



Universidad Austral de Chile

---

Facultad de Ciencias Agrarias  
Escuela de Agronomía

**Efecto sobre *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949  
de extractos acuosos de ruda (*Ruta graveolens*  
L.), menta (*Mentha x piperita* L.) y paico  
(*Chenopodium ambrosioides* L.)**

Memoria presentada como parte de los  
requisitos para optar al título de  
Ingeniero Agrónomo

**ANDREA MARÍA JESUS FIERRO KÜLLMER**

Valdivia – Chile

2009

PROFESOR PATROCINANTE:

---

Laura Böhm Stoffel  
Ing. Agr.  
Facultad de Ciencias Agrarias

PROFESORES INFORMANTES:

---

Luigi Ciampi Panno  
Ing. Agr. M. Sc. Ph. D  
Facultad de Ciencias Agrarias

---

Rodrigo Acuña López  
Ing. Agr. M. Sc. Dr. Hort.  
Facultad de Ciencias Agrarias

*Por su apoyo incondicional y comprensión a lo largo de toda mi vida como estudiante,  
por el cariño y amor que me dieron cada día, por enseñarme que no existen límites,  
que lo que me proponga lo puedo lograr y  
que solo depende de mí*

*A mis padres, la Omi y mi marido: German.*

## INDICE DE MATERIAS

| Capítulo |                                                                     | Página |
|----------|---------------------------------------------------------------------|--------|
|          | RESUMEN                                                             | 1      |
|          | SUMMARY                                                             | 2      |
| 1        | INTRODUCCIÓN                                                        | 3      |
| 2        | REVISION BIBLIOGRAFICA                                              | 5      |
| 2.1      | <i>Meloidogyne hapla</i>                                            |        |
| 2.1.1    | Clasificación taxonómica de <i>M. hapla</i> Chitwood, 1949          | 5      |
| 2.1.2    | Caracterización morfológica y ciclo de vida                         | 6      |
| 2.1.3    | Síntomas                                                            | 8      |
| 2.1.4    | Efectos de la infestación por <i>M. hapla</i> en plantas            | 10     |
| 2.2      | Alternativas para el control de nematodos                           | 11     |
| 2.2.1    | Rotación de cultivos                                                | 12     |
| 2.2.2    | Control químico                                                     | 13     |
| 2.2.3    | Control biológico                                                   | 13     |
| 2.2.4    | Otros métodos                                                       | 14     |
| 2.3      | Alelopatía en el control de nematodos                               | 14     |
| 2.4      | Plantas antagónicas a nematodos                                     | 15     |
| 2.4.1    | Ruda ( <i>Ruta graveolens</i> L.) como planta antagonista           | 17     |
| 2.4.2    | Menta ( <i>Mentha x piperita</i> L.) como planta antagonista        | 18     |
| 2.4.3    | Paico ( <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) como planta antagonista | 19     |

|       |                                                                                                                                                        |    |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3     | MATERIAL Y MÉTODO                                                                                                                                      | 20 |
| 3.1   | Materiales                                                                                                                                             | 20 |
| 3.1.1 | Instalaciones                                                                                                                                          | 20 |
| 3.1.2 | Material vegetal                                                                                                                                       | 20 |
| 3.1.3 | Material de laboratorio                                                                                                                                | 20 |
| 3.1.4 | Reactivos                                                                                                                                              | 21 |
| 3.1.5 | Sustratos                                                                                                                                              | 21 |
| 3.1.6 | Nematodo                                                                                                                                               | 21 |
| 3.2   | Método                                                                                                                                                 | 21 |
| 3.2.1 | Preparación y transplante de plantas de lechuga                                                                                                        | 21 |
| 3.2.2 | Obtención de huevos y juveniles de <i>M. hapla</i>                                                                                                     | 21 |
| 3.2.3 | Preparación de los extractos acuosos de las plantas aromáticas en estudio                                                                              | 22 |
| 3.2.4 | Exposición de los propágulos de <i>Meloidogyne</i> al extracto acuoso                                                                                  | 22 |
| 3.2.5 | Inoculación de las macetas con las plántulas                                                                                                           | 23 |
| 3.2.6 | Distribución de los tratamientos del ensayo                                                                                                            | 23 |
| 3.3   | Evaluaciones.                                                                                                                                          | 24 |
| 3.3.1 | Levantamiento del ensayo                                                                                                                               | 24 |
| 3.3.2 | Procesamiento y evaluación de la parte aérea                                                                                                           | 25 |
| 3.3.3 | Procesamiento y evaluación de raíces                                                                                                                   | 25 |
| 3.4   | Análisis de resultados                                                                                                                                 | 26 |
| 3.4.1 | Fase 1: Efecto de tres especies aromáticas en el desarrollo de plantas de lechuga                                                                      | 26 |
| 3.4.2 | Fase 2: Efecto de <i>M. hapla</i> en el desarrollo de plantas de lechuga                                                                               | 26 |
| 3.4.3 | Fase 3: Efecto de la especie aromática y dos tiempos de exposición en la infestación de <i>M. hapla</i>                                                | 26 |
| 3.4.4 | Fase 4: Efecto de la especie aromática, concentración, tipo de tejido y tiempo de exposición del extracto acuoso, en la infestación de <i>M. hapla</i> | 27 |
| 3.5   | Análisis estadístico                                                                                                                                   | 27 |

|       |                                                                                                                                                |    |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4     | PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS                                                                                                         | 28 |
| 4.1   | Efecto de tres especies aromáticas en el desarrollo de plantas de lechuga                                                                      | 28 |
| 4.1.1 | Efecto en el peso fresco total de las plantas                                                                                                  | 29 |
| 4.1.2 | Efecto en el peso seco aéreo de las plantas                                                                                                    | 30 |
| 4.1.3 | Efecto en la longitud radicular de las plantas                                                                                                 | 30 |
| 4.2   | Efecto de <i>M. hapla</i> en el desarrollo de plantas de lechuga                                                                               | 32 |
| 4.2.1 | Efecto en el peso fresco de las plantas                                                                                                        | 33 |
| 4.2.2 | Efecto en el peso seco aéreo de las plantas                                                                                                    | 34 |
| 4.2.3 | Efecto en la longitud radicular de las plantas                                                                                                 | 34 |
| 4.3   | Efecto de la especie aromática y dos tiempos de exposición en la infestación de <i>M. hapla</i>                                                | 36 |
| 4.3.1 | Efecto en el nivel de agallamiento                                                                                                             | 36 |
| 4.3.2 | Efecto en el número de huevos y juveniles generados en raíces                                                                                  | 39 |
| 4.4   | Efecto de la especie aromática, concentración, tipo de tejido y tiempo de exposición del extracto acuoso, en la infestación de <i>M. hapla</i> | 41 |
| 4.4.1 | Efecto de los factores y su interacción, en el nivel de agallamiento                                                                           | 41 |
| 4.4.2 | Efecto de los factores y su interacción, en el número de huevos y juveniles formados en raíces                                                 | 45 |
| 5     | CONCLUSIONES                                                                                                                                   | 51 |
| 6     | BIBLIOGRAFIA                                                                                                                                   | 52 |
| 7     | ANEXOS                                                                                                                                         | 68 |

## INDICE DE CUADROS

| Cuadro                                                                                                                                                                                           | Página |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1 Distribución de los tratamientos en el ensayo                                                                                                                                                  | 24     |
| 2 Índices de agallamiento de raíces de acuerdo a dos escalas comparables                                                                                                                         | 25     |
| 3 Desarrollo de plantas de lechuga en respuesta a la incorporación de extractos acuosos de especies aromáticas                                                                                   | 28     |
| 4 Desarrollo de plantas de lechuga infestadas con <i>M. hapla</i> sometidos a dos tiempos de exposición                                                                                          | 32     |
| 5 Índice de agallamiento de lechuga infestada con propágulos de <i>M. hapla</i> expuestos a extractos acuosos de tres especies aromáticas por dos tiempos de exposición                          | 37     |
| 6 Huevos y juveniles II recuperados de raíces de plantas de lechuga, resultado de exponer <i>M. hapla</i> por dos tiempos a extractos acuosos de tres especies aromáticas                        | 40     |
| 7 Índice de agallamiento de lechuga infestada con propágulos de <i>Meloidogyne hapla</i> expuesto a extractos acuosos de tres especies aromáticas, a cuatro concentraciones y dos tejidos        | 42     |
| 8 Índices de agallamiento de lechuga infestada con propágulos de <i>M. hapla</i> expuestos a extractos acuosos de tres especies aromáticas                                                       | 44     |
| 9 Huevos y juveniles II recuperados en raíces de plantas de lechuga resultado de exponer <i>M. hapla</i> a extractos acuosos de tres especies aromáticas, a cuatro concentraciones y dos tejidos | 46     |

## INDICE DE FIGURAS

| Figura |                                                                                                                                                                                                                | Página |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | Desarrollo proporcional con respecto al testigo, de plantas de lechuga inoculadas con extractos acuosos de tres especies aromáticas                                                                            | 29     |
| 2      | Peso fresco aéreo y radicular de plantas de lechuga en respuesta a la incorporación de extractos acuosos de especies aromáticas                                                                                | 30     |
| 3      | Desarrollo proporcional con respecto al testigo, de plantas de lechuga inoculadas con <i>M. hapla</i> sometido a dos tiempos de exposición                                                                     | 33     |
| 4      | Peso fresco aéreo y radicular de plantas de lechuga inoculadas con <i>M. hapla</i> sometido a dos tiempos de exposición                                                                                        | 34     |
| 5      | Efecto de la interacción de la especie aromática y la concentración del extracto acuoso, en el número total de huevos y juveniles de <i>M. hapla</i> recuperados en raíces de lechuga                          | 47     |
| 6      | Efecto de la interacción de la concentración y el tipo de tejido de extractos acuosos de tres especies aromáticas en el número total de huevos y juveniles de <i>M. hapla</i> recuperados en raíces de lechuga | 48     |
| 7      | Efecto de la interacción de la especie aromática y el tipo de tejido del extracto acuoso, en el número total de huevos y juveniles de <i>M. hapla</i> recuperados en raíces de lechuga                         | 49     |



## INDICE DE ANEXOS

| Figura |                                                                                                                                                     | Página |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | Desarrollo del peso fresco aéreo y radicular de plantas de lechuga en respuesta a la incorporación de extractos acuosos de tres especies aromáticas | 69     |
| 2      | Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco aéreo de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos                                   | 69     |
| 3      | Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco radicular de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos                               | 69     |
| 4      | Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco planta (hoja y raíz) de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos                    | 70     |
| 5      | Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso seco aéreo de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos                                     | 70     |
| 6      | Análisis de varianza (ANDEVA) para la longitud radicular de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos                                  | 70     |
| 7      | Efecto del tiempo de exposición del inóculo (24 y 48 horas) en el peso fresco aéreo y radicular de plantas de lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L.)   | 70     |
| 8      | Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco aéreo de plantas de lechuga por efecto del tiempo de interacción del inóculo                      | 71     |
| 9      | Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco radicular de plantas de lechuga por efecto del tiempo de interacción del inóculo                  | 71     |
| 10     | Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco total de plantas de lechuga (hojas y raíz) por efecto del tiempo de interacción del inóculo       | 71     |
| 11     | Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso seco aéreo de                                                                                            | 71     |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|    | plantas de lechuga por efecto del tiempo de interacción del inóculo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
| 12 | Análisis de varianza (ANDEVA) para la longitud radicular de plantas de lechuga por efecto del tiempo de interacción del inóculo                                                                                                                                                                                                                                                                   | 71 |
| 13 | Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para el índice A, en el estudio del número de agallas radiculares de plantas de lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L.) respuesta a la infestación de <i>Meloidogyne hapla</i> expuesto por dos períodos (24 y 48 horas) a tres extractos de especies aromáticas ( <i>Mentha x piperita</i> , <i>Chenopodium ambrosioides</i> y <i>Ruta graveolens</i> )    | 72 |
| 14 | Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice A (indicador del número de agallas) y el factor tiempo de exposición a las especies aromáticas                                                                                                                                                                                                  | 72 |
| 15 | Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para el índice B, en el estudio del porcentaje de raíces con agallas en plantas de lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L.) respuesta a la infestación de <i>Meloidogyne hapla</i> expuesto por dos períodos (24 y 48 horas) a tres extractos de especies aromáticas ( <i>Mentha x piperita</i> , <i>Chenopodium ambrosioides</i> y <i>Ruta graveolens</i> ) | 73 |
| 16 | Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice B (indicador del número de agallas) y el factor tiempo de exposición a las especies aromáticas                                                                                                                                                                                                  | 73 |
| 17 | Análisis de varianza (ANDEVA) para los huevos y juveniles generados en raíces de lechuga efecto de exponer <i>Meloidogyne hapla</i> por dos tiempos a tres especies aromáticas                                                                                                                                                                                                                    | 74 |
| 18 | Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice A o número de agallas radiculares en plantas de lechuga,                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 74 |

respuesta a la infestación de *Meloidogyne hapla* expuesto a tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y a dos tejidos foliares

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 19 | Resumen de los resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice A (indicador del número de agallas) y los factores independientes especie aromática, concentración y tipo de tejido                                             | 74 |
| 20 | Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice B o porcentaje de raíces con agallas en lechuga, respuesta a la infestación de <i>Meloidogyne hapla</i> expuesto a tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y a dos tejidos foliares                            | 75 |
| 21 | Resumen de los resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice B (indicador del porcentaje de raíces con agallas) y los factores independientes especie aromática, concentración y tipo de tejido                              | 75 |
| 22 | Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice A o número de agallas radiculares en plantas de lechuga, respuesta a la infestación de <i>Meloidogyne hapla</i> expuesto a la interacción de tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y dos tejidos foliares    | 76 |
| 23 | Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice A (indicador del número de agallas) y la interacción de los factores especie, concentración y tipo de tejido                                                                   | 77 |
| 24 | Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice B o porcentaje de raíces con agallas en plantas de lechuga, respuesta a la infestación de <i>Meloidogyne hapla</i> expuesto a la interacción de tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y dos tejidos foliares | 77 |

|    |                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 25 | Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice B (indicador del número de agallas) y la interacción de los factores especie, concentración y tipo de tejido                          | 78 |
| 26 | Análisis de varianza (ANDEVA) con interacción de factores para los huevos y juveniles generados en raíces de lechuga efecto de exponer <i>Meloidogyne hapla</i> a tres especies aromáticas, cuatro concentración y dos tejidos foliares | 78 |
| 27 | Resumen de los huevos y juveniles generados en raíces de lechuga efecto de exponer <i>Meloidogyne hapla</i> a la interacción de las especies aromáticas, las concentraciones y los tejidos foliares                                     | 79 |

## RESUMEN

Con la finalidad de buscar alternativas al control químico, que sean ambientalmente sustentables para el manejo de infestaciones de *Meloidogyne hapla* Chitwood en cultivos, esta investigación planteó como objetivo el determinar si extractos acuosos de tejido fresco y seco de *Ruta graveolens* L. (ruda), *Mentha x piperita* L. (menta) y *Chenopodium ambrosioides* L. (paico), en cinco concentraciones y por dos períodos de tiempo influyen en la infestación del nematodo, basándose en la hipótesis fundamentada por literatura que indica que estas especies aromáticas tienen un efecto supresor de las poblaciones de *M. hapla*. En el ensayo se utilizaron plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Reina de mayo) inoculadas con aproximadamente 1.400 propágulos del nematodo, expuestos previamente a cuatro concentraciones: 25%, 50%, 75% y 100% y dos tiempos de exposición (24 h y 48 h) de extractos acuosos de tejido foliar fresco y seco de *R. graveolens*, *M. x piperita* y *Ch. ambrosioides*, además de tratamientos testigo de extracto sin inocular, de inóculo sin extracto y absoluto. Las macetas se mantuvieron en invernadero frío por 45 días, momento en que se evaluó la biomasa aérea y radicular de las plantas, el agallamiento radicular así como el número de propágulos formados en raíces. Los resultados obtenidos muestran que los extractos acuosos de menta y en menor proporción de paico, así como un mayor tiempo de exposición (48 h), disminuyeron el peso total y la longitud radicular de la planta de lechuga, sin afectar significativamente su desarrollo. En cuanto al desarrollo infestivo del nematodo, lo afectaron significativamente los extractos de ruda, menta y paico, el tipo de tejido, y las distintas concentraciones usadas; *R. graveolens*, el tejido seco y las concentraciones 75% y 100% demostraron poseer el mejor efecto. Los distintos extractos y sus concentraciones no disminuyeron en forma significativa la formación de propágulos en raíces, aún cuando el tejido fresco y la concentración al 100% de *Chenopodium ambrosioides*, demostraron tener mayor control.

## SUMMARY

With the purpose to find alternatives to chemical control, environmentally sustainable to manage infestations of *Meloidogyne hapla* Chitwood in crops, this research aiming to determine if aqueous extracts of fresh and dry tissue of *Ruta graveolens* L. (rue), *Mentha x piperita* L. (peppermint) y *Chenopodium ambrosioides* L. (mexican tea) in five concentrations for two periods of time influence the nematode infestation, based in literature substantiated hypothesis indicating that these aromatic species have suppressive effect on *M. hapla* populations. The study used lettuce plants (*Lactuca sativa* L. cv. Reina de mayo) inoculated with approximately 1.400 nematode eggs and juveniles II, previously exposed to four concentrations: 25%, 50%, 75% and 100%, and two exposure time (24 h and 48 h) of aqueous extracts of fresh and dry leaf tissue of *R. graveolens*, *M. x piperita* y *Ch. ambrosioides*. There was an uninoculated extract, inoculum without extract and an absolute control. The pots were kept in the greenhouse for 45 days. After which the aboveground biomass and plant root, root galls and the number of propagules formed on roots was assessed. The results show that the peppermint, in less proportion the Mexican tea aqueous extracts and an increased exposure time (48 h), decreased the overall weight and root length of lettuce plant without significantly affecting its development. The nematode infective development was significantly affected by the aromatic species, the tissue type and the different concentrations used, demonstrating the best effect *R. graveolens*, dry tissue and 75% and 100% concentrations. The aqueous extract and its concentrations doesn't significantly decrease the level of propagules produced on roots, demonstrating greater control the extract of *Ch. ambrosioides*, the fresh tissue and a 100% concentration.

## 1 INTRODUCCIÓN

El suelo, como base de todo cultivo, es la fuente del sustento, nutrición y mantención de la microflora y fauna, y permite la integración de los nutrientes al sistema. En él, habitan también muchas especies antagonistas a las plantas como son, entre otros, los nematodos fitoparásitos, los que por la misma actividad agrícola pueden alcanzar gran importancia por su acción nociva a los cultivos.

Los nematodos son animales microscópicos con forma de gusano, multicelulares y adaptados para vivir en un medio acuático. Su población puede alcanzar hasta millones de individuos en una pequeña muestra de suelo, siendo muchos de vida libre y otros dependientes de un hospedero. Estos últimos son los denominados “nematodos parasíticos” entre los cuales se encuentran los fitoparásitos, que se alimentan de plantas, destacando entre ellos las especies endoparásitas de los géneros *Pratylenchus*, *Heterodera* y *Meloidogyne* como los más dañinos. Los individuos del género *Meloidogyne*, parasitan raíces y otros órganos subterráneos de las plantas induciendo en éstas la formación de nódulos o agallas y con ello impidiendo su óptimo desarrollo.

El daño que causan las especies de *Meloidogyne* en plantas cultivadas, la amplitud en el rango de hospedantes de cada uno y su hábito de parasitismo, hace necesario diversificar los métodos de control, en especial porque en los últimos años se ha prohibido la fabricación y el uso de algunos productos químicos a causa de su alta persistencia y daño ambiental.

El control de nematodos fitoparásitos utilizando métodos biológicos, especialmente referidos a la incorporación de plantas antagonistas o la inclusión de sus tejidos o extractos a los sustratos de cultivo constituye una alternativa eficaz especialmente en la agricultura ecológica. Así por ejemplo, la incorporación al sustrato de algunas brásicas, como también la utilización de plantas y compuestos de especies tan diversas como *Azardachta indica*, *Tagetes* sp., *Asparagus officinalis*, *Calendula* sp.

y otras han mostrado un efecto controlador sobre diferentes especies de nematodos como son *Radopholus*, *Xiphinema*, *Ditylenchus* y *Meloidogyne*.

A lo anterior, se debe sumar el hecho que diversas especies de hierbas medicinales o plantas aromáticas de uso común en el país son consideradas en la medicina popular como “antihelmínticas” o “vermífugas”, por lo cual, es factible plantear como hipótesis que algunas especies como ruda (*Ruta graveolens* L.), menta (*Mentha x piperita* L.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) tienen un efecto supresor de las poblaciones de *Meloidogyne hapla*.

Como existen en la literatura antecedentes diversos sobre la eficacia en el control de *Meloidogyne* de algunas plantas o sus extractos, la investigación propuesta presenta como objetivo general:

- Determinar el efecto de tres especies de plantas aromáticas sobre *Meloidogyne hapla*.

Los objetivos específicos son:

- Establecer la capacidad infestiva de propágulos de *Meloidogyne hapla* sometidos, previa inoculación, a extractos acuosos de tejido foliar fresco y seco de ruda (*Ruta graveolens* L.), menta (*Mentha x piperita* L.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.).
- Evaluar dos tiempos de exposición (24 h y 48 h) y cuatro concentraciones (25%, 50%, 75% y 100 %) de cada extracto acuoso, en el índice de agallamiento y en la formación de huevos y juveniles de *M. hapla* en raíces de lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Reina de mayo).
- Analizar la respuesta de las plantas de lechuga inoculadas con propágulos de *M. hapla* sometidos, previamente, a las variables antes mencionadas.



## 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los nematodos se encuentran entre los diversos microorganismos que afectan cultivos. Algunas especies destacan por su agresividad y acción depresora sobre la planta hospedera, hallándose entre los géneros ampliamente distribuidos y frecuentes a: *Meloidogyne*, *Xiphinema*, *Tylenchulus*, *Heterodera*, *Globodera* y *Ditylenchus* (BRIDGE y WILLIAMS, 2002; STIRLING *et al.*, 2002). Estos poseen gran adaptabilidad en cuanto a su hábito de vida y se encuentran en medios como: suelo, agua, plantas y animales (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999).

