponer que existe un real efecto negativo sobre los huevos con los tratamientos antes mencionados.

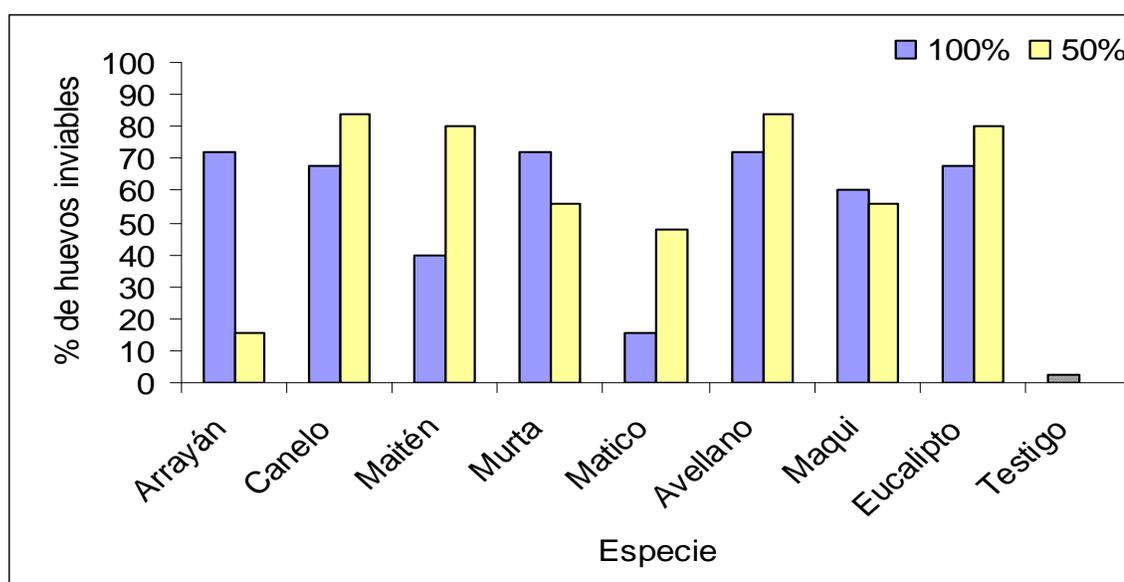


FIGURA 6 Porcentaje de mortalidad de huevos de *M. hapla* transcurridas 72 horas de exposición a los extractos.

La evaluación del efecto de los tratamientos en la viabilidad de los huevos deja en evidencia que en la mayoría de los tratamientos aplicados el número de huevos de *M. hapla* disminuyó a medida que aumentó el tiempo de exposición de 24 a 72 horas. Estos resultados son calificados como positivos y atribuidos a un posible efecto de control por parte de los extractos acuosos; sin embargo, es necesario aclarar que en este estudio solo se midió el número de huevos viables encontrados en las placas y no

se efectuó una medición directa del número de huevos muertos o no viables en cada tratamiento, por lo tanto es muy posible que dentro del número de huevos considerados como muertos haya una proporción de ellos que en realidad eclosionaron y por lo tanto fueron contados como juveniles II y en consecuencia, en estos casos, no hubo ningún efecto controlador por parte de los extractos si no que continuaron su ciclo biológico.

4.2. Ensayo en macetas.

En este ensayo se evaluó el efecto de los extractos en la capacidad de infestación del nemátodo en plantas de tomate, transcurridos tres meses desde la inoculación, para lo cual se incorporaron los distintos extractos en sus dos concentraciones a las macetas previamente inoculadas con 440 huevos y juveniles de *M. hapla* (52% huevos y 48% juveniles).

4.2.1 Efecto de la incorporación de extractos al sustrato en la capacidad de infección de *M. hapla*. Esta evaluación se hizo en una primera instancia mediante la observación de las raíces directamente bajo lupa con el fin de estimar el número de agallas desarrolladas y el porcentaje de raíces con agallas. Luego se evaluó el número de huevos y juveniles formados en las raíces de las plantas de tomate.

4.2.2 Número de agallas encontradas por planta. La evaluación de la respuesta de las plantas a la infestación de las especies de *Meloidogyne* se establece generalmente por la formación de agallas en raíces (HUSSEY y JANSSEN, 2002), existiendo diferentes índices de agallamiento, los cuales indican la respuesta de las plantas a la infestación del nemátodo (DE LEON *et al.*, 2000).

En el presente ensayo se utilizó el índice de TAYLOR y SASSER (1978), (índice "A") el cual permite cuantificar el número de agallas presentes en las raíces; pero no discrimina el tamaño ni la distribución de las agallas o engrosamientos en el tejido radical. Así, una planta con agallas de tamaño pequeño puede tener el mismo índice que una planta con agallas grandes que ocupen un mayor volumen de la raíz, por lo cual autores como (HUSSEY y JANSSEN, 2002), promueven el uso de más de un índice. Es por esta razón que se decidió evaluar con el de HUSSEY y JANSSEN (2002) que acá se entiende como índice "B", y refleja al porcentaje de tejido dañado en

el sistema radical o la superficie de raíces lesionadas y expresadas en porcentaje (NETSCHER y SIKORA, 1990; SUÁREZ y ROSALES, 2004). Cuando se habla de porcentaje, se está tomando en cuenta el total del sistema radical, no involucra en ningún caso el tamaño de la raíz, es decir una raíz pequeña puede tener igual índice que una planta con una raíz de gran tamaño si es que tienen la misma proporción dañada.

En el Cuadro 8 donde se presentan los resultados de ambos índices de agallamiento, se aprecia que, en general, no hubo un efecto depresor de los extractos en el número de agallas con excepción de matico; en esta última especie el índice A promedió 1,5 y 1,6 para las concentraciones 100% y 50% respectivamente, presentando diferencias significativas sólo en la concentración menor al compararlo con maitén y murta, pero no con el testigo. En cuanto al índice B, se repite el matico como uno de los extractos mas efectivos en cuanto a presentar el menor índice en ambas concentraciones con valores de 1,3 y 1,4 para las concentraciones 100% y 50% respectivamente, además del avellano al 50% de concentración con un índice de 1,3. En esta evaluación no se encontraron diferencias estadísticas entre las especies, como tampoco entre las concentraciones aplicadas. En general, el porcentaje de agallas encontradas en las raíces fue bajo y ninguna especie fue significativamente mejor que los testigos de ambos índices de agallamiento utilizados.

Es necesario recalcar que un índice de agallamiento alto no siempre se relaciona con una alta población de individuos parasitando las raíces, ya que como señalan SASSER y CARTER (1985), una agalla puede contener uno o varios individuos de *Meloidogyne*. La respuesta de una planta a la infestación de una determinada especie de *Meloidogyne* dependerá también de la relación parásito hospedero que se establezca (HUSSEY y GRUNDLER, 1998) y la presencia de agallas solamente demuestra una aproximación del número de juveniles que lograron penetrar la raíz. ABALLAY e INSUNZA (2002), señalan que la presencia de sustancias o metabolitos ajenos a la raíz en el medio, pueden influir en el proceso de infestación como ocurre, por ejemplo, ante plantas que presentan compuestos antagónicos al desarrollo del nemátodo agallador siendo el ejemplo más conocido *Tagetes sp.*

CUADRO 8 Índices de agallamiento de raíces de acuerdo a las dos escalas utilizadas.

Especie	Índice A		Índice B	
	100%	50%	100%	50%
Arrayán	1,7abc ¹ A ²	1,9abc A	1,4a A	1,5a A
Canelo	1,9abc A	2,3 bc A	1,4a A	1,6a A
Maitén	2,0abc A	2,4 c A	1,6a A	1,7a A
Murta	2,1abc A	2,4 c A	1,9a A	1,8a A
Matico	1,5a A	1,6ab A	1,3a A	1,4a A
Avellano	1,9abc A	2,0abc A	1,5a A	1,3a A
Maqui	2,1abc A	2,0abc A	1,7a A	1,7a A
Eucalipto	2,1abc A	1,7abc A	1,6a A	1,6a A
Testigo	1,9abc A	1,9abc A	1,7a A	1,7a A

1 Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según Kruskal Wallis < 0,05 entre las especies.