En general, la mayoría de los nematodos fitoparásitos presentan más de un hospedero, no siendo el género *Meloidogyne* una excepción. Llamados comúnmente “nematodo del nudo de la raíz”, se han descrito alrededor de 80 especies a nivel mundial (JEPSON, 1987; MOENS *et al.*, 2009), entre ellas *M. incógnita*, *M. hapla*, *M. arenaria* y *M. javanica*, causantes reconocidos de más de un 95% de los daños en plantas herbáceas, leñosas en suelos agrícolas de Chile (ABALLAY *et al.*, 1998; NAVAS *et al.*, 2001; HUSSEY y JANSSEN, 2002).

### 2.1 *Meloidogyne hapla*

El género *Meloidogyne* tiene una amplia distribución en todas las áreas agrícolas del mundo y en Chile, causando grandes pérdidas en cultivos y frutales (SAN MARTIN y MAGUNACELAYA, 2005; KUTYWAYO y BEEN, 2006). Recibe el nombre común de “nematodo del nudo de la raíz” y “nematodo agallador”, y afecta una vasta gama de especies vegetales, entre plantas cultivadas y malezas, siendo su control muy difícil, especialmente por ser endoparásitos obligados (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999; CHEN *et al.*, 2004).

**2.1.1 Clasificación taxonómica de *M. hapla* Chitwood, 1949.** SOUTHEY (1978) y BRIDGE y WILLIAMS (2002), indican que todos los fitonemátodos pertenecen al Phylum Nematoda, perteneciendo la mayoría de los géneros parásitos importantes al orden Tylenchida.

|               |                          |
|---------------|--------------------------|
| Phylum:       | Nematoda                 |
| Clase:        | Secernentea              |
| Orden:        | Tylenchida               |
| Suborden:     | Tylenchina               |
| Superfamilia: | Heteroderoidea           |
| Familia:      | Meloidogynidae           |
| Subfamilia:   | Meloidogyninae           |
| Género:       | Meloidogyne              |
| Especie:      | <i>Meloidogyne hapla</i> |

**2.1.2 Caracterización morfológica y ciclo de vida.** Los nematodos del género *Meloidogyne* son parásitos sedentarios y una vez que ingresan o se establecen en los tejidos de la planta, no se mueven ni cambian de posición (SASSER, 1989; BRIDGE y WILLIAMS, 2002).

Las especies de *Meloidogyne* presentan cinco estados de desarrollo. El primero corresponde al huevo, de tamaño diminuto y menor a 0,08 mm, seguido por cuatro estados juveniles, los que se suceden por cuatro mudas cuticulares, siendo el último el adulto (BRIDGE y WILLIAMS, 2002; HUSSEY y JANSSEN, 2002).

El primer juvenil que eclosiona del huevo es el JII y corresponde al único estado capaz de iniciar el proceso infestivo, al poseer un estilete desarrollado y estructurado para abrirse paso entre las células vegetales hasta alcanzar el sitio de alimentación (BRIDGE y WILLIAMS, 2002). Este presenta la típica forma vermiforme, con un tamaño entre 0,3 a 0,4 mm de largo (BRIDGE y WILLIAMS, 2002; STIRLING *et al.*, 2002) y posee una gran reserva de lípidos en las células del intestino que lo sustentan en su desplazamiento por el suelo (ROBINSON, 2007).

Este juvenil II luego de iniciar la infestación y a medida que se alimenta y desarrolla, sufre tres mudas, logrando diferenciarse en hembra o macho. La hembra sufre un aumento del grosor de su cuerpo, alcanzando aproximadamente la mitad de su longitud, llegando a ser de forma ovalada y con un tamaño de 0,4 a 1,3 mm de largo por 0,3 a 0,8 mm de ancho; por otro lado, el macho, sale de la cutícula del juvenil IV

como gusano vermiforme capaz de movilizarse en el medio (HUSSEY y JANSSEN, 2002; AGRIOS, 2005).

Las hembras de *M. hapla* comienzan a depositar huevos después de 20 a 30 días de haber penetrado en las raíces (entre 200 a 2000 huevos) (BRIDGE y WILLIAMS, 2002). Previo a depositar los huevos, secreta a través de una glándula ubicada en el sector anal una sustancia gelatinosa, rica en ácidos polisacáridos, complejos proteicos y algunas enzimas (BIRD y ROGERS, 1965). Esta tiene por objetivo mantener los huevos unidos y formar con ella una cubierta protectora, variando su color desde amarillo claro al pardo oscuro (Willmott *et al.*, 1972: citado por BARRIA, 1997). La formación de los huevos puede ocurrir a través de la fecundación cruzada, con la participación del macho o por medio de partenogénesis meiótica facultativa (HUSSEY y JANSSEN, 2002).

Los machos de *Meloidogyne* también estimulan el desarrollo de agallas (hipertrofia e hiperplasia) en las raíces en la misma forma que las hembras, aun cuando es por un período menor (RODRIGUEZ *et al.*, 1997).

Luego de eclosionar del huevo, el juvenil II se mueve entre las partículas del suelo por estímulos de las raíces, captados por amfidios quimiorreceptores ubicados en el sector de la apertura bucal (PERRY, 1996), hasta tomar contacto con tejido radicular, usualmente el ápice de la raíz o la zona de elongación (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999). Una vez que ingresa, migra a través de las células del cortex para alimentarse de las células protoxilematicas contiguas (McCLURE y ROBERTSON, 1973; TAYLOR y SASSER, 1983). Si esto no sucede, pueden sobrevivir en el suelo en un estado de quiescencia por un cierto período de tiempo, el que dependerá de sus reservas alimenticias (EVANS *et al.*, 1993).

Una vez que el juvenil II se instala en el tejido cortical, en la zona de diferenciación, se ubica orientando su cuerpo hacia la corteza (PERRY, 1996; AGRIOS, 2005; CURTIS, 2007). En esta posición establece su sitio de alimentación, donde inserta su estilete en las células contiguas para succionar su contenido, mientras el proceso de digestión del contenido celular se hace en parte extra corporalmente por efecto la secreción de enzimas en la saliva del nematodo (JAUBERT *et al.*, 2002). Es este fluido salival el que provoca que las células contiguas

se agiganten (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999; BRIDGE y WILLIAMS, 2002), caracterizándose por poseer una proliferación nuclear, ribosomal y mitocondrial intensa debido a la acelerada actividad metabólica (ROBINSON, 2007).

Durante las siguientes semanas, el tejido alrededor de este sitio de alimentación cambia, sucediendo excesivas hipertrofias e hiperplasias de las células, con lo que se da forma a una agalla (CAILLAUD *et al.*, 2008). Paralelamente el nematodo muda tres veces pasando de ser una larva a una hembra adulta, con su cuerpo totalmente embebido en el tejido radicular con solamente la parte posterior expuesta al exterior de la raíz, de donde se originará la matriz gelatinosa que contendrá los futuros huevos (ROBINSON, 2007).

Los huevos podrán eclosionar inmediatamente o algunos de ellos podrán pasar el invierno para eclosionar en primavera cuando las condiciones sean más favorables para las larvas (HARI *et al.*, 2000; PERRY, 2003; AGRIOS, 2005; WESEMAEL *et al.*, 2006).

El ciclo de vida puede completarse en aproximadamente 25 días, aumentando o disminuyendo su duración dependiendo de la temperatura (TRUDGILL y PERRY, 1994; TRUDGILL, 1995; PLOEG y MARIS, 1999; AGRIOS, 2005).

**2.1.3 Síntomas.** El efecto de la infestación de nematodos en una planta hospedante generalmente provoca síntomas. Sin embargo, esto va a estar directamente relacionado con su nivel poblacional y con el nivel de susceptibilidad de la planta (TAYLOR y SASSER, 1983). Además, el nivel de daño dependerá de la interacción de varios factores que condicionan estrés al huésped como: sequía, nutrición inadecuada o el presentar las plantas afectadas otros patógenos que bajan sus defensas (SASSER, 1989).

Entre los síntomas que se pueden percibir luego de una infestación se encuentran los síntomas aéreos, muy generales, no específicos y muy parecidos a aquellos que son producidos por deficiencia de minerales (CHEN *et al.*, 2004).

Según TAYLOR y SASSER (1978), MAGUNACELAYA y DAGNINO (1999) y CHEN *et al.*, (2004), entre los síntomas aéreos los más comunes son: inhibición de la brotación, disminución del crecimiento y deficiencias nutricionales en forma de clorosis del follaje, ya que los nematodos interfieren en la producción y translocación de

substancias provenientes de las raíces, como las hormonas giberelinas y citoquininas, y también de substancias que regulan la fotosíntesis. Otro síntoma, a pesar de existir humedad adecuada en el suelo, es la marchitez temporal, que debido al menor tamaño del sistema radical y a que los elementos vasculares en los nódulos se rompen y deforman, interrumpiendo mecánicamente el flujo normal de agua y nutrientes, con una final disminución de la producción o pérdida de ésta.

Los síntomas directos se observan en el tejido afectado, es decir órganos subterráneos o raíces en el caso de las especies de *Meloidogyne* (HUANG y MAGGENTI, 1969; JEPSON, 1987; EISENBACK y TRIANTAPHYLLOU, 1991) entre los que se encuentran formación de agallas. De acuerdo a los mismos autores, éstas son una consecuencia de las alteraciones en el desarrollo celular, por la interacción de proteínas y glicoproteínas introducidas al hospedero desde las glándulas del esófago subventral del juvenil II. De esta forma, se van desarrollando células gigantes, multinucleadas, debido al efecto de mitosis repetitivas de un núcleo simple dentro de la misma célula, a las células teniendo un citoplasma denso y/o paredes celulares altamente invaginadas; menor número de raíces principales y la presencia de excesivas raíces adventicias (FAVERY *et al.*, 1998; BRIDGE y WILLIAMS, 2002; CAILLAUD *et al.*, 2008).

Según CHEN *et al.* (2004), los cambios morfológicos de la raíz dependen del hospedero y de la especie de nematodo que esté involucrado e incluye la cantidad, extensión, y tipo de agalla y, en casos especiales, ocurre también la supresión de las raicillas secundarias y el desarrollo de las finas raíces laterales alrededor de la zona infectada.

Para alimentarse *Meloidogyne* se ubica en las células parenquimáticas de las plantas, estimulando con sus secreciones a las células que rodean su cabeza a aumentar de tamaño o fusionarse con las células adyacentes; los núcleos aumentan de tamaño y el citoplasma se hace más denso, mientras los organelos incrementan en número (CAILLAUD *et al.*, 2008). Ello hace que estas células aumenten su metabolismo de síntesis en respuesta a la punción y succión del nematodo y se les denominan “células gigantes” o agallas (SASSER, 1989).

Los tejidos preferidos para esto son el floema o el parénquima adyacente, alimentándose de 5 ó 6 células, sin llegar a destruirlas. Las células del parénquima superficial y del periciclo sufren hiperplasia mientras que las células corticales cercanas usualmente sólo sufren hipertrofia (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999; GOVERSE *et al.*, 2000).

La magnitud de estos síntomas variará de acuerdo al número de juveniles que penetre en las raíces y de la cantidad que se establezca dentro de los tejidos radiculares del hospedero, así también como de la susceptibilidad del hospedero (MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999; BRIDGE y WILLIAMS, 2002).

**2.1.4 Efectos de la infestación por *M. hapla* en plantas.** La alimentación directa del nematodo puede afectar drásticamente la absorción de nutrientes y agua de la planta cuando esta es susceptible al ataque del nematodo, afectando en el crecimiento y rendimiento del cultivo (EL-SHERIF *et al.*, 2007). Este daño se puede ver incrementado por bacterias y hongos parásitos, que penetran e infectan el tejido radicular debilitado por las heridas causadas por la alimentación del nematodo y las células indiferenciadas e hipertrofiadas de las agallas; algunos hongos como: *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Pythium*, se reproducen con mayor rapidez en las agallas, induciendo un temprano colapso del sistema radicular (DUFOUR *et al.*, 2003; AGRIOS, 2005).

SASSER y JENKINS (1960), indican que la relación hospedero-parásito es afectada, además de la habilidad parasitaria inherente al nematodo y la relación de otros microorganismos con el hospedero, por múltiples factores como: la característica genética del hospedero, el inóculo potencial o el número de parásitos involucrados en la etiología, las condiciones ambientales, entre otras.

Entre algunas condiciones ambientales influyentes en esta relación nematodo-hospedero, los factores que inciden directamente sobre la supervivencia y reproducción del nematodo son: temperatura, humedad y las propiedades físicas del suelo (TAYLOR Y SASSER, 1978).

Las altas temperaturas (20 - 28° C) aumentan la población en corto tiempo, mientras que bajas temperaturas (0 - 5° C) alargan el ciclo biológico, con lo que disminuye su multiplicación (BIRD y WALLACE, 1965; TAYLOR Y SASSER, 1983; LAHTINEN *et al.*, 1988; PLOEG y MARIS, 1999).

La humedad del suelo es importante para la actividad y supervivencia de los nematodos como para la actividad de la planta, pudiendo vivir los nematodos en estado de stress hídrico con una película de agua en el suelo, esencial para su movilidad, ya que de lo contrario se inactivan o mueren (BRIDGE, 1996).

Junto con la humedad del suelo, la textura, la estructura y la cantidad de materia orgánica presente en éste son de gran importancia, ya que *Meloidogyne* es más severo en suelos arenosos que en suelos arcillosos, influyendo la materia orgánica por los componentes secundarios secretados por la descomposición de estas, los que algunas veces llegan a ser tóxicos para el nematodo (TAYLOR y SASSER, 1983; MAGUNACELAYA y DAGNINO, 1999).

Algunos estudios indican que ciertos cultivos reducen activamente la población de nematodos mediante la exudación de componentes con efecto nematicida, mientras que otros simplemente son cultivos no huéspedes (RODRIGUEZ-KABANA, 1992). Estas exudaciones también pueden contribuir a estimular el desarrollo de poblaciones de hongos y bacterias antagonistas propias del suelo, alimentándose algunas de huevos de *Meloidogyne* sp., ayudando a controlar su población (GREWAL, 1989; CHAVARRIA-CARVAJAL *et al.*, 1994).

## **2.2 Alternativas para el control de nematodos**

En Chile, diversos cultivos hortícolas y ornamentales, además de muchos otros como alfalfa, frutales de carozo, praderas, papas, remolacha y vid, son altamente susceptibles a *M. hapla* y otras especies del género, generando grandes pérdidas en el rendimiento si no se controla adecuadamente (EISENBACK y TRIANTAPHYLLOU, 1991; MITKOWSKI, 2002; SAN MARTÍN y MAGUNACELAYA, 2005).

Una vez que el nematodo se ha establecido en un cultivo, es muy difícil de erradicar, ya que por las labores agronómicas de éste como el transplante, paso de maquinaria y en especial el riego, se dispersan cada vez más (PEET, 1996).

Hoy en día, los nematodos fitoparásitos son controlados por métodos culturales, nematicidas químicos y cultivares resistentes, donde el uso de productos químicos tiene preponderancia (HAGAN *et al.*, 1998; FERRAZ y FREITAS, 2004; VAN DER PUTTEN *et al.*, 2006). Aún así, a futuro su utilización será cada vez más restringida por

los problemas ambientales, humanos y animales que estos conllevan al aplicarlos (QUENEHERVE *et al.*, 1998; OKA *et al.*, 2000).

Lo anterior lleva a utilizar otros métodos de control y a buscar nuevas alternativas; generalmente, una combinación o una integración de algunas de las prácticas de control tienen mayor efectividad reduciendo el daño del nematodo que el usarlas por si solas. Estos efectos pueden clasificarse bajo dos categorías: a) previniendo la introducción al usar material libre de nematodos, y b) usándolos directamente al observar los síntomas del ataque sobre el cultivo (BRIDGE, 1996; BRIDGE y WILLIAMS, 2002; DUFOUR *et al.*, 2003).

Los nematodos del género *Meloidogyne* sp. son considerados oportunistas, al ser uno de los primeros organismos en invadir el suelo luego de un disturbio o movimiento de este, lo cual se suma a la resistencia que le confiere la matriz gelatinosa a los huevos (DROPKIN, 1980; INGHAM, 1996; DUFOUR *et al.*, 2003; VAN DER PUTTEN *et al.*, 2006). Es por esto que es importante manejar el suelo con tareas como: compost, enmienda animal, enmienda vegetal, cultivos de cubierta y rotaciones de cultivos, promoviendo el crecimiento de organismos benéficos, disminuir la población de nematodos y otros daños a los cultivos, por un mejoramiento de la estructura y fertilidad del suelo, un desprendimiento de compuestos tóxicos o un incremento de la población de hongos y bacterias parásitas al nematodo junto con otros agentes antagónicos (STIRLING, 1991; AKHTAR y MASHKOOR, 1993; AKHTAR y MALIK, 2000).

**2.2.1 Rotación de cultivos.** Si un mismo cultivo susceptible es establecido año tras año, los nematodos aumentan su población exponencialmente mientras disponga para su desarrollo de alimento suficiente (PARK *et al.*, 2007; BRINKMAN *et al.*, 2008). El rotar cultivos susceptibles con otros no-hospederos a *Meloidogyne* permite prevenir que la población del nematodo alcance el nivel económico de daño, pero sin llegar a eliminarlo (PEET, 1996).

Lo ideal, es incluir en las rotaciones cultivos taxonómicamente no relacionados, aún mejor si se puede rotar de una hoja ancha a una gramínea. Entre algunas de las especies que son aptas para rotaciones de cultivos y que actúan reduciendo la



población de estos se pueden nombrar a: espárragos, maíz, cebolla, arroz, entre otros (DROPKIN, 1980; PEET, 1996).

Un ejemplo, actualmente en práctica por algunos agricultores, es la rotación de dos años entre ajo y cereales de grano pequeño, lo que ha demostrado una disminución efectiva de la densidad poblacional de *M. hapla*, teniendo un buen control de las posibles malezas hospederas del fitonematodo (BELAIR, 1992; BELAIR y PARENT, 1996).

**2.2.2 Control químico.** El uso de compuestos químicos, específicamente compuestos nematicidas, ha ido declinando considerablemente a través de los años ya que muchos de los productos que se encontraban en el mercado como los fumigantes, que utilizan bromuro, han sido eliminados por su toxicidad y alto costo (NOLING y BECKER, 1994; OKA *et al.*, 2001; SAN MARTIN y MAGUNACELAYA, 2005). Además, se encuentra el daño ambiental y humano que conlleva, junto con un efecto detrimental a organismos favorables del agroecosistema (BRIDGE y WILLIAMS, 2002; VAN DER PUTTEN *et al.*, 2006; ROBINSON, 2007).

Existen dos grupos de nematicidas: los de bajo peso molecular o conocidos como fumigantes de suelo y los de contacto como los carbamatos y organofosfatos (BAKKER, 1993; WHITEHEAD, 1997). Entre los más usados se encuentran: 1,3 Dicloroprofeno (Telone II), Metan sodio y los inhibidores de cloresterasa: aldicarb y oxamyl (BUTOOL *et al.*, 1998; BRIDGE y WILLIAMS, 2002; ROBINSON, 2007).

Según (OKA *et al.*, 2000) como se ha prohibido el uso de muchos nematicidas fumigantes, el uso de los nematicidas no fumigantes basados en los organofosforados y en el carbamato aumentaría, lo que conllevaría a nuevas implicancias y análisis en el uso de químicos en el control de nematodos.

**2.2.3 Control biológico.** El control biológico aún no ha sido adoptado como una práctica de control para el manejo de los problemas causados por los nematodos, pero si es posible tratar un suelo infestado con *Meloidogyne* mediante organismos vivos o sus compuestos, que actúen controlando su población (SIDDIQUI y MAHMOOD, 1993; KERRY, 2000; CHITWOOD, 2002; VAN DER PUTTEN *et al.*, 2006). Entre ellos se puede mencionar a microorganismos como: las bacterias *Pasteuria penetrans*, *Bacillus thuringiensis*, *B. chitinosporus* y *Burkholderia cepacia*; algunos hongos como:

*Trichoderma harzianum*, *Dactylella oviparasitica* y *Paecilomyces lilacinus* que parasitan los huevos de *Meloidogyne*, además de *Hirsutella rhossiliensis*, *H. minnesotensis*, *Verticillium chlamydosporum*, *Arthrobotrys dactyloides* y *Myrothecium verrucaria* (AGRIOS, 2005; ROBINSON, 2007).

**2.2.4 Otros métodos.** Entre otras opciones para controlar nematodos se pueden mencionar por ejemplo: la solarización del suelo y el barbecho, siendo utilizado también el mejoramiento genético a través de cultivares resistentes y el uso de aceites esenciales de ciertas especies, entre otros (AGRIOS, 2005).

Generalmente, el uso de cultivares resistentes ofrece un mejor control con nematodos sedentarios como lo es *Meloidogyne*, ya que en la mayoría de los casos los juveniles que penetran a las raíces no pueden establecer el sitio de alimentación, quedando “atrapados” en su interior (DUFOUR *et al.*, 2003).

### **2.3 Alelopatía en el control de nematodos**

INSUNZA y FIABANE (1991) como HALBRENDT (1995 y 1996), señalan que ciertas plantas usadas como cultivos de cobertera y/o incorporadas como abonos verdes, liberan compuestos con efectos controladores o antagónicos sobre los nematodos fitoparásitos en huertos comerciales, señalando la existencia de unas 2.400 especies de plantas con estas propiedades plaguicidas a escala mundial, de las cuales 350 tendrían acción nematocida y estarían presentes en Chile.

ALLAM *et al.* (1990), INSUNZA y FIABANE (1991) y BIRCH *et al.* (1993) indican que los compuestos liberados por algunas plantas tienen un efecto directo sobre los nematodos fitoparásitos al modificar su comportamiento en relación con la planta hospedera, pero también pueden presentarse efectos indirectos, consistentes en: estimular el crecimiento de la planta, aumentar la tolerancia al ataque, mejorar las reacciones de defensa del vegetal y en algunos casos aumentar el rendimiento en más de 30%.

El concepto de alelopatía es clave para entender por qué algunas plantas pueden reducir o modificar las poblaciones de nematodos fitoparásitos. RICE (1984) define alelopatía como: “cualquier efecto, directo o indirecto, beneficioso o perjudicial, provocado por una planta o microorganismo sobre otro, aún así sea por la liberación de metabolitos secundarios liberado al ambiente”. HALBRENDT (1996), indica que estos

metabolitos secundarios están presentes en diversas plantas, ya sea en el tejido crudo, en descomposición o en un extracto de ellas; pudiendo utilizarlos beneficiosamente en rotaciones, cultivos intercalados o como abono orgánico contra los nematodos.

De acuerdo a MOREND (1999), los vegetales producen dos tipos de componentes químicos: los “principios inmediatos” o metabólicos primarios (proteínas, glúcidos y lípidos) que derivan de la fotosíntesis y los “principios activos” o metabólicos secundarios, que derivan de la asimilación del nitrógeno.

Los metabólicos secundarios son sintetizados y almacenados durante el desarrollo de la planta, no distribuyéndose equitativamente a través de ella (PALOW, 1985). Se liberan vía volatilización o exudación, vía las raíces, lixiviándose desde la planta o sus residuos, o a partir de la descomposición de estos (HALBRENDT, 1996); donde según CHITWOOD (2002), muchos de estos compuestos químicos presentes en las plantas y nocivos para los nematodos, son amigables con el medio ambiente y los humanos, no así los nematicidas químicos.

Uno de los primeros efectos de alelopatía nematodo-planta se observó con caléndula (*Tagetes* sp.), al controlar algunas especies de *Meloidogyne* usándola como cultivo de rotación o como enmienda (RICE, 1983; BHATTI, 1988).

## **2.4 Plantas antagónicas a nematodos**

Las secreciones de ciertas plantas no hospedantes para nematodos, pueden en alguna forma enmascarar o neutralizar los efectos de la secreción de una planta huésped a la que, de otra forma, sí habría respuesta. Si estas secreciones o principios activos, se encuentran en concentraciones suficientes, pueden incluso llegar a ser tóxicas para los nematodos (DECKER y SVESHNIKOVA, 1989.).

Según UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA) (2003), hasta 1998 en Norteamérica se habrían registrado unos 175 ingredientes activos y 780 productos de la categoría de bioplaguicidas, encontrándose varios de origen vegetal, extraídos de plantas como: ajo, menta, y familias como las Rutáceas y Asteráceas.

Estos principios activos propios de las plantas pueden estar en distintas concentraciones (0,1 a 3% del peso seco) dentro de una misma planta, influyendo en

esto último la familia botánica, el género y la especie (ALONSO, 1998; ROJAS, 1999; MUÑOZ *et al.*, 2001).

INSUNZA *et al.* (2001), afirman que cerca de 30 especies de plantas en Chile, nativas y naturalizadas, presentan propiedades antihelmínticas, pudiendo algunas de ellas alcanzar un potencial de control frente a nematodos fitoparásitos, dependiendo de la concentración de los extractos y a la especie del nematodo. Entre ellas destacan: *Asparagus officinalis*, *Brassica campestris*, *Calendula officinalis*, *Melissa officinalis*, *Plantago major*, *Ruta graveolens*; y de las plantas nativas chilenas: *Aristotelia chilensis* (hojas); *Cestrum parqui* (corteza); *Quillaja saponaria* (hojas y flores).

Algunas alomonas seleccionadas de estas plantas han mostrado tener varios efectos sobre los nematodos fitoparásitos, como por ejemplo, antioviposición, repelencia, nematotoxicidad, anti-alimentario, reducción de la actividad vectorial, inhibición del desarrollo de las hembras, entre otros (BIRCH *et al.*, 1993).

Junto con esto, DUFOUR *et al.* (2003) indican que aceites esenciales de hierbas aromáticas y culinarias contienen componentes nematicidas como el carvacrol y el timol, que a muy pequeñas concentraciones (1000 µg/L, ó 0,001 mg/L) pueden inmovilizar a los juveniles y reducir la eclosión de los huevos de los nematodos del nudo de la raíz, pero no necesariamente al inmovilizarlos los elimina.

Un ejemplo de la alelopatía planta-nematodo se puede apreciar en raíces de caléndula africana (*Tagetes erecta* L.), donde especies de *Meloidogyne* no logran establecer un sitio de alimentación que les permita cumplir su ciclo de vida, donde al efecto depresor se atribuye a los politienilos existentes en la planta (CHITWOOD, 2002). Además, se pueden mencionar otras especies con similar efecto supresor como: espárrago (*Asparagus* sp.), albahaca (*Ocinum* sp.), ruda (*Ruta graveolens*), paico (*Chenopodium ambrosioides*), llantén (*Plantago major* L.) y otras (INSUNZA, 1990).

Otro ejemplo son las brásicas, las cuales contienen un componente químico de la clase de los glucosinalatos y los isotiocianatos, que presenta una nematotoxicidad al degradarse producto de la acción enzimática, que aunque no lo mata, interfiere con su ciclo reproductivo (CHITWOOD, 2002). Otras Brasicas que también han sido evaluadas

para controlar nematodos son: el rábano (*Raphanus sativus*) (COLLINGBORN *et al.*, 2000), raps (*Brassica napus*) (DE WAELE *et al.*, 1988), y *Sinapsis* sp., entre otras.

A su vez, el sorgo (*Sorghum bicolor*, Fam. Poaceae) y la yuca (*Manihot esculenta*, Fam. Euphorbiaceae) contienen los glicósidos durrina y linamarina respectivamente, los que por medio de la hidrolización enzimática liberan cianuro por intermedio de la cianihidrina, tóxico para el nematodo (WIDMER y ABAWI, 2000; CHITWOOD, 2002).

Entre otras familias que liberan compuestos nematotoxicos se pueden nombrar a las Asteraceae que liberan poliacetilenos (KOGISO *et al.*, 1976a; KOGISO *et al.*, 1976b, KAWAZU *et al.*, 1980), algunas especies de la familia Fabaceae que liberan alcaloides (BIJLOO, 1965; FASSULIOTIS y SKUCAS, 1969; MATSUDA *et al.*, 1989; MATSUDA *et al.*, 1991), algunas especies de la familia Poaceae que tienen ácidos grasos y sus derivados presentes en tejidos animales y vegetales como esteres (TARJAN y CHEO, 1956; SAYRE *et al.*, 1965), algunas especies de las familias Labiaceae y Myrtaceae que presentan terpenoides (MALIK *et al.*, 1987; OSMAN y VIGLIERCHIO, 1988; VIGLIERCHIO y WU, 1989; SANGWAN *et al.*, 1990; BAUSKE *et al.*, 1994), otras especies que presenten fenoles (MAHESHWARI y ANWAR, 1990; MAHMOOD y SIDDIQUI, 1993), entre otros compuestos.

**2.4.1 Ruda (*Ruta graveolens* L.) como planta antagonista.** La ruda, de la familia Rutaceae y originaria del sur de Europa, es una hierba aromática pequeña y siempreverde, con hojas verde-azuladas que emiten un fuerte aroma y tienen un sabor amargo (ZENG *et al.*, 2008).

Las hojas y las flores contienen aceites esenciales (0,1% del peso seco), heterósidos como la rutina (1 - 2%), alcaloides y taninos, los cuales le dan la característica de planta antihelmíntica (SABILLON y BUSTAMANTE, 1996; ROJAS, 1999; VANACLOCHA y CAÑIGUERAL, 2003). La aplicación de tejidos foliares de ruda como extracto, entre otros, han mostrado efecto nematicida hacia especies de *Meloidogyne* sp., como también para *Ditylenchus dipsaci* y *Xiphinema index* (INSUNZA y VALENZUELA, 1995; SASANELLI, 1995; MAREGGIANI *et al.*, 1997).

Además, PAULINI *et al.* (1991), SASANELLI (1992) y SASANELLI y D'ADDABBO (1993) encontraron que estos compuestos químicos participan en la

respuesta de defensa de las células de las plantas como antivirales, antibióticas y antifúngicas.

Los tejidos de esta hierba, inhiben la eclosión de los huevos de *Heterodera schachtii* (SASANELLI y D'ADDABBO, 1992 y 1993), señalando SASANELLI y D'ADDABBO (1995) a un flavonoide: la rutina, el primer compuesto aislado de ruda, como el responsable de la actividad nematocida de esta planta, complementándose con una cumarina: la xantotoxina, y dos alcaloides: kokusaginina y la skimianina; mientras que DUKE (1991), atribuye a la 2-rudeacrona, principal componente del aceite de ruda, la actividad antihelmíntica

**2.4.2 Menta (*Mentha x piperita* L.) como planta antagonista.** La menta, pertenece a la familia Lamiaceae. Es una hierba perenne, rizomatoza y aromática, originaria de la zona templada del hemisferio norte (MUÑOZ *et al.*, 2001).

Su valoración económica para propósitos culinarios es reconocida, y podría ser muy valorado su uso en la agricultura, aún más si se demuestra su efecto depresor en las poblaciones de nematodos (WALKER y MELIN, 1996).

Entre los principios activos que presenta la *Mentha x piperita*, se encuentran componentes aromáticos como los monoterpenos, los cuales han sido investigados como controladores de enfermedades en plantas (VOKOU *et al.*, 1993; BAUSKE *et al.*, 1994).

Sus hojas y flores son ricas en aceites esenciales (1 a 3% del peso seco) donde su componente principal es el mentol (30 a 55%), conteniendo además mentil acetato (4 a 10%), mentona (15 a 25%), pulegona, felandreno, cineol, linalol, pineno y otras esencias. Contiene también cantidades considerables de los flavonoides apigenol, luteolol y mentosido, así como taninos, triterpenos y carotenoides (WIJESEKERA, 1991; MUÑOZ *et al.*, 2001).

Algunos de estos componentes aromáticos han mostrado ser letales para nematodos (SANGWAN *et al.*, 1990), como lo comprobó un ensayo de IBRAHIM *et al.* (2006) donde demuestra el poder nematocida del carvacrol, timol y linalol, seguidos del terpenol y la mentona, extraídos de *Mentha microcorphylla* contra el Juvenil II de *Meloidogine incognita* y una inhibición completa de la eclosión de los huevos.

Reafirmando lo anterior, ABD-ELGAWAD y OMER (1995) indican que una combinación entre el geraniol y el timol, suprimen las poblaciones de *Meloidogyne*, mientras que extractos de sus aceites esenciales: geraniol, mentol y linalol han demostrado inhibir el movimiento de los nematodos, la eclosión de los huevos, con la consiguiente reducción en el número de agallas provocadas por *Meloidogyne*, sugiriendo que los tres aceites nombrados, son los reales causantes de la fitotoxicidad.

**2.4.3 Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) como planta antagonista.** De la familia de las Chenopodiaceae, el paico es una planta anual o bianual, aromática y rastrera, originaria de la India (MUÑOZ *et al.*, 2001).

El género *Chenopodium*, que se encuentra en casi todo el mundo, contiene sustancias con propiedades fungicidas, bactericidas, viricidas, insecticidas, nematocidas, moluscocidas y alelopáticas, siendo *Chenopodium ambrosioides*, *Ch. quinoa* y *Ch. album* las especies que presentan mayor control contra diversos fitonematodos (QUARLES, 1992).

Entre los componentes activos con propiedades nematocidas identificados en el paico (*Ch. ambrosioides*) se pueden nombrar a: saponinas, flavonoides, esteroides y aceites esenciales (KARR *et al.*, 1990), siendo los más activos los aceites esenciales, conformados por el ascaridol en un 86% (QUARLES, 1992).

MUÑOZ *et al.* (2001) indica que, cada 100 g de hojas contiene 0,06 mg de tiamina, 0,28 mg de riboflavina, 0,6 mg de niacina y 11 mg de vitamina C, además de: saponinas, alcaloides, glicósidos variados, etc., mientras que el aceite esencial puede contener casi hasta un 90 % de ascaridol, geraniol, 1-limoneno, mirceno, p-cimeno y ácido butírico.

Un ejemplo del control de nematodos con paico lo menciona MUÑOZ *et al.* (2001) y el ensayo efectuado por INSUNZA y VALENZUELA (1995), donde los extractos de hojas de paico disminuyeron la densidad poblacional de *Ditylenchus dipsaci* así también como disminuyeron los síntomas de la planta susceptible, con respecto al testigo.

### 3 MATERIAL Y MÉTODO

A continuación se detallan los materiales utilizados y la metodología aplicada en esta investigación

#### 3.1 Materiales

Para el desarrollo de la investigación, se contó con las instalaciones y materiales descritos en los siguientes párrafos.

**3.1.1 Instalaciones.** El ensayo se realizó durante los meses de marzo a junio del año 2008 en el Laboratorio de Nematología y en un invernadero del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, ubicados en el Campus Isla Teja de la Universidad Austral de Chile, Valdivia.

**3.1.2 Material vegetal.** El material vegetal utilizado corresponde a tejido vegetal seco y fresco de: ruda (*Ruta graveolens* L.), menta (*Mentha x piperita* L.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L). Además, se utilizaron plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L), cultivar Reina de Mayo, con dos hojas verdaderas y aproximadamente 5 cm de altura.

De ruda y menta se usaron solamente hojas obtenidas de plantas propagadas y cultivadas desde semilla al estado adulto en bandejas de plumavit, en invernadero frío, bajo riego periódico; y del paico se usaron hojas y flores obtenidas de una planta de la zona en estado adulto.

**3.1.3 Material de laboratorio.** El material fungible empleado en el ensayo correspondió básicamente a: bandejas plásticas, bisturí, bolsas de papel, cintas de papel engomadas, cubreobjetos, etiquetas, lápices marcadores, macetas de plumavit (240 cc), papel absorbente, pipetas, piscetas, placas Petri, portaobjeto, probetas, tijeras, tubos de ensayo (200 mL) y vasos precipitados.

Entre el instrumental correspondió a: balanza de precisión NEOLAB 410, contador nematológico METROLAB 3725, horno, lupa estereoscópica binocular NIKON



Smz-445, micropipeta NICHIRYO 8100, microscopio CARL ZEISS, procesadora Moulinex, refrigerador y tamices de bronce con diferente graduación.

**3.1.4 Reactivos.** El único reactivo utilizado fue hipoclorito de sodio al 1% (NaClO) (en base a Clorox<sup>MR</sup>, 5 %).

**3.1.5 Sustratos.** Como sustrato de cultivo para las plantas en el ensayo, se utilizó una mezcla de arena de río (50%) y suelo (50%), este último obtenido de una pila de compostaje ubicada en la Estación Experimental Santa Rosa, el cual se encontraba comprobadamente libre de la presencia de nematodos fitopatógenos, de acuerdo al análisis nematológico realizado en el mismo laboratorio.

**3.1.6 Nematodo.** Para el ensayo se utilizaron huevos y juveniles de *Meloidogyne hapla*, extraídos de una población identificada como tal, la que se encontraba infestando plantas de peonía (*Peonia* sp.) mantenidas en invernadero.

## 3.2 Método

En esta investigación se evaluó el efecto sobre la infestación de *M. hapla* en plantas de lechuga, de someter propágulos del nematodo a cuatro concentraciones y dos tiempos de interacción de extractos acuosos de tejido fresco y seco de las tres especies en estudio.

**3.2.1 Preparación y transplante de plantas de lechuga.** Se utilizaron plántulas de lechuga cv. Reina de Mayo, sembrando 400 semillas en bandejas conteniendo sustrato estéril; se mantuvieron a temperatura ambiente y riego periódico, en el Laboratorio de Nematología. Al observar un 50% de emergencia de la segunda hoja verdadera se trasladaron 335 plántulas a igual número de macetas de plumavit de 240 cc.

**3.2.2 Obtención de huevos y juveniles de *M. hapla*.** Para el ensayo se utilizaron juveniles de *M. hapla*, obtenidos de raíces de plantas de peonías mantenidas en laboratorio e infestadas con el patógeno. Para su extracción se utilizó el procedimiento indicado por HUSSEY y BARKER (1973), que consistió en trozar (1 - 2 cm) las raíces infestadas y colocarlas en un frasco Erlenmeyer con 200 mL de solución de hipoclorito de sodio al 1% (NaClO), tapado y agitando por 4 minutos. Luego, se vaciaron y lavaron con agua corriente a presión suave a través de un set de tamices de 200 mesh (poros de 74 µm) y de 500 mesh (poros de 26 µm), obteniendo desde el último tamiz la

suspensión de huevos y juveniles del nematodo, la que se dispuso en un vaso precipitado.

El procedimiento se repitió con más raíces para lograr la cantidad necesaria de inóculo.

La concentración de propágulos (huevos y juveniles) en la suspensión se determinó homogenizando la muestra y extrayendo con la pipeta graduada una alícuota de 1 mL, que se depositó en un portaobjeto para contabilizar bajo microscopio los individuos presentes. Este proceso se repitió tres veces, promediando los resultados y ajustando con agua la suspensión del vaso precipitado hasta obtener un promedio aproximado de 2.800 huevos y juveniles/mL para la inoculación.

**3.2.3 Preparación de los extractos acuosos de las plantas aromáticas en estudio.** En marzo del 2008 se obtuvieron hojas de *Mentha x piperita*, hojas de *R. graveolens* y hojas y flores de *Ch. ambrosioides*.

De cada especie aromática se extrajo tejido fresco, secándolo a temperatura ambiente para obtener 50 g de tejido seco. Una vez secos, se trituraron con una Moulinex y se vaciaron a un frasco Erlenmeyer con 1.000 mL de agua destilada estéril, dejándolas por 48 h a temperatura ambiente y agitando periódicamente (GREWAL, 1989) para finalmente filtrar a un segundo frasco Erlenmeyer a través de papel Whatman N°1, obteniendo un “extracto acuoso base”.

A su vez, de cada especie aromática se extrajeron 50 g del tejido fresco, se trituraron con una Moulinex y se utilizaron para preparar un “extracto acuoso base” siguiendo la misma metodología que en el caso del tejido seco, indicada en el párrafo anterior.

Una vez listos los extractos acuosos base de las especies aromáticas, por dilución con agua destilada estéril, se obtuvieron concentraciones de: 25 – 50 - 75 y 100% de cada uno. Como testigo se utilizó, para cada extracto base, agua destilada en reemplazo al extracto obteniendo así una concentración 0%.

**3.2.4 Exposición de los propágulos de *Meloidogyne* al extracto acuoso.** Cada extracto (especie, tipo de tejido y concentración) se distribuyó con ayuda de una micropipeta a razón de 5 mL en un total de 335 tubos de ensayo etiquetados

correspondientemente. Luego en cada tubo se incorporó nuevamente, con micropipeta, 0,5 mL del inóculo (1.400 huevos y juveniles aproximadamente). Realizado esto, los tubos se cubrieron con papel aluminio para mantenerlos en oscuridad, dejando interactuar a una temperatura de aproximadamente 16 °C el extracto acuoso y el inóculo por dos períodos de tiempo (24 h y 48 h), de acuerdo a cada tratamiento (Cuadro 1).

En los testigos de la concentración 0% se utilizó agua destilada en reemplazo del extracto acuoso, a los cuales se aplicó los 0,5 mL del inóculo de *M. hapla*. Además, se utilizó un segundo testigo absoluto, que contenía solo agua destilada (sin extracto ni inóculo) y finalmente para determinar el efecto de los extractos sobre las plantas se utilizó un tercer testigo, utilizando únicamente 5 mL de cada extracto acuoso base.

**3.2.5 Inoculación de las macetas con las plántulas.** Completado el tiempo de interacción de cada tratamiento se vertió el contenido de cada tubo en su respectiva maceta, previamente etiquetada; para ello se realizaron dos perforaciones de aproximadamente 1 cm de profundidad a los costados de cada planta con el fin de acercar el inóculo a las raíces. Una vez inoculadas se taparon las perforaciones con el mismo sustrato y se aplicó un riego suave.

Las macetas se trasladaron a invernadero donde se mantuvieron por 45 días aplicando riego periódico de acuerdo a las necesidades de las plantas.

**3.2.6 Distribución de los tratamientos del ensayo.** De cada especie aromática usada (ruda, menta y paico) se utilizaron tejidos secos y frescos. Estos se procesaron y por dilución se obtuvieron extractos acuosos en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% del extracto base, usando como testigo la concentración de 0%, sólo agua destilada con el inóculo. El testigo absoluto correspondió a agua destilada, sin extracto ni inóculo, presentando también un testigo del efecto del extracto sobre las plantas: extracto al 100% sin inóculo.

Con esto, se tienen 6 extractos acuosos a evaluar y tres testigos, con 5 repeticiones, los que se detallan en el Cuadro 1.

**CUADRO 1 Distribución de los tratamientos en el ensayo.**

| Especie          | MENTA  |    |      |    | RUDA   |    |      |    | PAICO  |    |      |    | Testigo 00 <sup>1</sup> | Repeticiones |
|------------------|--------|----|------|----|--------|----|------|----|--------|----|------|----|-------------------------|--------------|
|                  | Fresco |    | Seco |    | Fresco |    | Seco |    | Fresco |    | Seco |    |                         |              |
|                  | 24     | 48 | 24   | 48 | 24     | 48 | 24   | 48 | 24     | 48 | 24   | 48 |                         |              |
| 0 <sup>2</sup>   | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x                       | 5            |
| 25               | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x                       | 5            |
| 50               | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x                       | 5            |
| 75               | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x                       | 5            |
| 100              | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x      | x  | x    | x  | x                       | 5            |
| Testigo absoluto | x      |    |      |    |        |    |      |    |        |    |      |    |                         | 5            |

\* 1 Testigo con extracto (100%) - sin inóculo.

\* 2 Testigo sin extracto - con inóculo.

### 3.3 Evaluaciones

En el ensayo se evaluó la infestación alcanzada por el nematodo en las plantas como también la respuesta de las plantas a los extractos y la infestación del nematodo. De esta forma se consideraron variables y componentes determinados en forma directa, como: peso fresco aéreo y radicular de las plantas, peso seco aéreo, longitud radicular y población final de huevos y juveniles por planta (raíz), así como variables y componentes indirectos como fueron el nivel de agallamiento radicular, estimado a través de dos índices con escalas comparables de TAYLOR y SASSER (1978) y HUSSEY y JANSSEN (2002).

**3.3.1 Levantamiento del ensayo.** Transcurridos 45 días desde el transplante e inoculación se procedió a levantar el ensayo. Para ello las plantas de cada maceta fueron retiradas del sustrato tratando de no romper el sistema radicular. Este se separó del sector aéreo, procediendo a evaluar primero la parte aérea. El sector radicular se

depositó en un vaso precipitado conteniendo agua corriente, en el que se agitó suavemente para luego retirar el exceso de agua y secar con papel absorbente, este se mantuvo a 5 °C en un refrigerador por un par de días hasta su evaluación.