2 Letras distintas en la misma fila, para un mismo tiempo de exposición, indican diferencias significativas según Mann Whitney < 0,05 entre concentraciones.

Por otra parte, PARADA y GUZMAN (1997) indican que los juveniles de *Meloidogyne* que logran penetrar una raíz, en su proceso alimenticio, inducen la sintomatología característica de los nemátodos de las agallas, sus actividades fisiológicas y de comportamiento pueden ser afectadas por ciertas sustancias presentes en el extracto influyendo en su tasa de reproducción. Estos autores indican que extractos de hojas de *Cynodon dactylon* disminuyeron la población final de *M. incognita* en poroto, a pesar de tener un alto índice de agallamiento.

En la Figura 7, se puede apreciar que como se mencionó anteriormente, la especie en que se encontró menores índices fue matico sin diferencias significativas con el testigo.

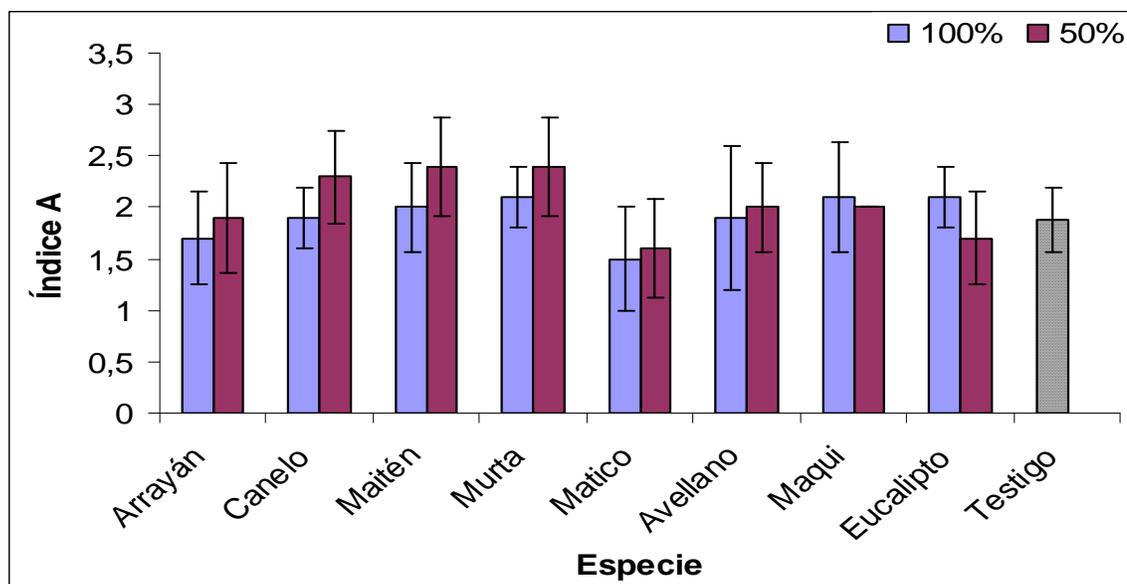


FIGURA 7 Índice de agallamiento A (TAYLOR y SASSER, 1978). Barras verticales indican ± 1 DS por sobre y bajo la media.

En cuanto al índice B, matico también resultó ser la especie con menores índices, aunque no existió diferencias significativas con las otras especies ni con el testigo (Figura8).

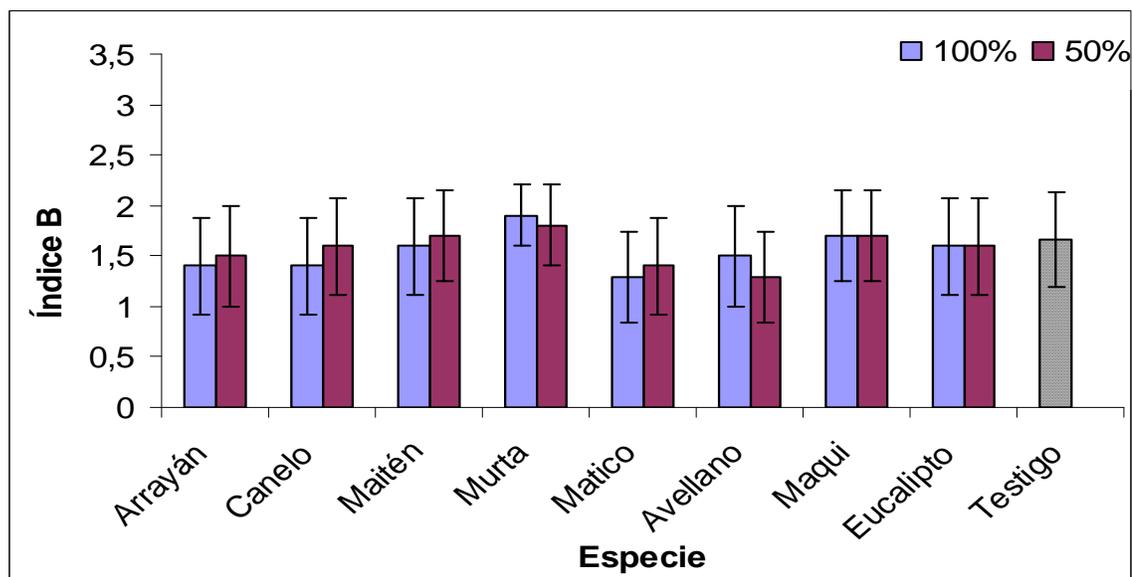


FIGURA 8 Índice de agallamiento B (HUSSEY y JANSSEN, 2002). Barras verticales indican ± 1 DS por sobre y bajo la media.

4.2.3 Multiplicación de *M. hapla* en las plantas. La multiplicación del nemátodo en las raíces se puede determinar a través de la reproducción alcanzada, o sea la cantidad de huevos y juveniles formados en las masas gelatinosas adheridas a cada hembra (ABALLAY y MONTEDONICO, 2001). Esto se representa a continuación en el Cuadro 9 como el número total de propágulo (huevos y juveniles), en donde se puede apreciar que a mayor concentración de los extractos acuosos, murta fue la especie más eficiente en la disminución de propágulo, encontrándose diferencias significativas al compararla con canelo, maitén, matico, maqui, eucalipto y el testigo, los que superaron el número total de individuos recuperados de las raíces del testigo.

Por otro lado, la aplicación de los extractos acuosos al 50% de concentración disminuyó el número de propágulo con respecto al testigo en aquellos tratamientos que contenían arrayán maqui y eucalipto, encontrándose diferencias significativas al compararlos con canelo, maitén, murta, matico y avellano, estos últimos a su vez, superaron el promedio de propágulo encontrado en el testigo (Cuadro 9).

CUADRO 9 Número total de propágulo de *M. hapla* desarrollado por planta.

Especie	Concentración					
	100%			50%		
	promedio		desv.	promedio		desv.
Arrayán	20ab ¹	A ²	± 30,98	14a	A	± 25,38
Canelo	142	h A	± 45,10	120	gh A	± 64,50
Maitén	124	gh A	± 88,45	90	fg A	± 20,49
Murta	10a	A	± 13,40	80	ef B	± 52,10
Matico	122	gh A	± 41,40	122	gh A	± 31,56
Avellano	44abcde	A	± 23,30	82	f B	± 44,20
Maqui	78 def	A	± 48,50	42abcd	A	± 35,16
Eucalipto	58 cdef	A	± 41,40	26abc	A	± 25,38
Testigo	56 bcdef	A	± 30,95	56 bcdef	A	± 30,95

1 Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según LSD < 0,05 entre las especies.

2 Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas según t Student < 0,05 entre concentraciones.

Es necesario mencionar que, en general, no todos los huevos y juveniles inoculados logran penetrar a las raíces, de hecho, HUSSEY y GRUNDLER (1998), señalan que difícilmente más allá de 50% de ellos lo logra. Además en los procesos de extracción aplicados en este ensayo solamente se recuperaron los huevos y juveniles presentes en las masas de huevos y no aquellos individuos establecidos dentro de las raíces iniciando el proceso infestivo como tampoco los que se encuentran en la periferia de las raicillas o libres el suelo de cada maceta.

4.2.4 Presencia de juveniles de *M. hapla* en plantas de tomate. En la evaluación del número de juveniles en plantas de tomate, los tratamientos con extracto de murta fueron los más efectivos en la disminución de individuos, se encontraron los mejores resultados en la disminución de juveniles para ambas concentraciones con promedios de 2 y 0 juveniles para 100% y 50% respectivamente encontrándose diferencias significativas al compararlos con canelo y maitén 100% de concentración y con matico 50% de concentración respectivamente (Cuadro 10). No hubo diferencias significativas entre las especies y el testigo en ninguna de las dos concentraciones evaluadas.

CUADRO 10 Número de juveniles vivos de *M. hapla* recuperados por planta.

Especie	Concentración			
	100%		50%	
	promedio	desv.	promedio	desv.
Arrayán	6,0ab ¹ A ²	± 12,80	4,0ab A	± 12,00
Canelo	18,0 c A	± 22,70	10,0abc A	± 13,40
Maitén	18,0 c A	± 24,40	10,0abc A	± 10,00
Murta	2,0ab A	± 6,00	0,0a A	± 0,00
Matico	8,0abc A	± 9,79	12,0 bc A	± 13,27
Avellano	10,0abc A	± 10,00	4,0ab A	± 12,00
Maqui	6,0ab A	± 12,80	8,0abc A	± 9,79
Eucalipto	6,0ab A	± 9,16	8,0abc A	± 9,79
Testigo	8,9abc A	± 9,90	8,9abc A	± 9,90

1 Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según LSD < 0,05 entre las especies.

2 Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas según t Student < 0,05 entre concentraciones.

Cabe señalar que al igual que en la evaluación anterior (propágulos desarrollados en raíces) aquí, se repite la tendencia de las especies con los mejores resultados (murta y arrayán), lo que hace suponer que los resultados totales estarían fuertemente influenciados por el número de juveniles.

Por otro lado en canelo y maitén hubo un aumento de juveniles en relación al testigo, se encontraron 18 y 10 para 100% y 50% de concentración respectivamente en ambos extractos. En avellano 100% de concentración se encontraron en promedio 10 juveniles. Llama la atención el bajo número de juveniles recuperados de las plantas considerando la cantidad de inóculo utilizado, estos resultados pueden deberse efectivamente a la acción de los extractos o por otro lado como no hay diferencias significativas entre el testigo y las ocho especies vegetales se podría suponer que estos resultados se deben a efectos ambientales que evitaron la llegada de los juveniles II a las raíces tanto del testigo como de las otras especies (TAYLOR y SASSER, 1983; LUC *et al.*, 1990).

4.2.5 Presencia de huevos de *M. hapla* en las plantas de tomate. Aunque el número de huevos inoculados en las macetas fue levemente mayor al de los juveniles (52% huevos y 48% juveniles), al terminar el ensayo el número de huevos encontrados en raíces, superó ampliamente al de juveniles en todos los tratamientos (Figura 9).

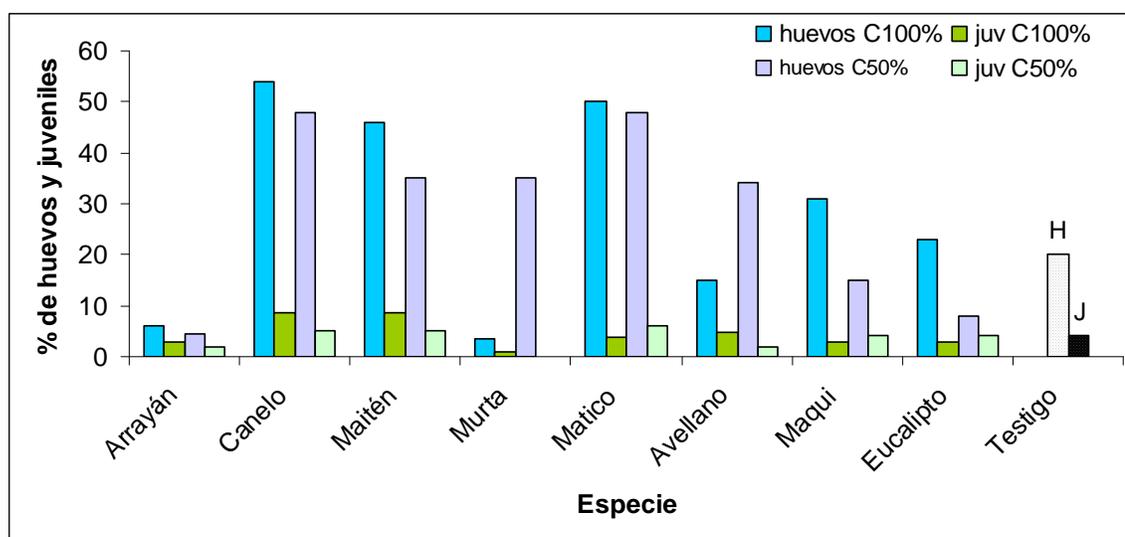


FIGURA 9 Relación porcentual en la distribución de huevos y juveniles de *M. hapla* en cada concentración de los extractos acuosos.

La especie más efectiva en la reducción de huevos fue sin duda murta 100% donde se encontraron en promedio 8 huevos, existiendo diferencias significativas con canelo, maitén, matico, maqui, eucalipto y el testigo. En arrayán también se encontró un bajo promedio de huevos, 14 y 10 para el 100% y 50% de concentración respectivamente. En canelo, matico y maitén el efecto de los extractos fue más bien, estimulante del desarrollo para ambas concentraciones, encontrándose alrededor del doble de huevos con respecto al testigo.

Por otro lado, en cuanto a las concentraciones de los extractos, hubo diferencias significativas en murta, avellano y maqui (Cuadro 11).

En esta evaluación llama la atención el bajo porcentaje de huevos encontrados en el testigo el cual corresponde al 20% del total inoculado.

CUADRO 11 Número de huevos viables de *M.hapla* recuperados por planta.

Especie	Concentración			
	100%		50%	
Arrayán	14,0ab ¹	A ²	10,0ab	A
Canelo	124,0	h A	110,0	fgh A
Maitén	106,0	efgh A	80,0	defg A
Murta	8,0a	A	74,0	de B
Matico	114,0	gh A	110,0	fgh A
Avellano	34,0abc	A	78,0	def B
Maqui	72,0	de B	34,0abc	A
Eucalipto	52,0	cd A	18,0abc	A
Testigo	46,7	bcd A	46,7	bcd A

1 Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según LSD < 0,05 entre las especies.

2 Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas según t Student < 0,05 entre concentraciones.

4.2.6 Tasa de multiplicación de *M. hapla* en plantas de tomate. Para evaluar la reproducción del nemátodo se calculó la tasa de multiplicación usando el total de propágulo inoculado que corresponde a 440 juveniles y huevos, según la formula

utilizada por Oostenbrink (1966), citado por ABALLAY e INSUNZA (2002), que se indica a continuación:

$$TM = \frac{\text{Número de propágulos recuperados en raíces}}{\text{Nº de propágulos inoculados}} * 100$$

En la Figura 10, donde se presenta y compara la tasa de multiplicación de *M. hapla*, es evidente el efecto provocado por arrayán en ambas concentraciones y en murta al 100% de concentración, donde la tasa de multiplicación no superó el 5% en ninguna de las dos especies lo que hace suponer que estas especies tienen un importante efecto nematicida en comparación a las otras seis especies. Por otro lado canelo, maitén y matico en las dos concentraciones utilizadas superaron notablemente la tasa de multiplicación del testigo por lo tanto se podría suponer que estas especies al contrario de lo deseado, habrían estimulado la multiplicación del nemátodo.