**3.3.2 Procesamiento y evaluación de la parte aérea.** Con balanza analítica de 0,01 g de precisión se registró el peso fresco total del tejido aéreo, disponiendo éste en forma inmediata en una bolsa de papel rotulada, para luego llevarlas a horno de secado por 48 h a 60 °C y obtener el peso seco.

**3.3.3 Procesamiento y evaluación de raíces.** Las raíces se revisaron, en primer lugar directamente bajo lupa estereoscópica estimando el nivel de agallamiento que presentaban. Esto se determinó según dos escalas comparables con valores ascendentes de 0 a 5 (Cuadro 2), que toman en cuenta el número de agallas en el sistema radical (índice A) y el porcentaje de raíces con agallas (índice B).

**CUADRO 2 Índices de agallamiento de raíces de acuerdo a dos escalas comparables.**

| Nivel | Índice A                    | Índice B                         |
|-------|-----------------------------|----------------------------------|
|       | Número de agallas en raíces | Porcentaje de raíces con agallas |
| 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: TAYLOR y SASSER (1978) y HUSSEY y JANSSEN (2002).

Posteriormente se registró, con regla milimétrica, la longitud del sector radicular, para luego establecer el número de huevos y juveniles presentes en masas de huevos formadas en raíces. Para ello se siguió la misma metodología de HUSSEY y BARKER

(1973) explicitada en el punto 3.2.5. En este caso la suspensión obtenida de las raíces de cada maceta se depositó en un tubo de ensayo, dejándola reposar a 5 °C para decantar los propágulos presentes. Transcurridos un mínimo de 24 h se extrajo por sifonación el agua contenida sobre los 10 mL de base en cada tubo y del remanente, una vez homogenizado, con una pipeta se extrajo una alícuota de 0,5 mL, se depositó en un portaobjetos, y bajo microscopio se revisó y contabilizó. Para calcular el número total de propágulos recuperados en cada planta, se multiplicó el número de huevos y juveniles contabilizados en la alícuota x 20, estimándose así el total en 10 mL.

### 3.4 Análisis de resultados

Considerando la amplitud de variables en el ensayo, la evaluación de los resultados se estructuró en cuatro fases o etapas, las que se detallan a continuación:

**3.4.1 Fase 1: Efecto de tres especies aromáticas en el desarrollo de plantas de lechuga.** Se evaluó si los extractos afectaron el desarrollo de la planta indicadora (*L. sativa*). Para ello se utilizaron los datos obtenidos del testigo absoluto y de los testigos con extracto (100%) todos ellos sin inóculo de *M. hapla*, obteniendo por lo tanto siete tratamientos a evaluar: Testigo absoluto, y los seis extractos puros o 100% de cada especie: menta fresca y seca, paico fresco y seco, y ruda fresca y seca.

**3.4.2 Fase 2: Efecto de *M. hapla* en el desarrollo de plantas de lechuga.** En este caso se analizó el efecto solamente del nematodo en dos tiempos de exposición al agua destilada: 24 h y 48 h, sobre el desarrollo de las plantas indicadoras; utilizando los resultados obtenidos en el testigo absoluto y de los testigos con inóculo pero sin extracto (agua destilada) a las 24 h y 48 h, dando lugar al análisis de tres tratamientos: Testigo absoluto, inóculo sin extracto a las 24 h e inóculo sin extracto a las 48 h.

**3.4.3 Fase 3: Efecto de la especie aromática y dos tiempos de exposición en la infestación de *M. hapla*.** Se evaluó si las especies aromáticas en interacción con el inóculo por dos tiempos: 24 h y 48 h, influyen en la capacidad infestiva del nematodo. En este caso se utilizaron los resultados del testigo (0% de concentración) a los dos tiempos de exposición: 24 h y 48 h, y el promedio de las cuatro concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) y del tipo de tejido (seco y fresco) del extracto de cada especie (menta, ruda y paico) a las 24 h y 48 h, dando lugar al análisis de ocho tratamientos:

testigo 0% y el promedio de las concentraciones y tipo de tejido de las especies (menta, paico y ruda), todos por dos tiempos de exposición: 24 h y 48 h.

**3.4.4 Fase 4: Efecto de la especie aromática, concentración, tipo de tejido y tiempo de exposición del extracto acuoso, en la infestación de *M. hapla*.** Se evaluó si la especie aromática, el tipo de tejido, las concentraciones y el tiempo de interacción presentan influencia en el desarrollo infestivo del nematodo, en forma individual o en conjunto, utilizando los datos obtenidos a las 48 h de exposición para todos los factores.

### **3.5 Análisis estadístico**

Los datos se analizaron a través del programa estadístico STATGRAPHICS plus 5.1, por medio de cuatro fases. Las dos primeras fases utilizaron un análisis paramétrico unifactorial, la fase tres un análisis no paramétrico unifactorial y un análisis paramétrico unifactorial, mientras que la fase cuatro utilizó un análisis no paramétrico multifactorial y un análisis paramétrico multifactorial.

## 4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A continuación se presentarán y analizarán los resultados obtenidos en el ensayo, en primer lugar se muestran los relacionados al efecto de los extractos acuosos sobre las plantas y posteriormente su efecto en el control del nematodo.

### 4.1 Efecto de tres especies aromáticas en el desarrollo de plantas de lechuga

Al analizar el efecto general de los extractos acuosos frescos y secos (sin inóculo de *M. hapla*, al 100% de concentración), aplicados en el sustrato de plantas de lechuga cv. Reina de mayo (*Lactuca sativa*) (Cuadro 3), en comparación al testigo se observa que si bien no hubo diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, la aplicación de extracto acuoso de tejido seco de ruda parece ser el más favorable en el desarrollo de las plantas.

**CUADRO 3 Desarrollo de plantas de lechuga en respuesta a la incorporación de extractos acuosos de especies aromáticas.**

| Tratamiento    |        | Peso fresco plantas | Peso seco aéreo | Longitud radicular |
|----------------|--------|---------------------|-----------------|--------------------|
| Especie        | Tejido | (g)                 | (g)             | (cm)               |
| Testigo (agua) |        | 8,34 ± 5,14 a       | 0,34 ± 0,21 a   | 15,50 ± 5,96 a     |
| Menta          | Fresco | 3,46 ± 1,55 a       | 0,08 ± 0,04 a   | 10,33 ± 4,08 a     |
| Menta          | Seco   | 3,26 ± 2,78 a       | 0,10 ± 0,10 a   | 9,38 ± 2,95 a      |
| Ruda           | Fresco | 8,48 ± 6,31 a       | 0,16 ± 0,12 a   | 11,64 ± 3,73 a     |
| Ruda           | Seco   | 12,98 ± 4,45 a      | 0,34 ± 0,16 a   | 16,22 ± 4,07 a     |
| Paico          | Fresco | 6,07 ± 5,73 a       | 0,17 ± 0,11 a   | 13,20 ± 3,79 a     |
| Paico          | Seco   | 8,96 ± 7,82 a       | 0,23 ± 0,28 a   | 11,24 ± 3,01 a     |

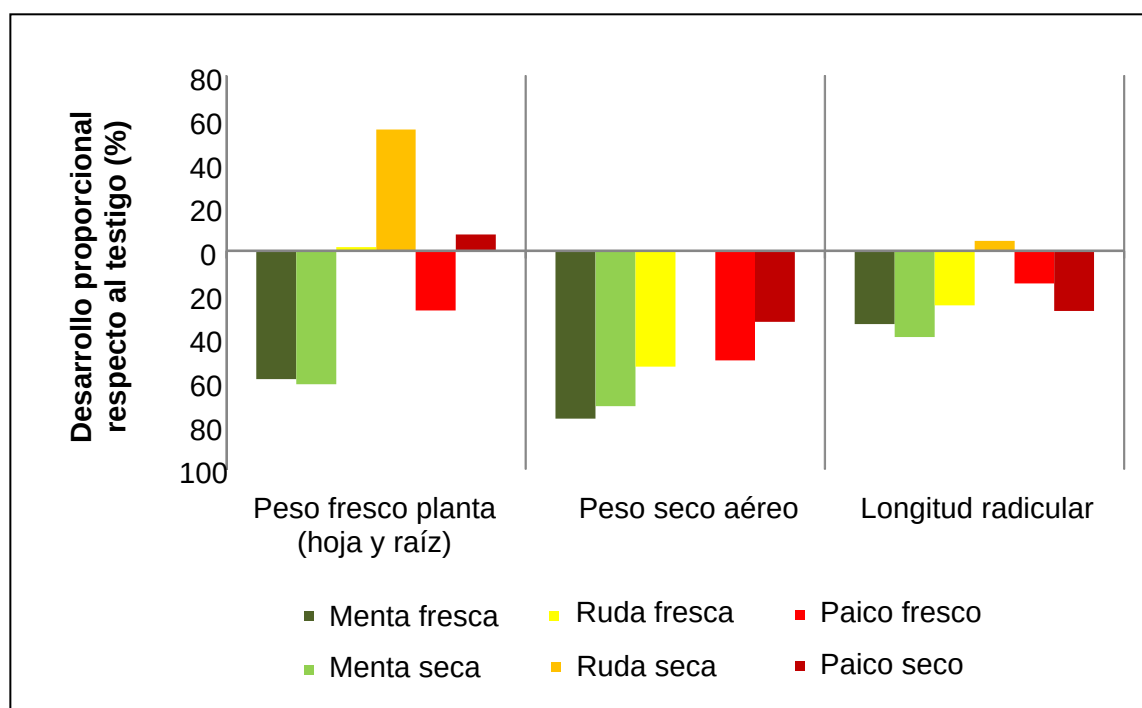
\* Los valores corresponden al promedio de 5 repeticiones.

\* Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey,  $p \leq 0,05$  (Anexos 2, 3, 4, 5 y 6).



Para mayor claridad de los resultados, se estimó el efecto porcentual de los extractos acuosos sobre el desarrollo de las plantas de lechuga, en relación al testigo (Figura 1).

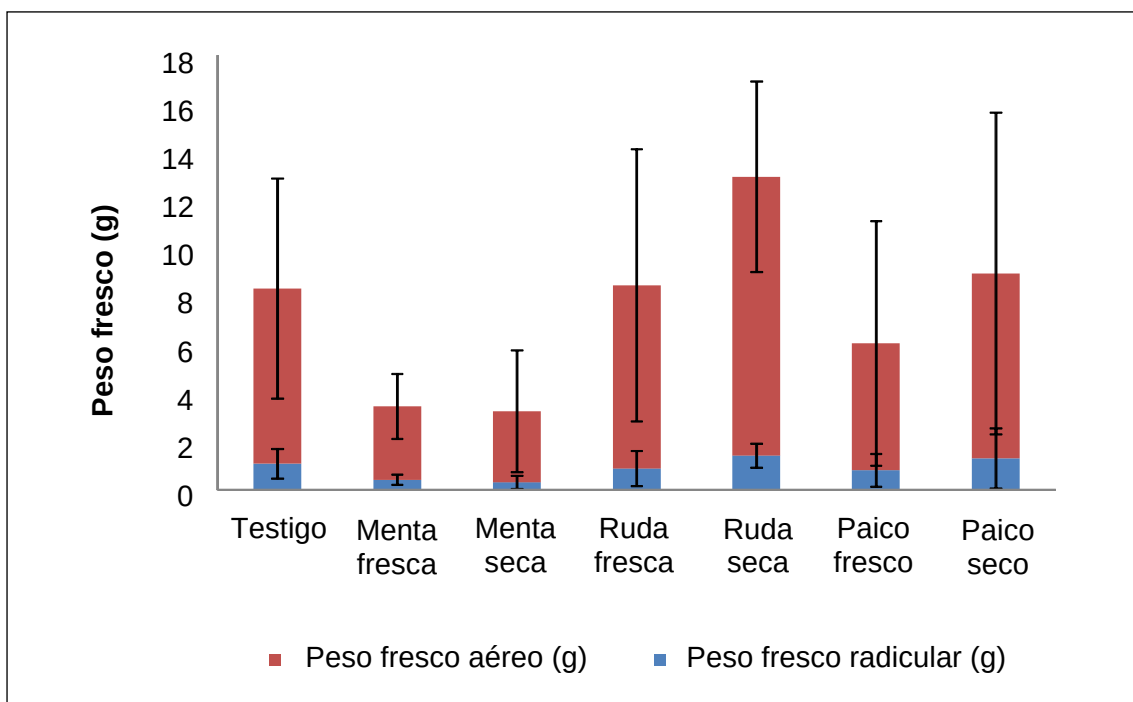
**4.1.1 Efecto en el peso fresco total de las plantas.** En el Cuadro 3 se observó que estadísticamente no existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que al graficar el desarrollo proporcional de las plantas de lechuga expuestas a los extractos y su tipo de tejido frente a las plantas testigo (Figura 1), se puede observar que la mayor estimulación en el peso fresco total fue de un 56% con el tejido seco de ruda, mientras que la menta, tanto fresca como seca y, en menor grado el paico fresco, ejercieron una disminución en el peso fresco total de un 59%, 61% y 27% respectivamente.



**FIGURA 1** Desarrollo proporcional con respecto al testigo, de plantas de lechuga inoculadas con extractos acuosos de tres especies aromáticas.

Al analizar por separado los resultados en el peso fresco aéreo y el peso fresco radicular de las plantas, en la Figura 2 destaca que los tratamientos afectaron cada uno de estos parámetros en la misma forma que en el peso fresco total; así el extracto

acuoso de ruda seca, estimuló en un 59% el peso fresco aéreo y en un 32% el peso fresco radicular, mientras que al aplicar extractos de menta fresca, menta seca y de paico fresco, el peso fresco aéreo de las lechugas disminuyó en 58%, 59% y 28% respectivamente y el peso fresco radicular en un 61%, 71% y 25%.



**FIGURA 2** Peso fresco aéreo y radicular de plantas de lechuga en respuesta a la incorporación de extractos acuosos de especies aromáticas.

**4.1.2 Efecto en el peso seco aéreo de las plantas.** El extracto de ruda seca no alteró (Figura 1) el peso seco de las hojas con respecto al testigo, mientras que todos los demás tratamientos (menta fresca, menta seca, ruda fresca, paico fresco y paico seco) ejercen una disminución en el peso seco de las hojas. Destaca, sin embargo, que estadísticamente no existen diferencias significativas entre el efecto de los seis extractos puros en el peso seco de las hojas de las plantas indicadoras (Cuadro 3).

**4.1.3 Efecto en la longitud radicular de las plantas.** Al igual que en el caso del peso seco aéreo, el extracto acuoso de ruda seca ejerce una estimulación leve (5%) en la longitud radicular (Figura 1), lo cual sin embargo, no lo diferencia del testigo (Cuadro 3), mientras que el resto de los tratamientos: menta fresca, menta seca, ruda fresca, paico fresco y paico seco, ejercieron una supresión de un 33%, 40%, 25%, 15% y 28%

respectivamente, las que tampoco se reflejaron en diferencias estadísticas entre ellas ni con el testigo (Cuadro 3).

Si bien no se detectaron diferencias estadísticas en los resultados, atribuibles probablemente a las condiciones restrictivas de cultivo en macetas de tamaño pequeño y al tiempo de cultivo, en general, los extractos de menta (seco y fresco) produjeron un efecto adverso en el desarrollo total de la planta con respecto al testigo, al presentar las plantas expuestas a estos extractos un menor peso total (aéreo y radicular) y una menor elongación radicular. Estos resultados pueden deberse al efecto que ejercen componentes fitotóxicos presentes en hojas de menta como son timol y carvacrol (AZIRAK y KARAMAN, 2008); estos compuestos de acuerdo con WALKER y MELIN (1996), pueden llegar a reducir el peso seco de plantas de tomate hasta en un 78%. Por su parte, MUCCIARELLI *et al.* (2001) comprobaron que al exponer semillas germinadas de *Cucumis sativus* L. a pulegone, un compuesto del aceite esencial de menta, la respiración radicular se restringía en un 50%.

En relación al paico (*Chenopodium ambrosioides*), JEFFERSON y PENACCHIO (2003) así como HEGAZY y FARRAG (2007), señalan que presenta componentes fitotóxicos, principalmente el monoterpeno ascaridol, que interfieren en la germinación y crecimiento de semillas de lechuga y otras especies, efecto que en este ensayo se demostró en la menor longitud radicular que presentaron las plantas de lechuga sometidas a extractos frescos y secos (13,2 cm y 11,2 cm) con respecto al testigo (15,5 cm).

En general, las plantas de lechuga expuestas a extractos de ruda fresca presentaron una disminución en el peso fresco radicular, en el peso seco de las hojas y en el largo radicular, mientras que las expuestas a extractos de hojas secas de la misma especie aumentaron el peso fresco total de la planta y muy levemente la longitud radicular. Similar efecto observaron OLIVA *et al.* (2003) y HALE *et al.* (2004), en el crecimiento y desarrollo radicular de lechuga, al exponer las semillas a graveolina, un alcaloide de hojas de ruda. Por otro lado ZOBEL y BROWN (1991) al evaluar hojas frescas y secas de ruda, encontraron que éstas presentan componentes activos tóxicos para el crecimiento y desarrollo radicular de lechuga (furanocumarinas, xantocianinas, bergapten) siendo mayor la concentración en hojas frescas que en hojas secas.

Se podría pensar con todo esto, que los extractos de menta, paico y ruda alterarían la evaluación del efecto final del nematodo, al afectar directamente el desarrollo de las plantas. No obstante, estadísticamente, ninguno de los extractos secos o frescos muestra diferencias significativas sobre cada uno de los factores de desarrollo analizados en plantas de lechuga.

#### 4.2 Efecto de *M. hapla* en el desarrollo de plantas de lechuga

Como en el punto 4.1 se comprobó que los extractos no influyeron significativamente en el desarrollo de las plantas, se presentan en segundo lugar los resultados relacionados al desarrollo de las mismas de inoculadas con propágulos de *M. hapla* expuestos en agua destilada por dos períodos de tiempo (24 h y 48 h).

En el Cuadro 4 se observa que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, es decir, la inoculación con el nematodo expuesto por cualquiera de los dos períodos de tiempo no afectó el desarrollo de las plantas transcurridos los 45 días; ello indicaría que los propágulos del nematodo no se vieron afectados por el tiempo de inmersión en agua, no alterando su capacidad infestiva.

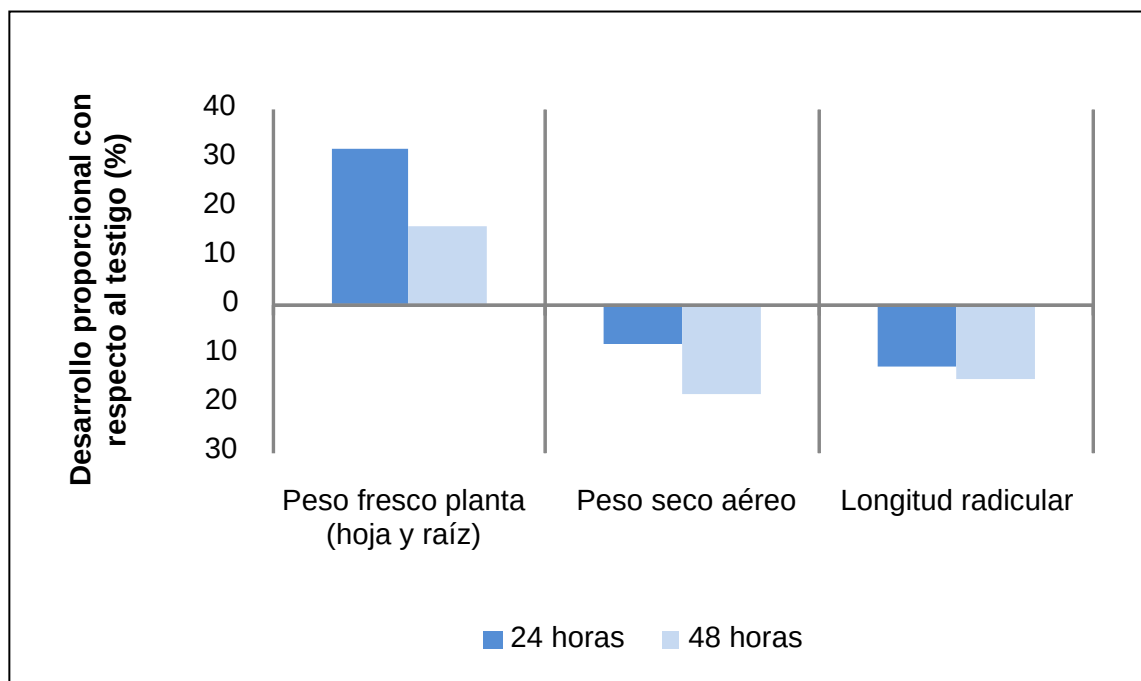
**CUADRO 4 Desarrollo de plantas de lechuga infestadas con *M. hapla* sometidos a dos tiempos de exposición.**

| Tratamiento           | Peso fresco planta | Peso seco aéreo | Longitud radicular |
|-----------------------|--------------------|-----------------|--------------------|
|                       | (g)                | (g)             | (cm)               |
| Testigo (sin inóculo) | 8,34 ± 5,14 a      | 0,34 ± 0,21 a   | 15,50 ± 5,96 a     |
| Exposición 24 horas   | 10,99 ± 6,21 a     | 0,32 ± 0,25 a   | 13,54 ± 2,76 a     |
| Exposición 48 horas   | 9,69 ± 6,24 a      | 0,28 ± 0,18 a   | 13,15 ± 3,45 a     |

\* Los valores corresponden al promedio de 120 repeticiones, testigo presenta 5 repeticiones.

\* Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey,  $p \leq 0,05$  (Anexos 8, 9, 10, 11 y 12).

Al igual que en los puntos anteriores se estimó el efecto porcentual del nematodo y sus tiempos de exposición sobre el desarrollo de las plantas de lechuga en relación al testigo (Figura 3).