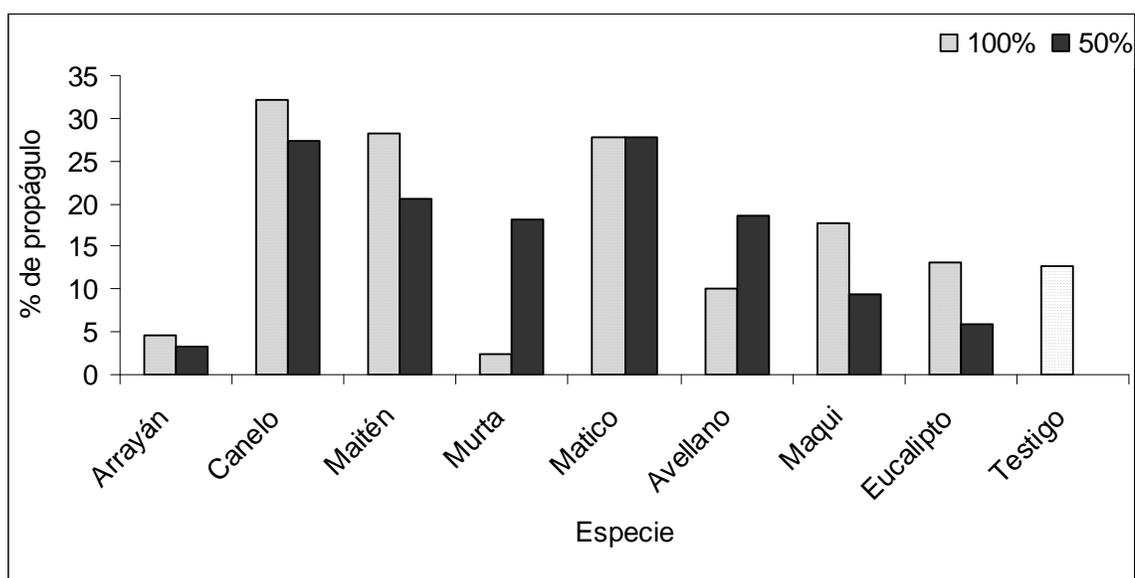


FIGURA 10 Tasa de multiplicación de *M. hapla* en plantas de tomate inoculadas.

La tasa de multiplicación en este ensayo, no supera el 35%, sin embargo 10 de los tratamientos superaron la tasa de multiplicación del testigo que alcanzó un 12,6%.

5 CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este ensayo se puede concluir que existiría actividad nematicida en los extractos acuosos del follaje seco de algunas de las especies evaluadas.

En la evaluación *in vitro*, a las 72 hrs de exposición a los extractos acuosos hubo menor sobrevivencia de los propágulo que a las 24 hrs de exposición, dando murta y avellano los mejores resultados. Las concentraciones de los extractos, en general, no provocaron diferencias significativas en los resultados de esta evaluación.

El tiempo de exposición y la concentración de los extractos afectaron la supervivencia de juveniles mostrando murta y matico el mayor efecto, mientras que la viabilidad de los huevos se vio afectada con 72 hrs de exposición a murta, avellano y canelo.

En la evaluación de la respuesta de las plantas a la infestación de *M. hapla*, el extracto de matico provocó los menores índices de agallamiento "A" y "B", pero no hubo diferencias significativas.

Los extractos de murta y arrayán disminuyeron la infestación de *M. hapla* en plantas de tomate, independiente de la concentración aplicada.

En la evaluación en plantas de tomate sobre juveniles de *M. hapla*, murta provocó la menor sobrevivencia del nemátodo, independiente de la concentración aplicada.

En la evaluación en plantas de tomate sobre huevos de *M. hapla*, las especies mas efectivas en la reducción de sobrevivencia fueron murta al 50% de concentración y arrayán en ambas concentraciones.

En las plantas correspondientes a los tratamientos de arrayán en ambas concentraciones y murta al 100% de concentración, la tasa de multiplicación no superó el 5%.

Es necesario indicar que sería conveniente realizar nuevos estudios con las especies que resultaron más efectivas en la reducción del nemátodo, para confirmar estos resultados y determinar el o los compuestos responsables de éstos.

6 RESUMEN

El nemátodo del nudo de la raíz, *M. hapla*, es una especie muy persistente en los suelos del sur de Chile debido, principalmente, a que presenta un amplio rango de especies hospederas, lo cual dificulta su erradicación una vez establecido en un suelo de cultivo. Los daños que causa en la producción, los costos relativamente elevados de su control y los problemas presentados por los métodos tradicionales de control (tóxicos, persistentes y poseen compuestos que pueden contaminar el agua y el suelo), además del aumento de las regulaciones de prácticas agrícolas, hacen que la creación de nuevas alternativas de control resulten todo un desafío para el sector agrícola.

Debido a esta tendencia por buscar y emplear otras alternativas que sean más sustentables y menos dañinas para el manejo de plagas, se han reportado numerosas especies de plantas, representando varias familias botánicas, que producen compuestos nematicidas, las que se denominan plantas nematicidas o plantas antagónicas a los nemátodos. Se ha descubierto que ciertas especies vegetales han desarrollado un amplio rango de elementos defensivos para protegerse, ya sea porque contienen o exudan compuestos con acción nematicida o hemostática.

Este ensayo se realizó formulando extractos acuosos de follaje seco de *Luma apiculata* Burret, *Drymis winteri* J.R. Foster, *Maytenus boaria* Mol., *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stunz, *Gevuina avellana* Mol, *Ugni mollinae* Moll, *Eucalyptus globulus* Labill y *Buddleja globosa* Hoppe, para determinar la actividad nematicida sobre *M. hapla*.

Se utilizó un extracto base de cada especie, el cual se evaluó en base a dos concentraciones: 50 y 100%. Este ensayo se dividió en dos partes, llevadas a cabo en forma paralela.

En la primera parte se evaluó el comportamiento *in vitro* de huevos y juveniles de *M. hapla* sometidos a los extractos acuosos durante 24 y 72 hrs, disponiéndolos en una cámara climática a 20°C y oscuridad.

En la segunda parte se evaluó la capacidad infestiva del nemátodo en plantas de tomate a las que se les incorporó los extractos acuosos, bajo condiciones de invernadero (20 °C), durante 90 días. La estimación del efecto de los tratamientos en la capacidad infestiva del nemátodo se realizó midiendo índices de agallamiento y estimando el número de huevos y juveniles en raíces.

En la evaluación *in vitro*, el mayor tiempo de exposición a los extractos acuosos provocó una menor sobrevivencia tanto para huevos como para juveniles de *M. hapla*. En cuanto a las concentraciones, no fueron significativas en la evaluación de huevos pero, hubo una menor sobrevivencia de juveniles con 50% de concentración. Las especies mas efectivas en el control del nemátodo fueron murta, avellano, canelo y matico.

En la evaluación de la capacidad infestiva de juveniles de *M. hapla* en plantas de tomate no hubo diferencias significativas entre las concentraciones utilizadas, murta fue la especie que presentó los menores promedios de juveniles encontrados. En el recuento de huevos de *M. hapla* se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de los extractos, aunque sin una tendencia clara. Las especies donde se encontró un menor número de huevos viables fueron murta y arrayán.

SUMMARY

Root-knot nematode, *M. hapla*, is a very persistent species in the southern soils of Chile owing, chiefly, to the presence of an extensive range of host species, which complicates its eradication once established in cultivation soils. The damages that it causes in production, the relatively high costs of their control and the problems presented by the traditional methods of control (toxics, persistent, and possessing compounds that can contaminate water and soil), as well as increased regulations mean that the creation of new alternatives for control are a real challenge for the agricultural sector.

Due to this tendency of seeking and employing other, more sustainable and less harmful, alternatives for the management of plagues, numerous species of plants have been reported, representing several botanic families, that produce nematicidal compounds, designated nematicidal plants or plants antagonistic to nematodes. It has been discovered that certain vegetable species have developed an extensive range of defensive elements to protect themselves, containing or exuding compounds with nematicidal or hemostatic properties.

This experiment was conducted formulating aqueous extracts of dry foliage of *Luma apiculata* Burret, *Drymis winteri* J.R. Foster, *Maytenus boaria* Mol., *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stunz, *Gevuina avellana* Mol, *Ugni mollinae* Moll, *Eucalyptus globulus* Labill and *Buddleja globosa* Hoppe, to determine the nematicidal activity on *M. hapla*.

A base extract of each species was utilized, which was evaluated based on two concentrations: 50 and 100%. This experiment was divided into two parts, carried out in parallel form. In the first part, the *in vitro* behavior was evaluated of eggs and juveniles *M. hapla* submitted to the aqueous extracts over 24 and 72 hrs, arranging them in a climatic chamber to 20°C and darkness. In the second part, the infestive capacity was evaluated of the nematode in tomato plants to which the aqueous extracts were incorporated, under greenhouse conditions (20 °C), over 90 days. The estimation

of the effect of the treatments on the infestive capacity of the nematode was carried out measuring indices of root galling and estimating the number of eggs and juveniles in roots.

In the in vitro evaluation, the greater exposure time to the aqueous extracts led to a lower survival rate, for eggs as for juveniles of *M. hapla*. As for the concentrations, they were not significant in the evaluation of eggs, but, there was a lower survival rate of juveniles with the 50% concentration. The most effective species in the control of the nematode were *Ugni mollinae*, *Gevuina avellana*, *Drymis winteri* and *Buddleja globosa*.

In the evaluation of the infestive capacity of *M. hapla* juveniles in tomato plants, there were no significant differences among the utilized concentrations. *Ugni mollinae* was the species that presented the smallest averages of juveniles found. In the recount of eggs of *M. hapla*, differences among the concentrations of the extracts were found, although without a clear trend. The species in which a smaller number of viable eggs was found were *Ugni mollinae* and *Luma apiculata*.

7 BIBLIOGRAFIA

- ABALLAY, E. 2005. Uso de plantas antagónicas para el control de nemátodos fitoparásitos en vides. (On line) Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. <[http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio /lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/19.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/19.html)>. (28 mar. 07).
- ABALLAY, E. y INSUNZA, V. 2002. Evaluación de plantas con propiedades nematicidas en el control de *Xiphinema index* en vid de mesa cv. *Thompson seedless* en la zona central de Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 62 (3): 357-365.
- ABALLAY, E. y MONTEDONICO, M. 2001. Evaluación de la resistencia de trece porta injertos de vid a *Meloidogyne spp.* en una viña de seis años. (On line) Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. <<http://agronomia.uchile.cl/extension/serviciosyproductos/gie/pdf/Erwin%20Aballay/Aconex6.pdf>>. (15 may. 2008).
- ABID, M., CHOUDHARY, M.I., MAQBOOL, M.A. y RAHMAN, A.U. 1997. Preliminary screening of some plants for their nematicidal activity against *javanica*. *Nematologia Mediterranea* 25:155-157.
- ADEGBITE, A.A. y ADESIYAN, S.O. 2005. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soybean. *World Journal of Agricultural Sciences* 1 (1): 18-21.
- AGUIRRE, M., DELPORTE, C., BACKHOUSE, N., ERAZO, S. y NEGRETE, R. 2004. Estudio químico y farmacológico de las hojas de *Ugni molinae*. (On line) Laboratorio de Productos Naturales. Santiago. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. <[http://www.murtillachile.cl/pdf/Cristina %20Aguirre %20B..pdf](http://www.murtillachile.cl/pdf/Cristina%20Aguirre%20B..pdf)>. (20 jul. 08).

- AGRIOS, G.N. 1996. Fitopatología. 2ª ed. México, D.F, Limusa. 756 p.
- ANDRES, M. 2003. Nematodos parásitos de plantas en suelos agrícolas. (On line) Phytoma España (149): 33-42. <<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=631474>>. (23 may. 07).
- BARRIA, H. 1997. Efecto de nueve concentraciones de inóculo de *Meloidogyne hapla* Chitwood, en el desarrollo de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) y trébol rosado (*Trifolium pratense* L.), bajo condiciones de invernadero. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 97 p.
- BEEB, T. y SCHOMAKER, C.H. 2006. Distribution Patterns and Sampling. In: Perry, R. y Moens, M. (eds). Plant Nematology. Londres, CAB International. pp: 302-324.
- BHARADWAJ, A. y SHARMA, S. 2007. Effect of some plant extracts on the hatch of *Meloidogyne incognita* eggs. International Journal of Botany 3 (3): 312-316.
- BRIDGE, I. y WILLIAMS, T.D. 2002. Plant Parasitic Nematodos. In: Waller, M; Lenne, I.M. y Waller, S.I. (eds). Plant Pathologist's Pocket book. Londres, CAB Internacional. pp: 140-162.
- CAMPOS, J. 1998. Productos forestales no madereros en Chile. (On line) Corporación de Investigación Tecnológica (INTEC). Santiago, Chile. 43 p. <<http://74.125.45.104/custom?q=cache:iXwrOxdbZroJ:www.rlc.fao.org/prior/recentat/pdf/sfor10.pdf+productos+forestales+no+madereros&hl=es&ct=clnk&cd=7&client=google-coop np>>. (20 jul. 08).
- CASAS, A. y CASAS, E. 1999. Análisis de suelo- agua- planta y su aplicación en la nutrición de cultivos. Almería, España. Caja Rural. 249 p.

- CHAVARRIA, J.A. y RODRIGUEZ, R. 1998. Changes in soil enzymatic activity and control of *Meloidogyne incognita* using four organic amendments. *Nematropica* 28:7-18.
- CHAVES, E. 2002. Nematodos causantes de daños en cultivos hortícolas del sudeste bonaerense. (On line) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. Buenos Aires, Argentina. <<http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/agric/hortic/papa/emp/nematodes.htm>>. (23 may. 07).
- CHITWOOD, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review Phytopathology* 40: 221-249.
- CHRISTIE, J. 1974. Nematodos de los vegetales su ecología y control. Departamento de entomología. Estación Experimental Agrícola Universidad de Florida. Mexico D.F, Limusa. 275 p.
- COSME, J. 2003. Flora de la Patagonia. (On line) <<http://www.shelios.com/sh2003/divu/charlas/flora.pdf>>. (20 jul. 08).
- CRISTOBAL, J., TUN, J.M., MOGUEL, S., MARBAN, N., MEDINA, L., SIMA, P., PERAZA, S.R. y GAMBOA, M.M. 2006. *In vitro* sensivity of *Meloidogyne incognita* to extracts from native Yucatecan plants. *Nematropica* 36: 89-97.
- DE LEON, L., BANCHERO, L., LÓPEZ, J. A. y BELLO, A. 2004. Control de *Meloidogyne incognita* en cultivo de tomate en Uruguay. *Boletín Sanidad Vegetal, Plagas (Uruguay)* 26: 401-407.
- DROPKIN, V. 1980. Introduction to plant nematology. New York. Wiley. 293 p.
- EVANS, K., TRUDGILL, D. y WEBSTER, J. 1993. Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Inglaterra, Cambridge, Universitary Press. 648 p.

- FERRIS, H.; SCHNEIDER, S.M. y STUTA, M.C. 1982. Probability of penetration and infection by root-knot nematode *Meloidogyne arenaria*, in grape cultivars. American Journal Enology and Viticulture 33(1): 31-35.
- GÓMEZ, L. y RODRÍGUEZ, M. 2005. Evaluación de un esquema de rotación de cultivos para el manejo de *Meloidogyne spp.* en sistemas de cultivos protegidos. (On line) Protección Vegetal. La Habana, Cuba. 20 (1) 67-69. <<http://www.censa.edu.cu/Revistas/rpv/v20n1/lucila2.pdf>>. (20 may. 08).
- HALBRENDT, J. 1996. Allelopathy in the Management of Plant Parasitic Nematodes. Journal of Nematology 28 (1): 8-14.
- HOFFMANN, A. 1991. Flora silvestre de Chile, zona araucana. 2ª ed. Santiago, Chile. Fundación Claudio Gay. 257p.
- HOFFMANN, A., FARGA, C., LASTRA, J. y VEGHASI, E. 1992. Plantas medicinales de uso común en Chile. Santiago, Chile. Fundación Claudio Gay. 273p.
- HUSSEY, R.S. 1985. Host-parasitic relationships and associated physiological changes. In: Sasser, I. y Carter, C. (eds). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol I Biology and Control. Raleigh, North Carolina State University. pp: 143-153.
- HUSSEY, R.S. y BARKER, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne spp.*, including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.
- HUSSEY, R.S. y GRUNDLER, F.M. 1998. The Physiology and Biochemistry of Nematode parasitism of plants. In: Perry, R.N. and Wright, D.J. (eds). Free living and plant parasitic nematodes. Londres, CAB Internacional. pp: 213-243.