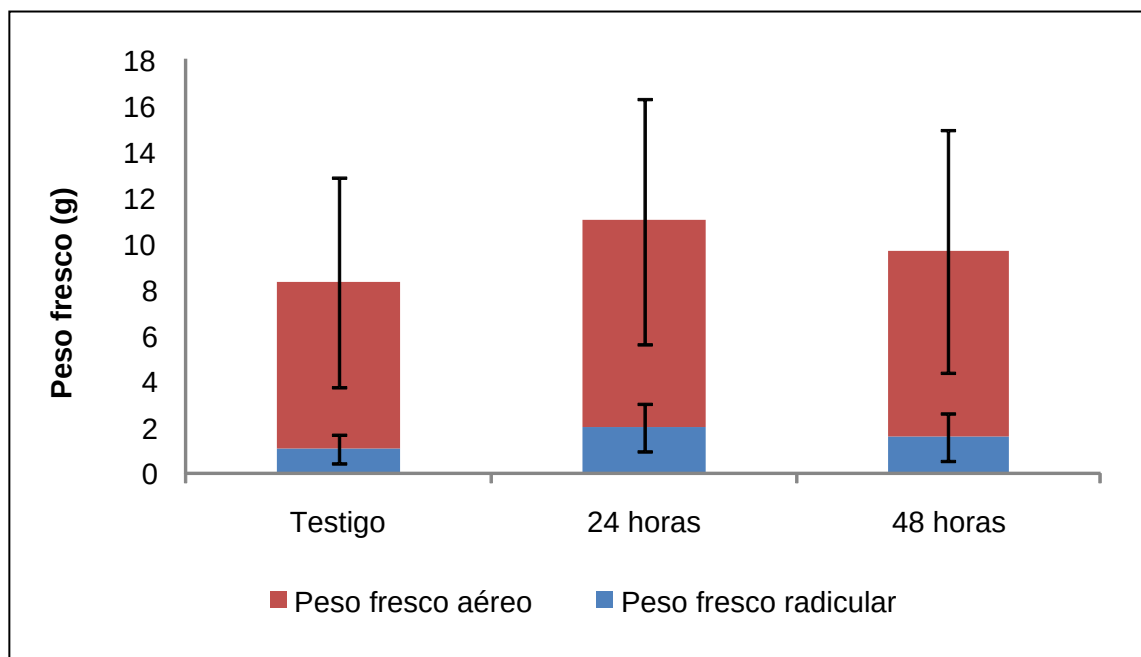


**FIGURA 3** Desarrollo proporcional con respecto al testigo, de plantas de lechuga inoculadas con *M. hapla* sometido a dos tiempos de exposición.

**4.2.1 Efecto en el peso fresco de las plantas.** Como se observa en el Cuadro 4, estadísticamente no existen diferencias significativas entre los tratamientos en el peso fresco total de las plantas; no obstante, al finalizar el ensayo aquellas inoculadas presentaron un aparente mayor desarrollo aéreo con respecto al testigo (Figura 3). En este caso, la presencia del nematodo pudo provocar esto, en mayor proporción a las 24 h que a las 48 h, ejerciendo un aumento en el peso fresco de la planta (hoja y raíz) de 32% y 16% respectivamente, con respecto al testigo.

Si se analizan separadamente, se puede ver en la Figura 4 que el peso fresco aéreo y radicular de las plantas con inóculo, expuesto por 24 h en agua, es levemente mayor al presentado por el testigo.

De la misma manera, el inóculo expuesto en agua por 48 h estimuló el desarrollo en ambos sectores de la planta (1,6 g y 8,1 g) con respecto al testigo, aunque menor al presentado por el inóculo en agua por 24 h.



**FIGURA 4** Peso fresco aéreo y radicular de plantas de lechuga inoculadas con *M. hapla* sometido a dos tiempos de exposición.

No obstante las diferencias observadas en el desarrollo de la planta entre exponer el nematodo por 24 h ó 48 h, estadísticamente no existen diferencias significativas (Cuadro 4) entre el efecto de ambos tiempos en el peso fresco aéreo y radicular de las plantas indicadoras.

**4.2.2 Efecto en el peso seco aéreo de las plantas.** De acuerdo a los resultados del Cuadro 4, no existen diferencias significativas por efecto del nematodo y sus tiempos de exposición en el peso seco aéreo de las plantas de lechuga, alcanzando a disminuir el tratamiento a las 24 h un 8% y a las 48 h un 18% el peso seco de las hojas, con respecto al testigo (Figura 3).

**4.2.3 Efecto en la longitud radicular de las plantas.** Según el Cuadro 4, estadísticamente tampoco existen diferencias significativas entre el efecto del nematodo y ambos tiempos de exposición en la longitud radicular de las plantas de lechuga. Aun así, en la Figura 3 se observa que tanto 24 h como 48 h de exponer el

inóculo en agua, ejercieron una supresión de un 13% y 15% respectivamente, en la longitud de la raíz con respecto al testigo.

Los resultados obtenidos en este punto indican que el nematodo no afectó negativamente el desarrollo de las plantas de lechuga, situación que pudo ser consecuencia del corto tiempo del ensayo. Al respecto, APPLEMAN (2003) indica que la planta de lechuga es un buen indicador de la infestación de especies de *Meloidogyne*, sin embargo, no siempre manifiesta síntomas aéreos de la infestación; por otra parte WALTERS *et al.* (1992) indican que ocasionalmente al existir altos niveles de infestación, las plantas pueden perder raíces al ocurrir pudrición causada por heridas de penetración de los juveniles de *Meloidogyne*.

La exposición del propágulos de *M. hapla* por 24 h en agua destilada indujo un mayor desarrollo aéreo y radicular de las plantas que a las 48 h (Figura 3), situación que según SASANELLI y D`ADDABBO (1993 y 1995) se explica, ya que a medida que pasa el tiempo los huevos del nematodo en contacto con agua eclosionan y se desarrollan los juveniles, por lo que el inóculo a las 48 h tendría mayor presencia de juveniles infestivos que huevos a la hora de inocular, los cuales alcanzaron rápidamente las raíces, involucrando una mayor infestación de éstas.

En general, el nematodo en ambos tiempos de exposición actuó estimulando el peso fresco de la planta, mientras que en la longitud radicular y en el peso seco aéreo provocó un efecto negativo, por debajo del presentado por el testigo (Cuadro 4). Esto puede pasar por una menor absorción de nutrientes y agua al debilitarse el normal crecimiento radicular consecuencia del ataque del nematodo, donde el corto período de evaluación del presente ensayo impidió que esto se viera reflejado en la parte aérea (peso fresco). Esto concuerda con lo mencionado por TAYLOR y SASSER (1983), BRIDGE y WILLIAMS (2002) y EL-SHERIF *et al.* (2007), quienes señalan que las raíces infestadas con *Meloidogyne* sp. son más cortas que las raíces sanas, tienen menos raíces laterales y menos pelos radicales; y que por consiguiente afecta al sector aéreo de la planta disminuyendo la turgencia, provocando clorosis y senescencia de las hojas.

### 4.3 Efecto de la especie aromática y dos tiempos de exposición en la infestación de *M. hapla*

Como en el punto 4.2 se comprobó que el nematodo y sus tiempos de exposición no influyeron significativamente en el desarrollo de las plantas, se presentan en tercer lugar los resultados que dicen relación al efecto sobre la capacidad infestiva del nematodo luego de exponerlos por dos períodos de tiempo a extractos acuosos de tres especies aromáticas.

**4.3.1 Efecto en el nivel de agallamiento.** DUNCAN y PHILLIPS (2009), señalan que la formación de agallas puede ser evaluada por medio de diversos índices, los que se basan en la susceptibilidad de la planta y su respuesta frente al ataque de *M. hapla* (HUSSEY y JANSSEN, 2002). En este ensayo se usó el índice A según TAYLOR y SASSER (1978) y el índice B según HUSSEY y JANSSEN (2002) indicando el primero la cantidad de agallas radiculares y el segundo el porcentaje de raíces con agallas, complementándose ambos para evaluar con mayor criterio la capacidad infestiva del nematodo en el sistema radicular.

El análisis de estos datos cualitativos muestra que, para ambos índices (índice A e índice B), existen diferencias significativas (Cuadro 5) entre el efecto del inóculo expuesto a extractos acuosos de las distintas especies (menta, paico y ruda) por dos tiempos (24 h y 48 h) sobre el número y porcentaje de agallas presentes en las raíces de lechuga.

En general, propágulos de *Meloidogyne* expuestos a extractos acuosos de hojas de menta, paico y ruda por 48 h presentan diferencias significativas en el número y porcentaje de agallas generadas en las raíces con respecto a exponerlos por 24 h (Cuadro 5).

Por lo anterior y según el Cuadro 5, las raíces de lechuga sometidas a los tratamientos de 24 h presentan mayor número y porcentaje de agallas en el sistema radicular que al someterlas al mismo tratamiento por 48 h (exceptuando el tratamiento testigo). La disminución en los tratamientos por 48 h, es atribuible al mayor tiempo de exposición a los extractos, presentando un grado de agallamiento menor en función del tiempo de interacción y, por ende, una mayor inactividad del inóculo (huevos y juveniles) que de ello se genere. Similar efecto presencié SANCHEZ (2002), quien



observó que al exponer *in vitro* el nematodo *Radopholus similis* por 48 h a extracto acuoso de hojas de *Ruta graveolens*, la inactividad de los individuos alcanzó el mayor porcentaje (83,62%), frente al mismo tratamiento por 24 h (52,33%) y siendo el menor control a las 2 h de exposición con un 2,02% de inactividad.

**CUADRO 5 Índice de agallamiento de lechuga infestada con propágulos de *M. hapla* expuestos a extractos acuosos de tres especies aromáticas por dos tiempos de exposición.**

| Especie                   | Tiempo de exposición (horas) | Índice A<br>(Nº agallas en raíces) | Índice B<br>(% raíces con agallas) |
|---------------------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Testigo<br>(inóculo+agua) | 24                           | 4,00 ± 0,00 d e                    | 4,60 ± 0,55 b                      |
| Menta                     | 24                           | 3,58 ± 0,68 e                      | 3,71 ± 1,06 b                      |
| Paico                     | 24                           | 2,67 ± 1,52 b c d e                | 2,93 ± 1,89 b                      |
| Ruda                      | 24                           | 2,89 ± 1,01 b c d e                | 2,89 ± 1,58 b                      |
| Testigo<br>(inóculo+agua) | 48                           | 3,20 ± 0,45 a b c d e              | 3,80 ± 0,84 b                      |
| Menta                     | 48                           | 1,89 ± 1,24 a b c                  | 1,49 ± 1,39 a                      |
| Paico                     | 48                           | 1,66 ± 1,31 a b                    | 1,25 ± 1,22 a                      |
| Ruda                      | 48                           | 1,27 ± 1,04 a                      | 1,00 ± 1,17 a                      |

\* Los valores corresponden al promedio de 60 repeticiones, testigo presenta 5 repeticiones.

\* Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas al nivel 5% de acuerdo al test de comparaciones no paramétricas (Kruskal-Wallis),  $p \leq 0,05$ .

\* Resultado prueba de comparación múltiple (DUNN test) ver Anexos 14 y 16.

\* Evaluación del número de agallas según escala de 0 (sin agallas) a 5 (>100 agallas en el sistema radicular).

\* Evaluación del porcentaje de agallas según escala de 0 (sin agallas) a 5 (>75% del sistema radicular con agallas).

El número y el porcentaje de agallas en las raíces representan la infestación del nematodo, ya que son consecuencia de la respuesta de las plantas a los juveniles que lograron penetrar y establecer su sitio de alimentación en el tejido (HUSSEY y JANSSEN, 2002). Debe destacarse que según SASSER y CARTER (1985), y también PERRY y WRIGHT (1998), una agalla puede contener uno o más individuos al ubicarse éstos en el mismo sector de la raíz. De igual manera, las agallas pueden presentarse unidas y también existen variaciones en el tamaño de éstas, afectando la evaluación de la proporción de raíces infestadas o índice B (NETSCHER y SIKORA, 1990; SUAREZ y ROSALES, 2004). HUSSEY y GRUNDLER (1998), indican que la penetración del nematodo y la variación de tamaño de las agallas dependen de la respuesta de una planta a la infestación de *Meloidogyne*, y por ende de la susceptibilidad que ésta posea frente al nematodo.

Es por esta causa y para mayor certeza de la infestación alcanzada que se recomienda contabilizar los propágulos de *M. hapla* (huevos y juveniles) (WALTERS *et al.*, 1992), formados en las raíces, en este caso, de lechuga. Estos propágulos corresponden a la reproducción alcanzada por las hembras que se formaron en raíces y que obviamente provenían de aquellos juveniles que lograron infestar, luego de someterlos a los tratamientos (PERRY, 1996; BRIDGE y WILLIAMS, 2002; AGRIOS, 2005; ROBINSON, 2007). Así, en la evaluación de la reproducción debe considerarse que el número de huevos depositados por una hembra aumenta cuando esta encuentre condiciones más adecuadas para su desarrollo, como es el alimento disponible (CURTIS, 2007; ROBINSON, 2007), entregado por la planta a través de sus sistemas de transporte: xilema (entrega el agua y los solubles inorgánicos) y floema (entrega los asimilables como azúcar y aminoácidos), a las células de alimentación del nematodo (HOFMANN y GRUNDLER, 2007).

Se debe destacar que al inocular el ensayo, se utilizó una suspensión aproximada de 1.400 huevos y juveniles, de los cuales obviamente los juveniles II o activos son los que penetran a las raíces, siempre y cuando los extractos no hayan causado un efecto sobre ellos. Ahora, si bien la gran dispersión de los datos cualitativos obtenidos como índices de agallamiento (Cuadro 5) reflejan esta variación; presenciaron similar efecto y la expresión del agallamiento radicular como escala de rangos, algunos autores como: WALTERS *et al.* (1992); INSUNZA y VALENZUELA

(1995); VIAENE y ABAWI (1998); OKA *et al.* (2001); BRINKMAN *et al.* (2008); HERNANDEZ *et al.* (2008); KIMENJU *et al.* (2008); ELBADRI *et al.* (2009); entre otros.

**4.3.2 Efecto en el número de huevos y juveniles generados en raíces.** Como se observa en el Cuadro 6, estadísticamente no existen diferencias significativas en la cantidad de huevos y juveniles de *M. hapla* extraídos de las raíces de lechuga, efecto de la exposición del nematodo a extractos acuosos de hojas de tres especies (menta, paico y ruda) por dos tiempos (24 h y 48 h).

Una exposición del tratamiento testigo (agua e inóculo) a 24 h generó una población de 128 huevos y juveniles en las masas de huevos formadas en las raíces de las plantas, que es levemente mayor a una exposición del tratamiento testigo a 48 h donde se obtienen 105 huevos y juveniles. Según el ensayo de BHARADWAJ y SHARMA (2007), huevos *Meloidogyne incognita* en agua siguen desarrollándose y eclosionando, donde pasada la hora alcanzan un porcentaje de eclosión del 0,11% aumentando a un 34,78% pasadas las 48 h.

Los propágulos formados en las raíces de lechuga disminuyeron, al exponer el inóculo a los extractos acuosos de hojas de las especies aromáticas por 48 h (Cuadro 6) la población del nematodo (exceptuando la ruda) presente en raíces de plantas de lechuga que al exponerlos por 24 h, siendo el extracto de paico por 48 h el extracto que menor población presentó (46 huevos y juveniles).

Con esto se induce que un mayor tiempo de exposición con los extractos afectaría en mayor proporción la capacidad infestiva del nematodo, al mostrar el presente ensayo una mayor disminución de la población tras 48 h de interacción. Ensayos de SASANELLI (1992); ADEGBITE y ADESIYAN (2006); BHARADWAJ y SHARMA (2007), entre otros, respaldan esta idea al comprobar que extractos de *Ruta graveolens*, *Chromolaena odorata* L., *Ricinus communis* L., *Cymbopogon citratus* L., *Azardachta indica* y *Tagetes patula* en contacto con huevos y juveniles de nematodos presentan una correlación negativa al aumentar el tiempo de exposición, disminuyendo la población de estos.

En el presente ensayo, según los datos del Cuadro 6, el extracto acuoso de hojas de paico en interacción por 48 h con el inóculo fue, de las tres especies, el tratamiento que presentó el mejor control sin diferencias significativas en la población generada de *Meloidogyne* (46 huevos y juveniles), mientras que la menta en interacción por 24 h fue el tratamiento que presentó el menor control (91 huevos y juveniles).

**CUADRO 6 Huevos y juveniles II recuperados de raíces de plantas de lechuga, resultado de exponer *M. hapla* por dos tiempos a extractos acuosos de tres especies aromáticas.**

| Extracto acuoso        | Tiempo de exposición (horas) | Propágulos (huevos y juveniles II) |   |        |   |
|------------------------|------------------------------|------------------------------------|---|--------|---|
| Testigo (inóculo+agua) | 24                           | 128,00                             | ± | 56,63  | a |
| Menta                  | 24                           | 91,05                              | ± | 96,61  | a |
| Paico                  | 24                           | 55,33                              | ± | 87,05  | a |
| Ruda                   | 24                           | 68,33                              | ± | 92,88  | a |
| Testigo (inóculo+agua) | 48                           | 105,20                             | ± | 54,04  | a |
| Menta                  | 48                           | 86,49                              | ± | 115,67 | a |
| Paico                  | 48                           | 46,25                              | ± | 40,78  | a |
| Ruda                   | 48                           | 74,55                              | ± | 91,55  | a |

\* Los valores corresponden al promedio de 60 repeticiones, testigo presenta 5 repeticiones.

\* Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey,  $p \leq 0,05$  (Anexo 17).

De acuerdo a los trabajos de OKA *et al.* (2000), e IBRAHIM *et al.* (2006), quienes estudiaron la actividad nematicida de aceites esenciales de diferentes especies vegetales hacia *Meloidogyne incognita*, estos resultados pueden deberse a la baja concentración usada, ya que según éstos, necesitan altas concentraciones de los

componentes activos para inhibir la eclosión casi en un 100% con 2 y 4 mg/L de carvacrol, timol, linalol y en un 15 % con 4 mg/L de mentona; y existe toxicidad hacia el juvenil con 1, 2 y 4 mg/L de los tres primeros componentes. En el presente ensayo, el extracto de menta disminuyó la población del nematodo mas no significativamente (Cuadro 6), lo que avalaría estudios posteriores sobre la presencia del componente activo y sus concentraciones en los extractos.

Por otra parte, los tratamientos donde se usó paico y ruda disminuyeron en aproximadamente un 50% la formación de huevos y juveniles que el tratamiento testigo (Cuadro 6), observando ABALLAY *et al.* (2004) algo similar con estas mismas especies sobre *Xiphinema index*.

#### **4.4 Efecto de la especie aromática, concentración, tipo de tejido y tiempo de exposición del extracto acuoso, en la infestación de *M. hapla***

En cuarto lugar, se presentarán los resultados que dicen relación al efecto sobre la capacidad infestiva del nematodo, de exponerlo a cuatro concentraciones de extracto acuoso de tejido foliar fresco y seco, de tres especies aromáticas, pero en este caso obviando el factor tiempo, que no presentó diferencias significativas (punto 4.2 y 4.3). Se destaca que en este caso se utilizaron únicamente los datos obtenidos con los propágulos expuestos por 48 h, ya que un mayor tiempo de exposición permite observar mejor el efecto de los extractos sobre el inóculo (SASANELLI, 1992; BELLO *et al.*, 2006) y por otro lado, si se usaran los dos tiempos, se incurriría en el análisis de otro factor (tiempo) que anteriormente se sabe no es significativo.

De acuerdo a la literatura, diversas especies vegetales incluyendo a plantas medicinales actúan como controladoras de *M. hapla* (PANDEY *et al.*, 2000; PARK *et al.*, 2007; OLABIYI, 2008), dependiendo su efectividad del tipo de tejido (TABA *et al.*, 2008) y las concentraciones usadas (ADEGBITE y ADESIYAN, 2006; BHARADWAJ y SHARMA, 2007). De estos tres factores y su interacción se pudo obtener los datos y observaciones que se muestran a continuación.

##### **4.4.1 Efecto de los factores y su interacción, en el nivel de agallamiento.**

Estadísticamente según el Cuadro 7 se puede decir que existieron diferencias significativas entre el efecto de las tres especies sobre el número y porcentaje de agallas presentes en las raíces. Según el índice A, la ruda fue la especie más efectiva

con respecto al testigo, mientras que según el índice B, las tres especies: menta, ruda y paico, son efectivas con respecto al testigo.

**CUADRO 7 Índices de agallamiento de lechuga infestada con propágulos de *M. hapla* expuestos a extractos acuosos de tres especies aromáticas, a cuatro concentraciones y dos tipos de tejido.**

| Tratamiento            |        | Índice A<br>(N° agallas en raíces) | Índice B<br>(% raíces con agallas) |
|------------------------|--------|------------------------------------|------------------------------------|
| Testigo (inóculo+agua) |        | 3,20 ± 0,45 b                      | 3,80 ± 0,84 b                      |
| Especie                | Menta  | 1,89 ± 1,24 a b                    | 1,49 ± 1,39 a                      |
|                        | Ruda   | 1,27 ± 1,04 a                      | 1,00 ± 1,17 a                      |
|                        | Paico  | 1,66 ± 1,31 a b                    | 1,25 ± 1,22 a                      |
| Concentración          | 25     | 2,44 ± 1,23 b                      | 2,08 ± 1,47 b                      |
|                        | 50     | 2,08 ± 1,04 b                      | 1,64 ± 1,15 b                      |
|                        | 75     | 1,19 ± 0,88 a                      | 0,67 ± 0,83 a                      |
|                        | 100    | 0,80 ± 1,00 a                      | 0,68 ± 0,99 a                      |
| Tipo de tejido         | Fresco | 1,80 ± 1,20 a b                    | 1,50 ± 1,33 a                      |
|                        | Seco   | 1,44 ± 1,23 a                      | 1,02 ± 1,18 a                      |

\* Los valores corresponden al promedio de 5 repeticiones para el testigo, 40 para especie, 60 para tipo de tejido y 30 para concentración.

\* Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas al nivel 5% de acuerdo al test de comparaciones múltiples no paramétricas (Kruskal-Wallis),  $p \leq 0,05$ .

\* Resultado prueba de comparación múltiple (DUNN test) ver Anexo 19 y 21.

\* Evaluación del número de agallas según escala de 0 (sin agallas) a 5 (>100 agallas en el sistema radicular).

\* Evaluación del porcentaje de agallas según escala de 0 (sin agallas) a 5 (>75% del sistema radicular con agallas).

También existieron diferencias significativas entre el efecto por las distintas concentraciones usadas con respecto al testigo, siendo 75% y 100% las más eficientes en ambas escalas de medición.