- HUSSEY, R.S. y JANSSEN, G. 2002. Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* species. In: Starr, J.L; Cook, R. y Bridge, J. (eds). Plant resistance to Parasitic Nematodes. USA. CAB Internacional. pp: 43-70.
- IBRAHIM, S.K., TRABOULSI, A.F. y EL-HAJ, S. 2006. Effect of essential oils and plant extracts, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology Mediterranea* 45: 238-246.
- INSUNZA, V., ABALLAY, E. y MACAYA, J. 2001. *In vitro* nematicidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of *Xiphinema americanum sensu lato*. *Nematropica* 31 (1): 47-54.
- INSUNZA, V. y VALENZUELA, A. 1995. Control of *Ditylenchus dipsaci* on garlic (*Allium sativum*) with extracts of medicinal plants from Chile. *Nematropica (USA)* 25 (1): 35-41.
- KHURMA, U. R. y MANGOTRA, A. 2004. Screening of some Leguminosae seeds for nematicidal activity. *The South Pacific Journal of Natural Science* 22 (1):51- 53.
- LUC, M., HUNT, D.J. y MACHON, J.E. 1990. Morphology, anatomy and biology of plant parasitic nematodes - a synopsis. In: LUC, M., SIKORA, R.A. y BRIDGE, J. (eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Londres, CAB International. pp:1 - 44.
- MAGUNACELAYA, J. y DAGNINO, E. 1999. *Nematología agrícola en Chile*. Serie Ciencias Agronómicas N°2. Santiago. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Sanidad Vegetal. 282 p.
- MAI, W.F. 1985. Plant-parasitic nematodes; their threat to agriculture. In: Sasser, J.N. y Carter, C.C. (eds). *An advanced treatise on Meloidogyne*. Vol. I. Biology and Control. Raleigh, USA. North Carolina State. pp.11 - 18 .

- MEDEL, F. y MEDEL, R. 2000. *Gevuina avellana* Mol: características y mejoramiento genético de un frutal de nuez nativo para el mercado internacional. *Revista Frutícola (Chile)* 21 (2): 37 – 47.
- MEDEL, F. DONOSO, C. y HALLOY, S. 2003. Variación en *Gevuina avellana* Mol (Gevuin, avellano chileno, Chile nut) In: Variación intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. *Universitaria* 321 – 344 pp.
- MEYER, S., ZASADA, I.A., ROBERTS, D.P., VINYARD, B.T., LAKSHMAN, D.K., LEE, T., CHITIVOOD, D.J. y CARTA, L.K. 2006. *Plantago lanceolata* and *Plantago rugelii* extracts are toxic to *Meloidogyne incognita* but not to certain microbes. *Journal of Nematology* 38 (3): 333-338.
- MONTEALEGRE, J. 2005. Control biológico e integrado de enfermedades y nemátodos en frutales y hortalizas. (On line) Facultad de Ciencias Agronómicas Universidad de Chile. <http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositoriob/ciencias_agronomicas/montealegre_j/editorial.html>. (28 mar. 07).
- MONTES, M. y WILKOMIRSKY, T. 1985. *Medicina tradicional chilena*. Concepción, Chile. Universidad de Concepción. 203 p.
- MOREND, L. 1999. Las Hierbas Medicinales. *Chile Agrícola* 24 (238): 130-132.
- NETSCHER, C. y SIKORA, R.A. 1990. Nematode parasites of vegetables. In: LUC, M., SIKORA, R.A. y BRIDGE, J. (eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Londres, CAB International. pp: 237-283.
- PARADA, R. y GUZMAN, R. 1997. Evaluación de extractos botánicos contra el nemátodo *Meloidogyne incognita* en frijol (*Phaseolus vulgaris*). (On line) *Agronomía Mesoamericana*. San Salvador, El Salvador. 8 (1): 108-114. <http://www.mag.go.cr/rev_meso/v08n01_108.pdf>. (20 may 08).

- PAREDES, J. 1976. Determinación estructural de flavonoides extraídos de *Gevuina avellana*. Tesis Profesor de Biología y Química. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Letras y Educación. 34 p.
- PIEDRA BUENA, A., DIEZ, M. A., BELLO, A., ROBERTSON, L., LOPEZ, J. A., ESCUER, M. y DE LEON, L. 2005. Comportamiento de *Meloidogyne incognita* sobre tomate y pimiento resistente en Uruguay. *Nematropica* 35: 111-120.
- RODRIGUEZ, R.; MATTHEI, O. y QUEZADA, M. 1983. Flora arbórea de Chile. Concepción, Chile. Universidad de Concepción. 408p.
- RODRIGUEZ, G.; RODRIGUEZ, R. y BARRALES, H. 1995. Plantas ornamentales chilenas. Concepción, Chile. Lamas. 130p.
- RODRIGUEZ, R., TABARES, J. y MEDINA, J. 1997. Cultivo moderno del tomate. 2ª ed. Madrid, España. Mundi prensa. 255 p.
- SANCHEZ, I. 2006. Determinación de la época óptima de la aplicación de Namacur y extracto de quillay, para el control de *Meloidogyne spp.* en cinco estados fenológicos de vid cv. Chardonnay. Tesis Ing. Agr., Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 63 p.
- SASSER, J. 1989. Plant-parasitic nematodes: the farmer's hidden enemy. USA. North Carolina State University. Department of plant pathology. 115 p.
- SASSER, J. y CARTER, C. 1985. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Volume I: biology and control. U.S.A. North Carolina State University. Department of plant pathology. 422 p.
- SEPULVEDA, R.A. 2003. Efecto de la incorporación de material vegetal sobre la población de *Xiphinema index* en estacas enraizadas de vid (*Vitis vinifera* var. Thompson Seedless) en bolsas. Tesis Ing. Agr., Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 55p.

- SOSA, R. 2004. El poder medicinal de las plantas. Buenos Aires, Argentina. Sudamericana. pp: 55-56.
- SOUTHEY, J. 1978. Plant nematology. 3ª ed. London, England. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 440 p.
- STARR, I.L; COOK, R. y BRIDGE, I. 2002. Plant Resistance to Parasitic Nematodes. Londres, CAB International. pp: 1-36.
- STIRLING, G.R. y STIRLING, A.M. 2003. The potencial of green manure crops for controlling root-knot nematode (*Meloidogyne javánica*) on horticultural crops in a subtropical environment. Australian Journal of Experimental Agriculture 43: 623-630.
- SUAREZ, Z. y ROSALES, L. 2004. Problemas hematológicos en musáceas. (On line) Revista digital CENIAP HOY. N°6, sept-dic 2004. Maracay, Aragua, Venezuela. URL. <http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/suarez_z/arti/suarezz.htm>. (20 may 08).
- TABA, S., SAWADA, J. y MOROMIZATO, Z. 2008. Nematicidal activity of Okinawa Island plants on the root-knot nematodo *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. Plant Soil 303: 207-216.
- TAYLOR, A. y SASSER, J. 1978. Experimental and Agronomic use of Nematicides. USA. North Carolina State University. 2000 p.
- TAYLOR, A. y SASSER, J. 1983. Biología, identificación y control de los nemátodos de nódulo de la raíz. Raleigh, USA. Universidad del Estado de Carolina del Norte. 111 p.
- VARAS, D. 2004. Análisis de flavonoides en plantas medicinales del sur de Chile con técnica Hplc. Tesis Lic. Cs. Farmacéuticas. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias. 67 p.

VOISIN, R., RUBIO, M.J., MINOT, J.C. y ESMENJAUD, D. 1999. Penetration, development and emigration of juveniles of the nematode *Meloidogyne arenaria* in Myrobalan plum (*Prunus cerasifera*) clones bearing the *Ma* resistance genes. *European Journal of Plant Pathology* 105: 103–108.

ZASADA, I.A., KLASSEN, W., MEYER, S., CODILLO, M. y ABDUL, A.A. 2006. Velvetbean (*Mucuna pruriens*) extracts: impact on *Meloidogyne incognita* survival and on *Lycopersicon esculentum* and *Lactuca sativa* germination and growth. *Pest Management Science* 62:1122–1127.

ANEXOS

Anexo 1 Desviación Standard de propágulo de *M. hapla* sobrevivientes después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos.

Especie	24 horas de exposición		72 horas de exposición	
	100%	50%	100%	50%
Arrayán	± 26,4	± 60,2	± 16,9	± 30,9
Canelo	± 17,0	± 20,5	± 4,7	± 17,0
Maitén	± 16,9	± 12,5	± 12,5	± 17,0
Murta	± 8,1	± 4,7	± 4,7	± 20,5
Matico	± 36,8	± 0,0	± 16,3	± 9,4
Avellano	± 17,0	± 16,3	± 30,9	± 0,0
Maqui	± 37,4	± 41,9	± 18,9	± 12,5
Eucalipto	± 4,7	± 30,9	± 4,7	± 26,2
Testigo	± 4,9	± 4,9	± 34,7	± 34,7

Anexo 2 Desviación Standard de juveniles de *M. hapla* sobrevivientes después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos.

Especie	24 horas de exposición		72 horas de exposición	
	100%	50%	100%	50%
Arrayán	± 21,6	± 21,6	± 12,5	± 9,4
Canelo	± 4,7	± 20,5	± 9,4	± 4,7
Maitén	± 8,2	± 8,2	± 9,4	± 0,0
Murta	± 4,7	± 4,7	± 4,7	± 0,0
Matico	± 12,5	± 12,5	± 0,0	± 0,0
Avellano	± 16,3	± 16,3	± 14,1	± 4,7
Maqui	± 17,0	± 33,0	± 4,7	± 8,2
Eucalipto	± 0,0	± 18,9	± 4,7	± 16,3
Testigo	± 4,7	± 4,7	± 33,0	± 33,0

Anexo 3 Desviación Standard de huevos de *M. hapla* sobrevivientes después de 24 y 72 horas de exposición a los extractos.

Especie	24 horas de exposición		72 horas de exposición	
	100%	50%	100%	50%
Arrayán	± 4,7	± 45,0	± 4,7	± 21,6
Canelo	± 12,5	± 0,0	± 4,7	± 18,9
Maitén	± 20,5	± 12,5	± 14,1	± 17,0
Murta	± 4,7	± 0,0	± 9,4	± 20,5
Matico	± 35,6	± 4,7	± 16,3	± 9,4
Avellano	± 12,5	± 16,3	± 17,0	± 4,7
Maqui	± 20,5	± 14,1	± 17,0	± 4,7
Eucalipto	± 4,7	± 24,5	± 4,7	± 12,5
Testigo	± 0,5	± 0,5	± 2,6	± 2,6

Anexo 4 Desviación Standard de índices de agallamiento de raíces de plantas de tomate.

Especie	Índice A		Índice B	
	100%	50%	100%	50%
Arrayán	± 0,45	± 0,53	± 0,48	± 0,50
Canelo	± 0,30	± 0,45	± 0,48	± 0,48
Maitén	± 0,44	± 0,48	± 0,48	± 0,45
Murta	± 0,30	± 0,48	± 0,30	± 0,40
Matico	± 0,50	± 0,48	± 0,45	± 0,48
Avellano	± 0,70	± 0,44	± 0,50	± 0,45
Maqui	± 0,53	± 0,00	± 0,45	± 0,45
Eucalipto	± 0,30	± 0,45	± 0,48	± 0,48
Testigo	± 0,31	± 0,31	± 0,47	± 0,47

Anexo 5 Análisis de varianza del número de propágulo de *M. hapla* encontrado en placas.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	10727,1	7	1532,440	1,57	0,1510
B: Tiempo	47451,4	1	47451,400	48,48	0,0000
C: Concentración	87182,7	2	43591,400	44,54	0,0000
Error	130175,0	133	978,763		
Total	275537,0	143			

Anexo 6 Análisis de varianza de la interacción de factores del número de propágulo de *M. hapla* encontrado en placas.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	10727,1	7	1532,44	1,86	0,0853
B: Tiempo	47451,4	1	47451,40	57,49	0,0000
C: Concentración	87182,7	2	43591,40	52,81	0,0000
Interacciones					
AB	5327,0800	7	761,012	0,92	0,4931
AC	34220,8000	14	2444,350	2,96	0,0009
BC	52,7222	2	26,361	0,03	0,9686
ABC	11337,5000	14	809,821	0,98	0,4783
Error	79237,3000	96	825,389		
Total	275537,0000	143			

Anexo 7 Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 24 horas de exposición del propágulo a los extractos acuosos.

Especie	t	P-valor
Arrayán	0,861550	0,43752000
Avellano	0,200000	0,85123700
Canelo	-2,121320	0,10119000
Eucalipto	-1,809070	0,14470400
Maitén	-6,037380	0,00379506
Maqui	0,839181	0,44859300
Matico	2,176630	0,09510130
Murta	-0,500000	0,64333000
Testigo	0,000000	1,00000000

Anexo 8 Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 72 horas de exposición del propágulo a los extractos acuosos.

Especie	t	P-valor
Arrayán	2,405350	0,0739253
Avellano	-0,609994	0,5748190
Canelo	-0,534522	0,6213080
Eucalipto	-1,944540	0,1237300
Maitén	-3,354100	0,0284599
Maqui	0,000000	1,0000000
Matico	-2,000000	0,1161150
Murta	0,670820	0,5390800
Testigo	0,000000	1,0000000

Anexo 9 Análisis de varianza del número de juveniles de *M. hapla* encontrado en placas.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	5430,56	7	775,794	1,63	0,1312
B: Tiempo	19136,10	1	19136,100	40,30	0,0000
C: Concentración	4850,00	2	2425,000	5,11	0,0073
Error	63158,30	133	474,875		
Total	92575,00	143			

Anexo 10 Análisis de varianza de la interacción de factores del número de juveniles de *M. hapla* encontrado en placas.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	5430,56	7	775,794	1,78	0,100
B: Tiempo	19136,10	1	19136,100	43,88	0,000
C: Concentración	4850,00	2	2425,000	5,56	0,005
Interacciones					
AB	4808,33	7	686,905	1,58	0,152
AC	8761,11	14	625,794	1,43	0,152
BC	1905,56	2	952,778	2,18	0,118
ABC	5816,67	14	415,476	0,95	0,507
Error	41866,70	96	436,111		
Total	92575,00	143			

Anexo 11 Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 24 horas de exposición de juveniles a los extractos acuosos.

Especie	t	P-valor
Arrayán	-0,46291	0,6674920
Avellano	0,00000	1,0000000
Canelo	-1,56525	0,1925790
Eucalipto	-2,00000	0,1161170
Maitén	-4,89898	0,0080498
Maqui	0,635001	0,5599350
Matico	4,59619	0,0100596
Murta	2,82843	0,0474201
Testigo	0,00000	1,0000000

Anexo 12 Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 72 horas de exposición de juveniles a los extractos acuosos.