Por último, el efecto por el tipo de tejido usado también presentó diferencias significativas, donde el tejido seco fue más eficiente que el testigo, sin presentar diferencias con el tejido fresco.

Asimismo estos tres factores pueden actuar conjuntamente sobre el número y porcentaje de agallas, como se observa en la interacción especie-tejido-concentración en el Cuadro 8. De esta interacción se puede desprender que el extracto acuoso de ruda fresca al 100% y del paico seco al 100% fueron los más eficaces en controlar el número de agallas, con un índice de agallamiento radicular igual a cero, presentando diferencias significativas con respecto al testigo y a los tratamientos de menta seca y de paico fresco a la concentración 25%. Los mismos resultados se obtuvieron al analizar según el porcentaje de raíces con agallas, donde el extracto acuoso de ruda fresca al 100% y de paico seco al 100% fueron también los más eficaces, con un índice de agallamiento radicular igual a cero, y presentaron diferencias significativas con respecto al testigo y al extracto de menta seca a la concentración 25%.

En general, para las tres especies utilizadas (en tejido fresco como en seco), se pudo observar (Cuadro 8) que mientras mayor la concentración del extracto mayor es el control en número y porcentaje de agallas radiculares, llegando a existir una alta eficiencia del tratamiento con extractos en concentraciones al 75% y 100%.

Un efecto similar observaron WALKER y MELIN (1996), al incorporar a sustrato infestado con *M. arenaria* y *M. incognita* aceites esenciales de menta (mentol, mentil acetato y mentona) y aceites compuestos principalmente por cineol, eugenol, geraniol y linalool, donde estos disminuyeron en más de un 50% el nivel de agallamiento radicular en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Rutgers) al aplicarlos en una concentración de 1.500 mg aceite/kg suelo, mas sin ser significativo, y bajando la efectividad al disminuir las concentraciones usadas.

**CUADRO 8** Índices de agallamiento de lechuga infestada con propágulos de *M. hapla* expuestos a extractos acuosos de tres especies aromáticas.

| Tratamiento            |        |                    | Índice A<br>(N° agallas en raíces) | Índice B<br>(% raíces con agallas) |
|------------------------|--------|--------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Especie                | Tejido | Concen-<br>tración |                                    |                                    |
| Testigo (inóculo+agua) |        |                    | 3,20 ± 0,45 b                      | 3,80 ± 0,84 b                      |
| Menta                  | Fresco | 25                 | 1,25 ± 1,26 a b                    | 1,25 ± 1,26 a b                    |
|                        |        | 50                 | 2,20 ± 0,45 a b                    | 1,80 ± 1,79 a b                    |
|                        |        | 75                 | 0,60 ± 0,55 a b                    | 0,40 ± 0,55 a b                    |
|                        |        | 100                | 2,20 ± 0,45 a b                    | 2,00 ± 1,22 a b                    |
|                        | Seco   | 25                 | 3,80 ± 0,45 b                      | 3,20 ± 1,10 b                      |
|                        |        | 50                 | 2,80 ± 0,84 a b                    | 2,00 ± 1,00 a b                    |
|                        |        | 75                 | 1,20 ± 0,45 a b                    | 0,40 ± 0,55 a b                    |
|                        |        | 100                | 0,33 ± 0,58 a b                    | 0,33 ± 0,58 a b                    |
| Ruda                   | Fresco | 25                 | 2,40 ± 0,55 a b                    | 2,40 ± 1,52 a b                    |
|                        |        | 50                 | 1,00 ± 1,00 a b                    | 0,67 ± 0,58 a b                    |
|                        |        | 75                 | 1,00 ± 0,82 a b                    | 0,50 ± 0,58 a b                    |
|                        |        | 100                | 0,00 ± 0,00 a                      | 0,00 ± 0,00 a                      |
|                        | Seco   | 25                 | 2,00 ± 0,00 a b                    | 1,33 ± 0,58 a b                    |
|                        |        | 50                 | 2,50 ± 0,58 a b                    | 2,25 ± 0,96 a b                    |
|                        |        | 75                 | 0,80 ± 0,84 a b                    | 0,40 ± 0,89 a b                    |
|                        |        | 100                | 0,60 ± 0,55 a b                    | 0,40 ± 0,55 a b                    |
| Paico                  | Fresco | 25                 | 3,50 ± 1,00 b                      | 3,25 ± 1,26 a b                    |
|                        |        | 50                 | 2,75 ± 0,96 a b                    | 2,00 ± 0,82 a b                    |
|                        |        | 75                 | 2,75 ± 0,50 a b                    | 2,00 ± 0,82 a b                    |
|                        |        | 100                | 1,67 ± 1,15 a b                    | 1,33 ± 0,58 a b                    |
|                        | Seco   | 25                 | 1,25 ± 0,50 a b                    | 0,50 ± 0,58 a b                    |
|                        |        | 50                 | 0,75 ± 0,50 a b                    | 0,75 ± 0,50 a b                    |
|                        |        | 75                 | 1,00 ± 0,00 a b                    | 0,50 ± 0,58 a b                    |
|                        |        | 100                | 0,00 ± 0,00 a                      | 0,00 ± 0,00 a                      |

\* Los valores corresponden al promedio de 5 repeticiones.

\* Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas al nivel 5% de acuerdo al test de comparaciones múltiples no paramétricas (Kruskal-Wallis),  $p \leq 0,05$ .

\* Resultado prueba de comparación múltiple (DUNN test) ver Anexo 23 y Anexo 25.



A pesar de este efecto logrado por los tratamientos en el nivel de agallamiento radicular, según SASSER y CARTER (1985) junto a HUSSEY y GRUNDLER (1998) este no da indicios de un menor número de nematodos en las raíces, ya que la infestación lograda por el nematodo y el tamaño de las agallas dependen de la susceptibilidad de la planta huésped, afirmando APPLEMAN (2003) que *Lactuca sativa* cv. Reina de mayo, planta huésped utilizada para el presente ensayo, si es susceptible a *Meloidogyne hapla*.

**4.4.2 Efecto de los factores y su interacción, en el número de huevos y juveniles formados en raíces.** La población de *M. hapla* generada en las raíces dan referencia a los individuos que penetraron y se desarrollaron en éstas, expuestos previamente a los tratamientos (BRIDGE y WILLIAMS, 2002).

Si se observan los tratamientos y sus factores de forma independiente (Cuadro 9), se ve que el mejor efecto sobre la cantidad total de huevos y juveniles de *M. hapla* recuperados desde las raíces lo presenta el paico, la concentración al 100% y el tejido fresco, con un promedio entre los tres factores de 60,1 individuos por planta; mientras que el menor efecto lo presenta la menta, la concentración 25% y el tejido seco, con un promedio de 84,2 individuos por planta. A pesar esto, no existen diferencias significativas entre exponer el inóculo a uno u otro tratamiento independiente.

Estos factores pueden actuar a su vez conjuntamente sobre el nivel de propágulos formados, donde en la interacción especie-concentración (Figura 5) el extracto de paico a las concentraciones 25%, 50% y 75% fue el más eficiente, generándose 50, 52 y 22 individuos respectivamente, mientras que la menta fue el menos eficiente a las concentraciones 25% y 75%, al generarse en las raíces 115 y 102 individuos. Al respecto INSUNZA *et al.* (2001), observó que al dejar interactuar extractos acuosos diluidos al 25% de 30 especies vegetales con *Xiphinema americanum sensu lato*, *Chenopodium ambrosioides* inmovilizó mayor porcentaje del nematodo (88,2 %) que *Mentha citrata* Ehrh. (28,5 %).

**CUADRO 9 Huevos y juveniles II recuperados en raíces de plantas de lechuga resultado de exponer *M. hapla* a extractos acuosos de tres especies aromáticas, a cuatro concentraciones y dos tejidos.**

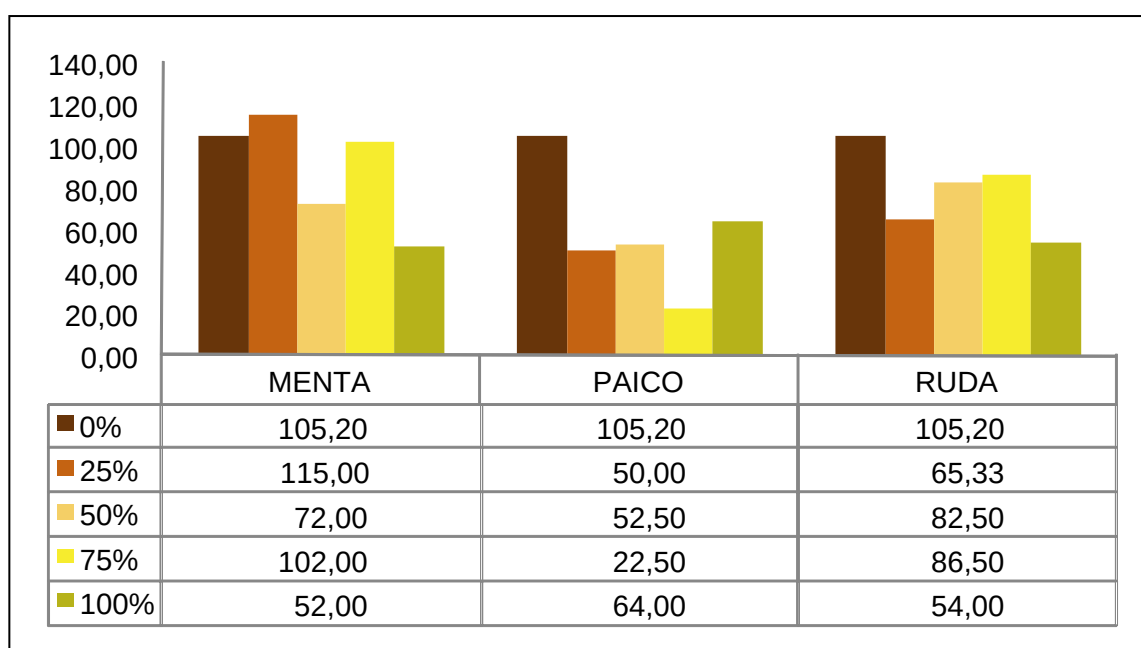
| Tratamiento    |        | Propágulos (huevos y juveniles II) |         |   |  |
|----------------|--------|------------------------------------|---------|---|--|
| Testigo        |        | 105,20                             | ± 29,92 | a |  |
| Especie        | Menta  | 89,24                              | ± 24,22 | a |  |
|                | Ruda   | 78,71                              | ± 25,48 | a |  |
|                | Paico  | 58,84                              | ± 25,56 | a |  |
| Concentración  | 25%    | 76,78                              | ± 33,27 | a |  |
|                | 50%    | 69,00                              | ± 33,27 | a |  |
|                | 75%    | 70,33                              | ± 31,74 | a |  |
|                | 100%   | 56,67                              | ± 33,64 | a |  |
| Tipo de tejido | Fresco | 64,71                              | ± 20,63 | a |  |
|                | Seco   | 86,48                              | ± 20,34 | a |  |

\* Los valores corresponden al promedio de 5 repeticiones.

\* Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey,  $p \leq 0,05$  (Anexo 26).

A pesar de que la menta presentó menor control sobre el nematodo que el paico (Figura 5), en las tres especies utilizadas el control del propágulo formado en las raíces aumentó con la concentración del extracto. Un efecto parecido presenciaron ADEGBITE y ADESIYAN (2006) al exponer huevos de *M. incognita* a extractos acuosos radiculares de diversas especies vegetales, donde a medida que se diluían los extractos la inhibición de la eclosión de los huevos y el control de las larvas del nematodo decrecían.

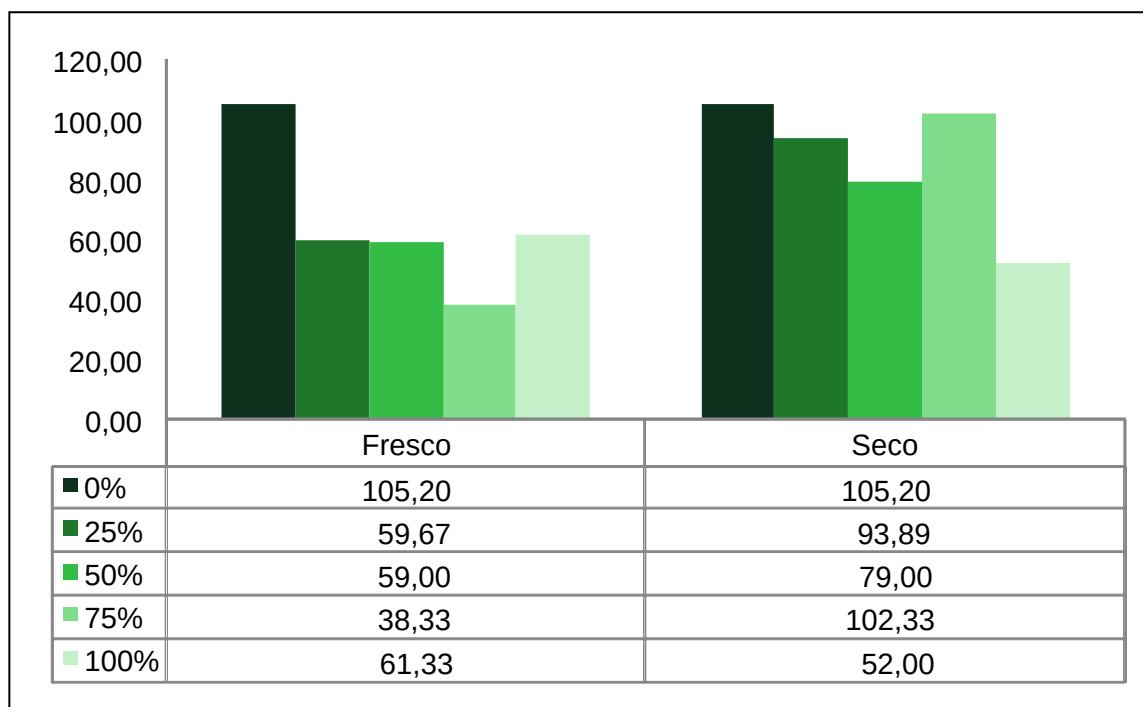
Si bien se usó la misma proporción de tejido (50 g/L), en todos los extractos acuosos, el de menta pudo tener un efecto menor a los demás debido a que la concentración del compuesto activo era muy baja (75 a 375 mg/L de mentona) (MUÑOZ *et al.*, 2001) no así el compuesto activo presente en el paico (390 a 500 mg/L de ascaridol) (HARBORNE y BAXTER, 2001; TORRES *et al.*, 2003), extracto acuoso que presentó el mejor efecto (Figura 5). DE ALMEIDA *et al.* (2007) respaldan esta idea al comprobar en un ensayo *in vitro* que concentraciones mayores del extracto acuoso de hojas de menta: 115,9 g/L (174 a 869 mg/L de mentona), y de paico: 110,6 g/L (863 a 1107 mg/L ascaridol), controlaron hasta un 95% la sobrevivencia de *Haemonchus contortus* y *Caenorhabditis elegans* (nematodos gastrointestinales patógenos de cabras). Esto podría avalar una futura investigación de los respectivos compuestos activos presentes en las especies analizadas.



**FIGURA 5 Efecto de la interacción de la especie aromática y la concentración del extracto acuoso, en el número total de huevos y juveniles de *M. hapla* recuperados en raíces de lechuga.**

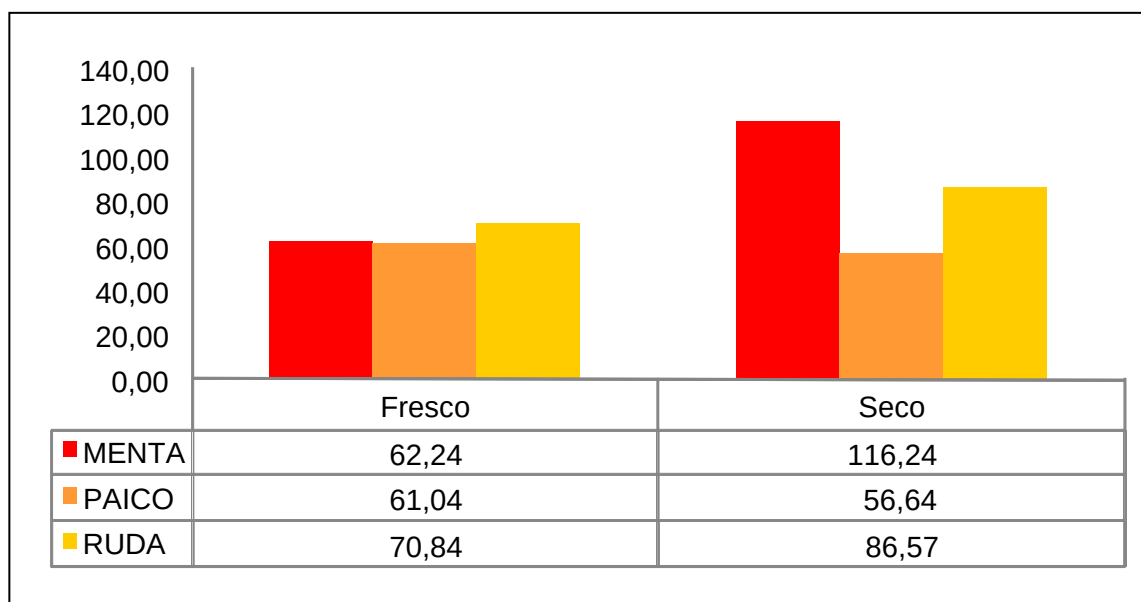
Al analizar el efecto de la interacción entre los factores tipo de tejido y concentración en la Figura 6, los extractos frescos en general muestran una mayor disminución del propágulo que los extractos secos a concentraciones 25%, 50% y 75%, aún más, si observamos la Figura 7, en la interacción de los factores: tipo de

tejido y especie, se da igualmente que los extractos acuosos frescos de menta y ruda denotan un control inicial mayor, ya que la cantidad de propágulo generado llega a los 62 y 71 huevos y juveniles respectivamente, frente a los mismos extractos secos que generan 116 y 86 huevos y juveniles respectivamente.



**FIGURA 6** Efecto de la interacción de la concentración y el tipo de tejido de extractos acuosos de tres especies aromáticas en el número total de huevos y juveniles de *M. hapla* recuperados en raíces de lechuga.

Un efecto contrario observaron TABA *et al.* (2008) en su ensayo donde extractos acuosos y etanólicos de tejido seco de plantas de *Bidens pilosa* L. var. *Radiata* Scherff, *Hydrocotyle dichondroides* Makino, *Oxalis corymbosa* DC., *O. corniculata* L., y *Stenactis annus* (L.) Cass presentaron un mayor efecto controlando la población de *Meloidogyne incognita* que los mismos extractos frescos, mientras que GREWAL (1989) advirtió muy poca o ninguna diferencia significativa entre usar extractos acuosos foliares de tejido fresco o seco de plantas del norte de la India, en el control de *Aphelenchoides composticola*.



**FIGURA 7 Efecto de la interacción de la especie aromática y el tipo de tejido del extracto acuoso, en el número total de huevos y juveniles de *M. hapla* recuperados en raíces de lechuga.**

No obstante lo mencionado, estadísticamente no existen diferencias significativas al exponer el inóculo a la interacción de los factores: especie-concentración, especie-tipo de tejido, concentración-tipo de tejido (Anexo 26) sobre la población generada de *M. hapla* en las raíces de lechuga con respecto al testigo (Figura 5, 6 y 7).

Diversas especies vegetales han sido evaluadas en base a extractos acuosos para el control de nematodos fitoparásitos (HALBRENDT, 1996), sin embargo su efectividad depende según SASANELLI (1992), KHURMA y SINGH (1997), ABALLAY *et al.* (2004), y PARK *et al.* (2005) del tipo de tejido, de la concentración y del tiempo de interacción con el inóculo, que como se demostró en el punto 4.2 y 4.3, no fue significativo para el presente ensayo.

Finalmente, en el presente ensayo, todos los tratamientos disminuyeron el daño radicular provocado en plantas de lechuga (agallas radiculares) por efecto de la infestación de *M. hapla*, existiendo diferencias significativas con respecto al testigo.

El registrar el nivel de agallamiento radicular fue un indicador adecuado de la infestación alcanzada por *M. hapla* al registrar el efecto que ejercen los extractos sobre

éste, aun cuando es un indicador cualitativo, puesto que no considera el número exacto de individuos parasitando las raíces. Al respecto, ABALLAY *et al.* (2004) comprobaron que al incorporar como abono verde *Ch. ambrosioides*, *R. graveolens* y otras especies en un cultivo de vides infestadas con *Xiphinema index*, existían diferencias significativas entre los tratamientos en el nivel de agallamiento pero, al igual que en el ensayo aquí presentado, estas diferencias no representaron de igual forma la cantidad de propágulos encontrados en las mismas raíces.

Al analizar el nivel poblacional de *M. hapla* encontrado en el sistema radicular, se observó que, a pesar de que se ejerció una disminución en la cantidad de propágulos generados (huevos y juveniles) por cada uno de los tratamientos con respecto al testigo, ninguno de éstos inhibió significativamente su desarrollo. SASANELLI *et al.* (2007) tampoco obtuvieron diferencias significativas al evaluar *in vitro* el efecto de extracto acuoso de hojas de ruda en diversos tiempos de exposición (4 h, 8 h y 16 h) sobre la eclosión de los huevos de *Meloidogyne incognita* y *M. javanica*.

Por su parte INSUNZA *et al.* (2001) demostraron que, al utilizar extractos acuosos de hojas de *Ruta graveolens*, *Mentha piperita* y *Chenopodium ambrosioides* se logra una reducción de la población del nematodo *Xiphinema americanum sensu lato* mostrando un efecto nematostático o nematotóxico por parte de las especies aromáticas, aunque sin diferencias significativas. Esto es respaldado por DE ALMEIDA *et al.* (2007), al demostrar que los extractos acuosos de las dos últimas especies controlan el nematodo gastrointestinal de cabras con concentraciones de 115,9 mg/ml para y de 110,6 mg/ml, inferiores a las concentraciones usadas en el presente ensayo y que pueden dar inicio a futuras investigaciones usando concentraciones mayores para los extractos de las especies usadas.