Especie	t	P-valor
Arrayán	1,206050	0,2942560
Avellano	0,316228	0,7676440
Canelo	0,894427	0,4216480
Eucalipto	-2,218800	0,0907321
Maitén	-2,500000	0,0667657
Maqui	-0,500000	0,6433300
Matico	0,000000	1,0000000
Murta	-1,000000	0,3739010
Testigo	0,000000	1,0000000

Anexo 13 Análisis de varianza del número de huevos de *M. hapla* encontrados en placas.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	8465,97	7	1209,42	3,19	0,0037
B: Tiempo	6320,25	1	6320,25	16,67	0,0001
C: Concentración	51429,40	2	25714,70	67,83	0,0000
Error	50417,70	133	379,08		
Total	116633,00	143			

Anexo 14 Análisis de varianza de la interacción de factores del número de huevos de *M. hapla* encontrado en placas.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	8465,97	7	1209,420	4,38	0,000
B: Tiempo	6320,25	1	6320,250	22,89	0,000
C: Concentración	51429,40	2	25714,700	93,14	0,000
Interacciones					
AB	1127,08	7	161,012	0,58	0,768
AC	17831,90	14	1273,710	4,61	0,000
BC	2042,17	2	1021,080	3,70	0,028
ABC	2912,50	14	208,036	0,75	0,716
Error	26504,00	96	276,083		
Total	116633,00	143			

Anexo 15 Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 24 horas de exposición de huevos a los extractos acuosos.

Especie	t	P-valor
Arrayán	1,563860	0,19289500
Avellano	0,229416	0,82979900
Canelo	-1,889820	0,13177800
Eucalipto	-0,755929	0,49176700
Maitén	-2,941740	0,04231510
Maqui	0,944911	0,39820800
Matico	0,525226	0,62719300
Murta	-5,000000	0,00749034
Testigo	0,000000	1,00000000

Anexo 16 Análisis de t Student, entre concentraciones, para cada especie a las 72 horas de exposición de huevos a los extractos acuosos.

Especie	t	P-valor
Arrayán	2,984810	0,0405450
Avellano	-0,801784	0,4676050
Canelo	-0,970143	0,3869120
Eucalipto	-1,060660	0,3486410
Maitén	-2,132010	0,0999807
Maqui	0,267261	0,8024820
Matico	-2,000000	0,1161150
Murta	0,834058	0,4511610
Testigo	0,000000	1,0000000

Anexo 17 Análisis de varianza del número de propágulo de *M. hapla* encontrado en raíces de plantas de tomate.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	166481,0	7	23783,00	10,64	0,0000
B: Concentración	16069,6	2	8034,82	3,59	0,0291
Error	496372,0	222	2235,91		
Total	678922,0	231			

Anexo 18 Análisis de varianza de la interacción de factores del número de propágulo de *M. hapla* encontrado en raíces de plantas de tomate.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	155184,0	7	22169,20	12,46	0,000
B: Concentración	16069,6	2	8034,82	4,52	0,012
Interacciones					
AB	126314,0	14	9022,43	5,07	0,000
Error	370058,0	208	1779,12		
Total	678922,0	231			

Anexo 19 Análisis de t Student, entre concentraciones, para propágulo de *M. hapla* encontrado por planta de tomate.

Especie	t	P-valor
Arrayán	-0,449439	0,65848000
Avellano	2,280000	0,03501520
Canelo	-0,838471	0,41276300
Eucalipto	-1,976130	0,06367130
Maitén	-1,123390	0,27603200
Maqui	-1,802000	0,08831770
Matico	0,000000	1,00000000
Murta	3,899600	0,00105035
Testigo	0,000000	1,00000000

Anexo 20 Análisis de varianza del número de juveniles de *M. hapla* encontrado en raíces de plantas de tomate.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	1887,900	7	269,704	1,68	0,1152
B: Concentración	231,475	2	115,738	0,72	0,4876
Error	35658,200	222	160,622		
Total	37777,600	231			

Anexo 21 Análisis de varianza de la interacción de factores del número de juveniles de *M. hapla* encontrado en raíces de plantas de tomate.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	1759,820	7	251,403	1,54	0,156
B: Concentración	231,475	2	115,738	0,71	0,494
Interacciones					
AB	1627,070	14	116,219	0,71	0,763
Error	34031,100	208	163,611		
Total	37777,600	231			

Anexo 22 Análisis de t Student, entre concentraciones, para juveniles de *M. hapla* encontrados por planta de tomate.

Especie	t	P-valor
Arrayán	-0,341882	0,736399
Avellano	-1,152330	0,264260
Canelo	-0,909718	0,374992
Eucalipto	0,447210	0,660056
Maitén	-0,909718	0,374992
Maqui	0,372104	0,714160
Matico	0,727607	0,476213
Murta	-1,000000	0,330565
Testigo	0,000000	1,000000

Anexo 23 Análisis de varianza del número de huevos de *M. hapla* encontrado en raíces de plantas de tomate.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	140784,0	7	20112,10	9,83	0,0000
B: Concentración	16525,3	2	8262,67	4,04	0,0189
Error	454151,0	222	2045,72		
Total	611460,0	231			

Anexo 24 Análisis de varianza de la interacción de factores del número de huevos de *M. hapla* encontrado en raíces de plantas de tomate.

Fuente	SC	GL	CM	F-calculado	P-valor
A: Especie	131231,0	7	18747,30	11,41	0,000
B: Concentración	16525,3	2	8262,67	5,03	0,007
Interacciones					
AB	112271,0	14	8019,32	4,88	0,000
Error	341880,0	208	1643,65		
Total	611460,0	231			

Anexo 25 Análisis de t Student, entre concentraciones, para huevos de *M. hapla* encontrados por planta de tomate.

Especie	t	P-valor
Arrayán	-0,367884	0,71725000
Avellano	3,111270	0,00602881
Canelo	-0,596120	0,55851800
Eucalipto	-2,094320	0,05065070
Maitén	-0,899229	0,38040300
Maqui	-2,244370	0,03761780
Matico	-0,206284	0,83888400
Murta	3,366100	0,00344021
Testigo	0,000000	1,00000000

Anexo 26 Análisis de varianza del índice de agallamiento “A” evaluado en raíces de plantas de tomate.

Factor	Test de Kruskal Wallis	P-valor
Especie	22,73	0,002
Concentración	4,21	0,122
Especie x Concentración	48,44	0,001

Anexo 27 Test de comparaciones múltiples, factor especie para el índice de agallamiento “A”.

Especie	promedio IA	
Matico	1,66	a
Arrayán	1,83	ab
Eucalipto	1,90	abc
Avellano	1,93	bc
Maqui	2,00	bc
Canelo	2,03	bc
Maitén	2,10	c
Murta	2,14	c

Anexo 28 Test de comparaciones múltiples, factor concentración para el índice de agallamiento “A”.

Concentración	promedio IA	
0	1,89	a
1	1,91	a
0,5	2,04	a

Anexo 29 Análisis de Mann Whitney, entre concentraciones, para el índice de agallamiento “A”.

Especie	w	P-valor
Arrayán	-8,5	0,4506990
Avellano	-4,5	0,7207930
Canelo	-18,5	0,0508935
Eucalipto	18,5	0,0508935
Maitén	-18,0	0,0989598
Maqui	5,0	0,5838790
Matico	5,0	0,6933730
Murta	-15,0	0,1443900
Testigo	0,0	1,0000000

Anexo 30 Análisis de varianza del índice de agallamiento “B” evaluado en raíces de plantas de tomate.

Factor	Test de Kruskal Wallis	P-valor
Especie	11,33	0,125
Concentración	2,33	0,312
Especie x Concentración	21,13	0,573

Anexo 31 Test de comparaciones múltiples, factor especie para el índice de agallamiento “B”.

Especie	promedio IB	
Matico	1,45	a
Avellano	1,48	a
Arrayán	1,52	a
Canelo	1,55	a
Eucalipto	1,62	a
Maitén	1,66	a
Maqui	1,69	a
Murta	1,79	a

Anexo 32 Test de comparaciones múltiples, factor concentración para el índice de agallamiento “B”.

Concentración	promedio IB	
1	1,55	a
0,5	1,58	a
0	1,67	a

Anexo 33 Análisis de Mann Whitney, entre concentraciones, para el índice de agallamiento “B”.

Especie	w	P-valor
Arrayán	-5	0,693373
Avellano	10	0,397959
Canelo	-10	0,407560
Eucalipto	0	0,964510
Maitén	-5	0,680891
Maqui	0	0,962062
Matico	-5	0,680891
Murta	5	0,582775
Testigo	0	1,000000