## 5 CONCLUSIONES

De acuerdo a la metodología aplicada y a los resultados obtenidos se puede concluir que:

- De las tres especies aromáticas evaluadas, ruda (*Ruta graveolens*) y paico (*Chenopodium ambrosioides*) mostraron un mayor control sobre la infestación de *Meloidogyne hapla* en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* cv. Reina de mayo) que menta (*Mentha x piperita*).
- Para todas las especies, la exposición previa a su inoculación, de propágulos del nematodo a los extractos acuosos por 48 horas disminuyó significativamente el nivel de agallamiento de raíces en relación a las 24 horas.
- El nivel de agallamiento provocado por la infestación de *M. hapla* en raíces de lechuga, se redujo significativamente al exponer previamente el nematodo al tejido seco y las concentraciones 75 y 100% de los extractos acuosos.
- Los huevos y juveniles de *M. hapla* formados en las raíces no se vieron afectados significativamente al exponer previamente el nematodo a los distintos extractos acuosos, demostrando el mejor control el extracto de *Ch. ambrosioides*, el tejido fresco y la concentración al 100%.
- Los extractos acuosos de *M. piperita*, *Ch. ambrosioides* y *R. graveolens* no afectaron en forma significativa el desarrollo aéreo y radicular de plantas de lechuga.

## 6 BIBLIOGRAFÍA

- ABALLAY, E., BENAVIDES, F.J. y VIEIRA, A. 1998. Resistencia de algunos portainjertos a una población chilena de *Xiphinema index*. Nematologia Mediterránea 26: 185 - 188.
- ABALLAY, E., SEPULVEDA, R. e INSUNZA, V. 2004. Evaluation of five nematode-antagonistic plants used as green manure to control *Xiphinema index* Thorne et Allen on *Vitis vinifera* L. Nematropica 34 (1): 45 - 51.
- ABD-ELGAWAD, M.M. y OMER, E.A. 1995. Effect of essential oils of some medicinal plants on phytonematodes. Journal of Pest Science 68 (4): 82 - 84.
- ADEGBITE, A.A. y ADESIYAN, S.O. 2006. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible Soybean (Peer reviewed papers). Journal of Vegetable Science 12 (2): 5 - 12.
- AGRIOS, G. 2005. Plant Pathology. Academic press. 5ª ed. (USA). 922 p.
- AKHTAR, M. y MASHKOOR, A.M. 1993. Utilization of waste materials in nematode control: a review. Bioresource Technology 45 (1): 1 - 7.
- AKHTAR, A. y MALIK, A. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. Bioresource Technology 74: 35 - 47.
- ALLAM, M.M, SIDDIQUI, M.A. y AHMAD, A. 1990. Antagonistic plants. In: Jairajpuri, M.S., Alam, M.M. y Ahmad, I. (eds). Nematode bio-control: aspects and prospects. Delhi, India. CBS. pp: 41 - 50.
- ALONSO, J. 1998. Principios activos de las plantas medicinales. In: Alonso, J. (eds) Tratado de Fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas. México. Isis. 111 – 129 p.
- APPLEMAN, L. 2003. Screening for Root Knot nematode (*Meloidogyne hapla*) using Lettuce. Journal of Undergraduate Research VI 3 p.



- AZIRAK, S. y KARAMAN, S. 2008. Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B. Soil and Plant Science* 58: 88 - 92.
- BAKKER, J. 1993. Current state of nematocides. *In: Zadoks, J.C. (eds) Modern Crop Protection: Developments and Perspectives.* Wageningen: Wageningen. J.C. Zadoks. pp: 21 - 26.
- 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.
- BAUSKE, E.M., RODRIGUEZ-KABANA, R., KLOEPPER, J.W., ROBERTSON, D.G., WEAVER, C.F. y KING, P.S. 1994. Management of *Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds. *Nematropica* 24: 143 - 150.
- BELAIR, G. 1992. Effects of cropping sequences on population densities of *Meloidogyne hapla* and carrot yield in organic soil. *Journal of Nematology* 24: 450 - 456.
- BELAIR, G. y PARENT, L.E. 1996. Using crop rotation to control *Meloidogyne hapla* chitwood and improve marketable carrot yield. *HortScience* 31 (1): 106 - 108.
- BELLO, L.Y., CHINDO, P.S., MARLEY, P.S. y ALEGBEJO, M.D. 2006. Effects of some plant extracts on larval hatch of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 39 (4): 253 - 257.
- BHARADWAJ, A. y SHARMA, S. 2007. Effect of some plant extracts on the hatch of *Meloidogyne incognita* Eggs. *International Journal of Botany* 3: 312 - 316.
- BHATTI, D.S. 1988. Utilization of toxic plants for the control of nematode pest of economic crops: Final Technical Report. Hisar. India. Haryana. Agriculture University. 231 p.
- BIJLOO, J.D. 1965. The "Pisum test": A simple method for the screening of substances on their therapeutic nematocidal activity. *Nematologica* 11: 643 - 644.

- BIRCH, A.N.E, ROBERTSON, W.M. y FELLOWS, L.E. 1993. Plants products to control plant parasitic nematodes. *Pesticide Science* 39 (2): 141 - 145.
- BIRD, A.F. y ROGERS, G.E. 1965. Ultrastructural and histochemical studies of the cells producing the gelatinous matrix in *Meloidogyne*. *Nematologica* 11: 231 - 238.
- BIRD, A.F. y WALLACE, H.R. 1965. The influence of temperature on *Meloidogyne hapla* and *M. javanica*. *Nematologica* 11 (4): 581 - 589.
- BRIDGE, J. 1996. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. *Annual Review of Phytopathology* 34: 201 – 225.
- BRIDGE, J. y WILLIAMS, T.D. 2002. Plant parasitic nematodes. *In*: Waller, S.J. y Lenné, J.M. (eds) *Plant Pathologist's Pocketbook*. CAB international, Wallingford, UK. pp: 140 - 162.
- BRINKMAN, E.P., DUYTS, H. y VAN DER PUTTEN, W.H. 2008. Interactions between root-feeding nematodes depend on plant species identity. *Soil Biology and Biochemistry* 40 (9): 2186 - 2193.
- BUTOOL, F., HASEEB, A. y SHUKLA, P.K. 1998. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, infesting Egyptian henbane, *Hyoscyamus muticus* L., by the use of nematicides and oilcakes. *International Journal of Pest Management* 44 (4): 199 - 202.
- CAILLAUD, M.C., DUBREUIL, G., QUENTIN, M., PERFUS-BARBEOCH, L., LECOMTE, P., DE ALMEIDA, J., ABAD, P., ROSSO, M. y FAVERY, B. 2008. Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of Plant Physiology* 165: 104 - 113.
- CHAVARRIA-CARVAJAL, J.A, KOKALIS-BURELLE, N., RODRIGUEZ-KABANA, R. y BAUSKE, E. 1994. Efecto de tres compuestos aromáticos naturales sobre el número de huevos y larvas de *Meloidogyne incognita*. *Nematropica* 24 (2): 76 (Abstr).
- CHEN, Z.X., CHEN, S.Y. y DICKSON, D.W. 2004. *Nematology; Advances and perspectives, Nematode Management and Utilization*. Londres, Tsinghua University & CABI. V. 2. 1254 p.

- CHITWOOD, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology* 40: 221 - 249.
- COLLINGBORN, F.M.B., GOWEN, S.R., MUELLER-HARVEY, I. 2000. Investigations into the biochemical basis for nematode resistance in roots of three *Musa* cultivars in response to *Radopholus similis* infection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5297 - 5301.
- CURTIS, R.H.C. 2007. Do phytohormones influence nematode invasión and feeding site establishment. *Nematology* 9 (2): 155 – 160.
- DE ALMEIDA, M.A., DOMINGUES, L.F., ALMEIDA, G.N., SIMAS, M.M., BOTURA, M.B., DA CRUZ, A.C., DA SILVA, A.V., MENEZES, T.P. y BATATINHA, M.J. 2007. Effects of aqueous extracts of *Mentha piperita* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. leaves in infective larvae cultures of gastrointestinal nematodes of goats. *Revista Brasileira de Parasitología Veterinaria* 16 (1): 57 - 59.
- DE WAELE, D., McDONALD, A.H. y DE WAELE, E. 1988. Influence of seaweed concentrate on the reproduction of *Pratylenchus zeae* (Nematoda) on maize. *Nematologica* 34 (1): 71 - 77.
- DECKER, H. y SVESHNIKOVA, N.M. 1989. Plant nematodes and their control (Phytonematology). Traducido por Kohli, I. Pauls. India. E. J. Brill. 540 p.
- DROPKIN, V.H. 1980. Introduction to plant nematology. New York. Wiley-intercience. 293 p.
- DUFOUR, R., GUERENA, M. y EARLES, R. 2003. Alternative nematode control; Pest management technical note. Appropriate Technology Transfer for Rural Areas (ATTRA) (On line) <[www.attra.org/attra-pub/nematode.html](http://www.attra.org/attra-pub/nematode.html)> (24 abr. 2009).
- DUNCAN, L.W. y PHILLIPS, M.S. 2009. Sampling Root-knot nematodes. In: Perry, R.N., Moens, M. y Starr, J.L. (eds). Root knot nematodes. United Kingdom. CAB International. 480 p.
- DUKE, J. 1991. Handbook of Medicinal Herbs. Boca ratón, Florida, USA. CRC. pp: 29 - 30.

- EISENBACK, J.D. y TRIANTAPHYLLOU, H.H. 1991. Plant parasitic nematodes: Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* Species and Races. In: Nickle, W.R. (eds). Manual of Agricultural Nematology. New York, USA. CRC. 1035 p.
- EL-SHERIF, A.G., REFAEI, A.R., EL-NAGAR, M.E. y SALEM, M.M. 2007. The role of eggs inoculum level of *Meloidogyne incognita* on their reproduction and host reaction. African Journal of Agricultural Research 2 (4): 159 - 163.
- ELBADRI, G.A.A., LEE, D.W., PARK, J.C. y CHOO, H.Y. 2009. Nematicidal efficacy of herbal powders on *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae) on potted watermelon. Journal of Asia-Pacific Entomology 12: 37 - 39.
- EVANS, K., TRUDGILL, D. y WEBSTER, J. 1993. Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Wallingford, Inglaterra. CAB International 648 p.
- FASSULIOTIS, G. y SKUCAS, G.P. 1969. The effect of a pyrrolizidine alkaloid ester and plants containing pyrrolizidine on *Meloidogyne incognita* acrita. Journal of Nematology 1: 287 - 288 (Abstr.)
- FAVERY, B., LECOMTE, P., GIL, N., BECHTOLD, N., BOUCHEZ, D., DALMASSO, A. y ABAD, P. 1998. RPE, a plant gene involved in early developmental steps of nematode feeding cells. The EMBO Journal 17 (23): 6799 - 6811.
- FERRAZ, S. y FREITAS, L.G. 2004. O controle de fitonematóides por plantas antagonistas e produtos naturais (On line). Universidade Federal de Viçosa <[www.ufv.br/dfp/lab/nematologia/antagonistas.pdf](http://www.ufv.br/dfp/lab/nematologia/antagonistas.pdf)> (5 nov. 2008).
- GOVERSE, A., DE ALMEIDA, J., VERHEES, J., VAN DER KROL, S., HELDER, J. y GHEYSEN, G. 2000. Cell cycle activation by plant parasitic nematodes. Plant Molecular Biology 43: 747 - 761.
- GREWAL, P. 1989. Nematicidal effects of some plant-extracts to *Aphelenchoides composticola* (Nematoda) infesting mushroom, *Agaricus bisporus*. Nematology Section, National Centre for Mushroom Research and Training. Revue Nématology 12 (3): 317 - 322.
- HAGAN, A., GAZAWAY, W. y SIKORA, E. 1998. Nematode suppressive crops. (On line) <<http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-0856/ANR-0856.pdf>>. Alabama Cooperative Extension System. Alabama A&M and Auburn Universities. 4 p.

- HALBRENDT, J.M. 1995. Biological and cultural management of plant-parasitic nematodes. Regional Research Project NE-171. 4 p.
- HALBRENDT, J.M. 1996. Allelopathy in the management of plant parasitic nematodes. *Journal of Nematology* 28: 8 - 14.
- HALE, A.L., MEEPAGALA, K.M., OLIVA, A., ALIOTTA, G. y DUKE, S. 2004. Phytotoxins from the leaves of *Ruta graveolens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (11): 3345 - 3349.
- HARBORNE, J.B. y BAXTER, H. 2001. Chemical dictionary of economic plants. 3<sup>ra</sup> ed. Chichester, England. John Wiley. 217 p.
- HARI, S.G., BEANE, J. Y PERRY, R.N. 2000. The influence of root diffusate, host age and water regimes on hatching of the root-knot nematode, *Meloidogyne triticroyzae*. *Nematology* 2 (2): 191 - 199.
- HEGAZY, A.K. y FARRAG, H.F. 2007. Allelopathic potential of *Chenopodium ambrosioides* on germination and seedling growth of some cultivated and weed plants. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry* 2: 1 - 9.
- HERNANDEZ, M.A., GOMEZ, L., RODRIGUEZ, M.G., ENRIQUE, R. y MIRANDA, I. 2008. Evaluación de dos variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) para su uso como plantas trampas de *Meloidogyne incognita* KOFOID y WHITE (CHITWOOD). *Revista de Protección Vegetal* 23 (2): 99 - 103.
- HOFMANN, J. Y GRUNDLER, F.M.W. 2007. How do nematodes get their sweets? Solute supply to sedentary plant-parasitic nematodes. *Nematology* 9: 451 – 458.
- HUANG, C.S. y MAGGENTI, A.R. 1969. Wall modifications in developing giant cells of *Vicia faba* and *Cucumis sativus* induced by root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. *Phytopathology* 59: 931 - 937.
- HUSSEY, R.S. y BARKER, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula for *Meloidogyne spp.*, including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025 - 1028.

- HUSSEY, R.S. y GRUNDLER, F.M.W. 1998. Nematode parasitism of plants. *In*: Perry R.N. and Wright, D.J. (eds). Physiology and Biochemistry of Free-living and Plant-parasitic Nematodes. Wallingford, UK. CAB International. pp: 213 – 243.
- HUSSEY, R.S. y JANSSEN, G.J.W. 2002. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. *In*: Starr, J.L., Cook, R. y Bridge, J. (eds). Plant Resistance to Parasitic Nematodes. CAB International. United Kingdom. pp: 43 - 70.
- IBRAHIM, S.K., TABOULSI, A.F. y EL-HAJ, S. 2006. Effect of essential oils and plant extract on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. *Phytopathología Mediterranea* 45: 238 - 246.
- INGHAM, E. 1996. The Soil Foodweb: Its Importance in Ecosystem Health. (On line). <<http://rain.org:80/~sals/ingham.html>>. 13 p. (23 ago. 2009).
- INSUNZA, V. 1990. Nematicidal activity of Chilean plants: *in vitro* tests on *Ditylenchus dipsaci*. *International Nematology. Network Newsletter*. 7 (2): 44 - 46.
- 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: 47 - 54.
- INSUNZA, V. y FIABANE, C. 1991. Plantas nematocidas: una defensa natural. Santiago, Chile. *El Canelo* 6 (23): 23 - 25.
- INSUNZA, V. y VALENZUELA, A. 1995. Control of *Ditylenchus dipsaci* on garlic (*Allium sativum*) with extracts of medicinal plants from Chile. *Nematropica* 25: 35 - 41.
- JAUBERT, S., LEDGER, T.N., LAFFAIRE, J.B., PIOTTE, C., ABAD, P. y ROSSO, M. 2002. Direct identification of stylet secreted proteins from root-knot nematodes by a proteomic approach. *Molecular and Biochemical Parasitology* 121 (2): 205 - 211.
- JEFFERSON, L.V. y PENNACCHIO, M. 2003. Allelopathic effects of foliage extracts of four Chenopodiaceae species on germination. *Journal of Arid Environments* 55: 275 – 285 p.

- JEPSON, S.B. 1987. Identification of the Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). United Kingdom, CAB International. 265 p.
- KARR, L.L., DREWES, C.D. y COATS, J.R. 1990. Toxic effects of d-limonene in the earthworm *Eisenia foetida* (Savigny). Pesticide Biochemistry and Physiology 36: 175 - 186.
- KAWAZU, K., NISHI, Y. y NAKAJIMA, S. 1980. Two nematicidal substances from roots of *Cirsium japonicum*. Agricultural Biology and Chemistry 44: 903 - 906.
- KERRY, B.R. 2000. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 38: 423 - 441.
- KHURMA, U.R. y SINGH, A. 1997. Nematicidal potencial of seed extracts: *in vitro* effects on juvenile mortality and egg hatch of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. Nematología Mediterranea. 25: 49 - 54.
- KIMENJU, J.W., KAGUNDU, A.M., NDERITU, J.H., MAMBALA, F., MUTUA, G.K. y KARIUKI, G.M. 2008. Incorporation of green manure plants into bean cropping systems contribute to root-knot nematode suppression. Asian Journal of Plant Science 7 (4): 404 - 408.
- KOGISO, S., WADA, K. y MUNAKATA, K. 1976a. Isolation of nematicidal polyacetylenes from *Carthamus tinctorius* L. Agricultural Biology and Chemistry 40: 2085 - 2089.
- KOGISO, S., WADA, K. y MUNAKATA, K. 1976b. Nematicidal polyacetylenes, 3Z,11E and 3E,11E-trideca-1,3,11-triene-5,7,9-triynone from *Carthamus tinctorius* L. Tetrahedron Letters. 2: 109 - 110.
- KUTYWAYO, V. y BEEN, T.H. 2006. Host status of six major weeds to *Meloidogyne chitwoodi* and *Pratylenchus penetrans*, including a preliminary field survey concerning other weeds. Nematology 8: 647 - 657.
- LAHTINEN, A.E., TRUDGILL, D.L. y TIILIKKALA, K. 1988. Threshold temperature and minimum time requirements for the complete life cycle of *Meloidogyne hapla* from northern Europe. Nematologica 34: 443 - 451.

- MAGUNACELAYA, J. y DAGNINO, E. 1999. Nematología agrícola en Chile. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Serie Ciencias Agronómicas N°2. Chrisver Gráfica. 282 p.
- MAHESHWARI, D.K. y ANWAR. M. 1990. Nematicidal activity of some phenolics on root knot, growth and yield of *Capsicum frutescens* cv. California Wonder. Journal of Phytopathology 129 (2): 159 – 164.
- MAHMOOD, L. y SIDDIQUI, Z.A. 1993. Effect of phenolics on the growth of tomato and reproduction of *Rotylenchulus reniformis*. Nematología Mediterranea 21: 97 - 98.
- MALIK, M.S., SANGWAN, N.K., DHINDSA, K.S., VERMA, K.K. y BHATTI, D.S. 1987. Nematicidal efficacy of some monoterpenes and related derivatives. Pesticides 21: 30 - 32.
- MAREGGIANI, G., PELICANO, A., FRASCHINA, A., BILOTTI, G., GOROSITO, N. y ZIPETO, G. 1997. *In vitro* activity of natural plant products on *Meloidogyne incognita* larvae (Nematoda: Meloidogynidae). Rev. de la Facultad de Agronomía, Univ.de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. 16 (3): 141 -145.
- MATSUDA, K., KIMURA, M., KOMAI, K. y HAMADA, M. 1989. Nematicidal activities of (-)-N-methylcytisine and (-)-anagyrine from *Sophora flavescens* against pine wood nematodes. Agricultural Biology and Chemistry 53: 2287 - 2288.
- MATSUDA, K., YAMADA, K., KIMURA, M. y HAMADA, M. 1991. Nematicidal activity of matrine and its derivatives against pine wood nematodes. Journal of Agricultural Food Chemistry 39: 189 - 191.
- McCLURE, M.A. y ROBERTSON, J. 1973. Infection of cotton seedlings by *Meloidogyne incognita* and a method of producing uniformly infected root segments. Nematologica 19 (4): 428 - 434.
- MITKOWSKI, N.A., VAN DER BEEK, J.G. y ABAWI, G.S. 2002. Characterization of Root-Knot Nematode Populations Associated with vegetables in New York State. Plant Disease 86 (8): 840 - 847.



- MOENS, M., PERRY, R.N. y STARR, J.L. 2009. *Meloidogyne* species: a diverse group of novel and important plant parasites. *In*: Perry, R.N., Moens, M. y Starr, J.L. (eds). Root knot nematodes. United Kingdom. CABI international. 480 p.
- MOREND, L. 1999. Las Hierbas Medicinales (I). Chile Agrícola 24 (238): 130 - 132.
- MUCCIARELLI, M., CAMUSSO, W., BERTEA, C.M., BOSSI, S. y MAFFEI, M. 2001. Effect of (+)-pulegone and other oil components of *Mentha x piperita* on cucumber respiration. Phytochemistry 57: 91 - 98.
- MUÑOZ, O., MONTES, M. y WILKOMIRSKY, T. 2001. Plantas Medicinales de uso en Chile: química y farmacología. Santiago, Chile. Universitaria. 330 p.
- NAVAS, A., CASTAGNONE-SERENO, P., BLAZQUEZ, J. y ESPARRAGO, G. 2001. Genetic structure and diversity within local populations of *Meloidogyne* (Nematoda: Meloidogynidae). Nematology 3: 243 - 253.
- NETSCHER, C. y SIKORA, R.A. 1990. Nematode parasites of vegetables. *In*: Luc, M., Sikora, R.A. y Bridge, J. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Londres, CAB International. pp: 237 - 283.
- NOLING, J.W y BECKER, J.O. 1994. The challenge of research and extension to define and implement alternatives to methyl bromide. Journal of Nematology 26: 573 - 586.
- OKA, Y., BEN-DANIEL, B. y COHEN, Y. 2001. Nematicidal activity of powder and extracts of *Inula viscosa*. Nematology 3 (8): 735 - 742.
- OKA, Y., NACAR, S., PUTIEVSKY, E., RAVID, U., YANIV, Z. y SPIEGEL, Y. 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. Phytopathology 90 (7): 710 - 715.
- OLABIYI, T.I. 2008. Pathogenicity study and nematotoxic properties of some plant extracts on the root-knot nematode pest of tomato, *Lycopersicon esculentum* (L.) Mill. Plant Pathology Journal 7: 45 - 49.
- OLIVA, A., MEEPAGALA, K.M., WEDGE, D.E., HARRIES, D., HALE, A.L., ALIOTTA, G. y DUKE, S.O. 2003. Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves,

- including a new quinolone alkaloid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 890 - 896.
- OSMAN, A.A. y VIGLIERCHIO, D.R. 1988. Efficacy of biologically active agents as nontraditional nematocides for *Meloidogyne javanica*. *Revue de Nématologie* 11: 93 - 98.
- PANDEY, R., KALRA, A., TANDON, S., MEHROTRA, N., SINGH, H.N. y KUMAR, S. 2000. Essential oils as potent sources of nematocidal compounds. *Journal of Phytopathology* 148: 501 - 502.
- PALOW, M. 1985. El gran libro de las plantas medicinales, la salud mediante las fuerzas curativas de la naturaleza. (3<sup>ra</sup> ed). Madrid, España. Everest. 459 p.
- PARK, I.K., PARK, J.Y., KIM, K.H., CHOI, K.S., CHOI, I.H., KIM, C.S. y SHIN, S.C. 2005. Nematicidal activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) oils against the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Nematology* 7: 767 - 774.
- PARK, S.D., KHAN, Z. y KIM, Y.H. 2007. Evaluation of medicinal herbs for resistance to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in Korea. *Nematropica* 37: 73 - 77.
- PAULINI, H., WAIBEL, R., KIEFER, J. y SCHIMMER, O. 1991. Gravacridondiolacetate, a new dihydrofuroacridone alkaloid from *Ruta graveolens*. *Planta Medica* 57: 82 - 83.
- PEET, M. 1996. Sustainable Practices for Vegetable Production in the South. Focus, Newburyport, MA. pp: 75 - 77.
- PERRY, R.N. 1996. Parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 34: 181 - 199.
- PERRY, R.N. 2003. Dormancy and hatching of nematode eggs. *Parasitology Today* 5 (12): 377 - 383.
- PERRY, R.N. y WRIGHT, D.J. 1998. The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes. Wallingford, U.K. CAB International 438 p.

- PLOEG, A.T. y MARIS, P.C. 1999. Effects of temperature on the duration of the life cycle of a *Meloidogyne incognita* population. *Nematology* 1: 389 - 393.
- QUARLES, W. 1992. Botanical pesticides from *Chenopodium*. *IPM Practitioner* 14: 1 - 11.
- QUENEHERVE, P., TOPART, P. y MARTINY, B. 1998. *Mucuna pruriens* and other rotational crops for control of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* vegetables in polytunnels in martinique. *Nematropica* 28: 19 - 30.
- RICE, E. 1983. Plant-nematode chemical interactions in agriculture. *In*: Rice, E. (eds). Pest control with nature`s chemicals: Allelochemicals and pheromones in gardening and agriculture. University of Oklahoma Press. *Journal of Applied Ecology* 224 p.
- RICE, E. 1984. Allelopathy. 2<sup>nd</sup> ed. Orlando, Florida. Academic Press. 422 p.
- ROBINSON, A.F. 2007. Nematode management in cotton: Biology and management strategies in major production regions. *In*: Ciancio, A. y Mukerji, K.G. (eds). Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. Berlin. Springer. pp: 141 - 174.
- RODRIGUEZ-KABANA, R. 1992. Cropping systems for the management of phytonematodes. *In*: Gommers, F.J. y Maas, P.W.T. (eds). Nematology from molecule to ecosystem: Proceeding Second International Nematology Congress. Invergowrie, Dundee, Scotland: European Society of Nematologists. pp: 219 - 233.
- RODRIGUEZ, R., TABARES, J. y MEDINA, J. 1997. Cultivo moderno del tomate. 2<sup>a</sup> Madrid, España. Mundi Prensa. 257 p.
- ROJAS, C. 1999. Hierbas y plantas medicinales. Madrid, España. Edimat. 188 p.
- SABILLON, A. y BUSTAMANTE, M. 1996. Guía fotográfica para la identificación de plantas con propiedades plaguicidas. Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. 101 p.
- SAN MARTÍN, R. y MAGUNACELAYA, J.C. 2005. Control of plant-parasitic nematodes with extracts of *Quillaja saponaria*. *Nematology* 7 (4): 577 – 585.

- SANCHEZ, J. 2002. Efectos de extractos de *Ruta graveolens* (Rutaceae) sobre *Radopholus similis* e identificación de nemátodos asociados al cultivo de plátano *Musa spp.* Tecomán, Colima, México. Tesis Maestría en Ciencias, area biológica. Universidad de Colima. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. 66 p.
- SANGWAN, N.K., VERMA, B.S., VERMA, K.K. y DHINDSA, K.S. 1990. Nematicidal activity of some essential plant oils. *Pesticide Science* 28: 331 – 335.
- SASANELLI, N. 1992. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematología Mediterránea* 20: 53 - 55.
- SASANELLI, N. 1995. Prospettive per l'impiego di alcune piante ad azione nematocida. *L'Informatore Agrario* 48: 55 - 57.
- SASANELLI, N., ANTON, A., D'ADDABBO, T. y TAKACS, T. 2007. Nematicidal properties of leaf extracts of *Ruta graveolens* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Russian Journal of Nematology* 15: 65 - 73.
- SASANELLI, N. y D'ADDABBO, T. 1992. The effect of *Cineraria maritima*, *Ruta graveolens* y *Tagetes erecta* extracts on the hatching of *Heterodera schachtii*. *Nematología Mediterranea* 20: 49 - 51.
- SASANELLI, N. y D'ADDABBO, T. 1993. Effect of *Cineraria maritima*, *Ruta graveolens* and *Tagetes erecta* leaf and root extract on Italian population of *Meloidogyne* species. *Nematología Mediterranea* 21: 21 - 25.
- SASANELLI, N. y D'ADDABBO, T. 1995. Effect of Aqueous solutions of rutin on the beet cyst nematode *Heterodera schachtii*. *Nematología Mediterranea* 23 (2): 31 - 34.
- SASSER, J.N. 1989. Plant-parasitic nematodes: The Farmer's Hidden Enemy. Raleigh. North Carolina State University, USA. Raleigh, N.C. 115 p.
- SASSER, J.N. y CARTER, C. 1985. An advanced treatise on *Meloidogyne*: biology and control. North Carolina State University, USA. Departament of Plant Pathology. 422 p.

- SASSER, J.N. y JENKINS, W.R. 1960. Nematology: Fundamentals and Recent Advances, with emphasis on Plant Parasitic and Soil Forms. University of North Carolina (UNC), USA. 480 p.
- SAYRE, R.M., PATRICK, Z.A. y THORPE, H.J. 1965. Identification of a selective nematicidal component in extracts of plant residues decomposing in soil. *Nematologica* 11 (2): 263 - 268
- SIDDIQUI, Z.A. y MAHMOOD, I. 1993. Biological control of *Meloidogyne incognita* race 3 and *Macrophomina phaseolina* by *Paecilomyces lilacinus* and *Bacillus subtilis* alone and in combination on chickpea. *Fundamental and Applied Nematology* 16 (3): 215 - 218.
- STIRLING, G.R. 1991. Conservation and enhancement of naturally occurring antagonists and the role of organic matter. *In*: Stirling, G.R. (eds). *Biological Control of Plant Parasitic Nematodes*. Wallingford, UK. CAB International pp: 166 - 185.
- STIRLING, G., NICOL, J. y REAY, F. 2002. Advisory services for nematode pest: Operational guidelines. Kingston, Australia. Report. Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC). 99: 119 p.
- SOUTHEY, J. 1978. Plant nematology. 3<sup>a</sup> ed. London, England. Ministry of agriculture, Fisheries and Food. 440 p.
- SUAREZ, Z. y ROSALES, L. 2004. Problemas hematológicos en musáceas. (On line) Revista digital CENIAP HOY. Maracay, Aragua, Venezuela. <[http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/suarez\\_z/arti/suarez.html](http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/suarez_z/arti/suarez.html)> (20 may 09).
- TABA, S., SAWADA, J. y MOROMIZATO, Z. 2008. Nematicidal activity of Okinawa Island plants on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) chitwood. *Plant Soil* 303: 207 - 216.
- TARJAN, A.C. y CHEO, P.C. 1956. Nematicidal value of some fatty acids. Rhode Island, Kingston, USA. University of Rhode Island. Agricultural Experiment Station. 332: 41 p.
- TAYLOR, A.L. y SASSER, J.N. 1978. Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). Department of Plant Pathology, North

- Carolina State University and U.S. Agency for International Development. Raleigh, North Carolina, USA. North Carolina State University Graphics. 111 p.
- TAYLOR, A.L. y SASSER, J.N. 1983. Biología, Identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (Especies de *Meloidogyne*). Proyecto Internacional de *Meloidogyne*. Departamento de Fitopatología de la Universidad del Estado de Carolina del Norte y Agencia de Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (eds.) Raleigh. Artes Gráficas de la Universidad del Estado de Carolina del Norte. 111 p.
- TORRES, A.M., RICCIARDI, G.A.L., AGRELO, A.R., RICCIARDI, A.I.A. y BANDONI, A. 2003. Examen del contenido en ascaridol del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (FACENA). Universidad Nacional del Nordeste (UNNE). Corrientes, Argentina. 19: 27 - 32.
- TRUDGILL, D.L. 1995. An assessment of the relevance of thermal time relationships to nematology. *Fundamental and Applied Nematology* 18: 407 - 417.
- TRUDGILL, D.L. y PERRY, T.N. 1994. Thermal time and ecological strategies: a unifying hypothesis. *Annals of Applied Biology* 125: 521 - 532.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). 2003. Types of pesticides? (On line) <<http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm>> (10 mar. 2008).
- VANACLOCHA, B. y CAÑIGUERAL, S. 2003. Fitoterapia: Vademécum de prescripción. Madrid, España. Elsevier. 1092 p.
- VAN DER PUTTEN, W.H., COOK, R., COSTA, S., DAVIES, K.G., FARGETTE, M., FREITAS, H., HOL, W.H.G., KERRY, B.R., MAHER, N., MATEILLE, T., MOENS, M., DE LA PEÑA, E., PISKIEWICZ, A.M., RAEYMAEKERS, A.D.W., RODRIGUEZ-ECHEBERRIA, S. y VAN DER WURFF, W.G. 2006. Nematode interactions in nature: Models for sustainable control of nematode pest of crops plants. *Advances in Agronomy* 89: 227 - 260.
- VIAENE, N. y ABAWI, G.S. 1998. Management of *Meloidogyne hapla* on lettuce in organic soil with sudangrass as cover crop. *Plant Disease* 82: 945 - 952.

- VIGLIERCHIO, D.R. y WU, F.F. 1989. Selected biological inhibitors for *Heterodera schachtii* control. *Nematropica* 19: 75 - 79.
- VOKOU, D., VARELTZIDOU, S. y KATINAKIS, P. 1993. Effects of aromatic plants on potato storage: Sprout suppression and antimicrobial activity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 47: 223 - 235.
- WALKER, J. y MELIN, J. 1996. *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. Supplement to *Journal of Nematology* 28 (4S): 629 - 635.
- WALTERS, S.A., WEHNER, T.C. y BARKER, K.R. 1992. Effects of root decay on the relationship between *Meloidogyne spp.* gall index and egg mass number in cucumber and horned cucumber. Supplement to *Journal of Nematology* 24 (4S): 707 - 711.
- WESEMAEL, W.M.L., PERRY, R.N. Y MOENS, M. 2006. The influence of root diffusate and host age on hatching of the root-knot nematodes, *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Nematology* 8 (6): 895 - 902.
- WHITEHEAD, A.G. 1997. Plant-parasitic nematodes: their importance and control. In: Whitehead, A.G. (eds). *Plant Nematode Control*. Wallingford, UK. CAB International 384 p.
- WIDMER, T.L. y ABAWI, G.S. 2000. Mechanism of suppression of *Meloidogyne hapla* and its damage by a green manure of Sudan grass. *Plant Disease* 84: 562 - 568.
- WIJESEKERA, R.O. 1991. *The Medicinal plant industry*. Boca Raton, FL, USA. CRC. 269 p.
- ZENG, R.S., MALLIK, A.U. y LUO, S.M. 2008. *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York. Springer Science. 411 p.
- ZOBEL, A.M. y BROWN, S.A. 1991. Psoralens in senescing leaves of *Ruta graveolens*. *Journal of Chemical Ecology* 17 (9): 1801 - 1810.

## 7 ANEXOS

### ANEXO 1 Desarrollo del peso fresco aéreo y radicular de plantas de lechuga en respuesta a la incorporación de extractos acuosos de tres especies aromáticas.

| Tratamiento    |        | Peso fresco aéreo<br>(g) | Peso fresco radicular<br>(g) |
|----------------|--------|--------------------------|------------------------------|
| Especie        | Tejido |                          |                              |
| Testigo (agua) |        | 7,27 ± 4,56 a            | 1,08 ± 0,61 a                |
| Menta          | Fresco | 3,04 ± 1,35 a            | 0,42 ± 0,22 a                |
| Menta          | Seco   | 2,95 ± 2,52 a            | 0,31 ± 0,27 a                |
| Ruda           | Fresco | 7,60 ± 5,64 a            | 0,88 ± 0,72 a                |
| Ruda           | Seco   | 11,56 ± 3,95 a           | 1,42 ± 0,50 a                |
| Paico          | Fresco | 5,26 ± 5,07 a            | 0,81 ± 0,68 a                |
| Paico          | Seco   | 7,66 ± 6,67 a            | 1,30 ± 1,25 a                |

\*Los valores corresponden al promedio de 5 repeticiones.

\*Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey,  $p \leq 0,05$ .

### ANEXO 2 Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco aéreo de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos.

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Media cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|------|--------|
| Inter grupos | 248,731              | 6  | 41,4551          | 1,86 | 0,1257 |
| Intra grupos | 578,589              | 26 | 22,2534          |      |        |
| Total        | 829,320              | 32 |                  |      |        |

### ANEXO 3 Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco radicular de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos.

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Media cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|------|--------|
| Inter grupos | 4,66435              | 6  | 0,777391         | 1,55 | 0,2021 |
| Intra grupos | 13,0509              | 26 | 0,501956         |      |        |
| Total        | 17,7152              | 32 |                  |      |        |



**ANEXO 4      Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco planta (hoja y raíz) de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Média<br>cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|---------------------|------|--------|
| Inter grupos | 316,39               | 6  | 52,7311             | 1,83 | 0,1328 |
| Intra grupos | 750,52               | 26 | 28,8662             |      |        |
| Total        | 1066,91              | 32 |                     |      |        |

**ANEXO 5      Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso seco aéreo de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Média cuadrática | F      | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|--------|--------|
| Inter grupos | 0,3166               | 6  | 0,0528           | 2,2100 | 0,0742 |
| Intra grupos | 0,6205               | 26 | 0,2386           |        |        |
| Total        | 0,9371               | 32 |                  |        |        |

**ANEXO 6      Análisis de varianza (ANDEVA) para la longitud radicular de plantas de lechuga por efecto de los extractos acuosos.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Média cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|------|--------|
| Inter grupos | 185,41               | 6  | 30,90            | 1,85 | 0,1277 |
| Intra grupos | 433,71               | 26 | 16,68            |      |        |
| Total        | 619,12               | 32 |                  |      |        |

**ANEXO 7      Efecto del tiempo de exposición del inóculo (24 h y 48 h) en el peso fresco aéreo y radicular de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.).**

| Tratamiento    | Peso fresco aéreo<br>(g) | Peso fresco radicular<br>(g) |
|----------------|--------------------------|------------------------------|
| Testigo (agua) | 7,27 ± 4,56 a            | 1,08 ± 0,61 a                |
| 24 horas       | 8,96 ± 5,36 a            | 2,03 ± 1,05 a                |
| 48 horas       | 8,12 ± 5,27 a            | 1,57 ± 1,05 a                |

\* Los valores corresponden al promedio de 120 repeticiones (testigo presenta 5 repeticiones).

\* Valores dentro de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo al test de Tukey,  $p \leq 0,05$ .

**ANEXO 8      Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco aéreo de plantas de lechuga por efecto del tiempo de interacción del inóculo.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Media cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|------|--------|
| Inter grupos | 16,10                | 2  | 8,0481           | 0,29 | 0,7491 |
| Intra grupos | 1412,58              | 51 | 27,6977          |      |        |
| Total        | 1428,68              | 53 |                  |      |        |

**ANEXO 9      Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco radicular de plantas de lechuga por efecto del tiempo de interacción del inóculo.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Media cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|------|--------|
| Inter grupos | 4,9801               | 2  | 2,4901           | 2,40 | 0,1011 |
| Intra grupos | 52,9734              | 51 | 1,0387           |      |        |
| Total        | 57,9535              | 53 |                  |      |        |

**ANEXO 10      Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso fresco total de plantas de lechuga (hojas y raíz) por efecto del tiempo de interacción del inóculo.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Média cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|------|--------|
| Inter grupos | 38,98                | 2  | 19,4893          | 0,52 | 0,6001 |
| Intra grupos | 1926,76              | 51 | 37,7795          |      |        |
| Total        | 1965,73              | 53 |                  |      |        |

**ANEXO 11      Análisis de varianza (ANDEVA) para el peso seco aéreo de plantas de lechuga por efecto del tiempo de interacción del inóculo.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Media cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|------|--------|
| Inter grupos | 0,0234               | 2  | 0,0117232        | 0,25 | 0,7787 |
| Intra grupos | 2,3789               | 51 | 0,0466446        |      |        |
| Total        | 2,4023               | 53 |                  |      |        |

**ANEXO 12      Análisis de varianza (ANDEVA) para la longitud radicular de plantas de lechuga por efecto del tiempo de interacción del inóculo.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl | Media cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------|----------------------|----|------------------|------|--------|
| Inter grupos | 22,78                | 2  | 11,3888          | 0,97 | 0,3864 |
| Intra grupos | 599,50               | 51 | 11,7548          |      |        |
| Total        | 622,28               | 53 |                  |      |        |

**ANEXO 13** Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para el índice A, en el estudio del número de agallas radicales de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) respuesta a la infestación de *Meloidogyne hapla* expuesto por dos períodos (24 y 48 horas) a tres extractos de especies aromáticas (*Mentha x piperita*, *Chenopodium ambrosioides* y *Ruta graveolens*).

| Tratamiento            | Exposición (hrs) | N  | Suma de rangos | Promedio de rangos |
|------------------------|------------------|----|----------------|--------------------|
| Testigo (agua+inóculo) | 24               | 5  | 925,00         | 185,00             |
| Menta                  | 24               | 38 | 6108,01        | 160,74             |
| Paico                  | 24               | 30 | 3669,00        | 122,30             |
| Ruda                   | 24               | 36 | 4577,51        | 127,15             |
| Testigo (agua+inóculo) | 48               | 5  | 703,00         | 140,60             |
| Menta                  | 48               | 37 | 3122,00        | 84,38              |
| Paico                  | 48               | 32 | 2415,00        | 75,47              |
| Ruda                   | 48               | 33 | 1916,50        | 58,08              |

**ANEXO 14** Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice A (indicador del número de agallas) y el factor tiempo de exposición a las especies aromáticas.

| Combinaciones                       |              | Diferencia teórica | Diferencia observada |
|-------------------------------------|--------------|--------------------|----------------------|
| Testigo<br>(agua+inóculo) 24<br>hrs | Menta 48 hrs | 93,02              | 100,62               |
|                                     | Paico 48 hrs | 93,88              | 109,53               |
|                                     | Ruda 48 hrs  | 93,69              | 126,92               |
| Menta 24 hrs                        | Menta 48 hrs | 45,09              | 76,36                |
|                                     | Paico 48 hrs | 46,84              | 85,27                |
|                                     | Ruda 48 hrs  | 46,45              | 102,66               |
| Paico 24 hrs                        | Ruda 48 hrs  | 53,80              | 64,22                |
| Ruda 24 hrs                         | Ruda 48 hrs  | 51,40              | 69,07                |

\* NOTA: Sólo se incluyen los contrastes con diferencias estadísticas significativas,  $p < 0,05$ .

**ANEXO 15** Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para el índice B, en el estudio del porcentaje de raíces con agallas en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) respuesta a la infestación de *Meloidogyne hapla* expuesto por dos períodos (24 y 48 horas) a tres extractos de especies aromáticas (*Mentha x piperita*, *Chenopodium ambrosioides* y *Ruta graveolens*).

| Tratamiento            | Exposición (hrs) | N  | Suma de rangos | Promedio de rangos |
|------------------------|------------------|----|----------------|--------------------|
| Testigo (agua+inóculo) | 24               | 5  | 937,00         | 187,40             |
| Menta                  | 24               | 38 | 5977,02        | 157,29             |
| Paico                  | 24               | 30 | 3846,60        | 128,22             |
| Ruda                   | 24               | 36 | 4650,84        | 129,19             |
| Testigo (agua+inóculo) | 48               | 5  | 798,00         | 159,60             |
| Menta                  | 48               | 37 | 2937,43        | 79,39              |
| Paico                  | 48               | 32 | 2269,44        | 70,92              |
| Ruda                   | 48               | 33 | 2019,60        | 61,20              |

**ANEXO 16** Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice B (indicador del número de agallas) y el factor tiempo de exposición a las especies aromáticas.

| Combinaciones                    |              | Diferencia teórica | Diferencia observada |
|----------------------------------|--------------|--------------------|----------------------|
| Testigo (agua+inóculo)<br>24 hrs | Menta 48 hrs | 93,02              | 108,01               |
|                                  | Paico 48 hrs | 93,88              | 116,48               |
|                                  | Ruda 48 hrs  | 93,69              | 126,20               |
| Testigo (agua+inóculo)<br>48 hrs | Ruda 48 hrs  | 93,69              | 98,40                |
| Menta 24 hrs                     | Menta 48 hrs | 45,09              | 77,90                |
|                                  | Paico 48 hrs | 46,84              | 86,37                |
|                                  | Ruda 48 hrs  | 46,45              | 96,09                |
| Paico 24 hrs                     | Menta 48 hrs | 47,96              | 48,83                |
|                                  | Paico 48 hrs | 54,20              | 57,30                |
|                                  | Ruda 48 hrs  | 53,80              | 67,02                |
| Ruda 24 hrs                      | Menta 48 hrs | 45,70              | 49,80                |
|                                  | Paico 48 hrs | 51,81              | 58,27                |
|                                  | Ruda 48 hrs  | 51,40              | 67,99                |

\* NOTA: Sólo se incluyen los contrastes con diferencias estadísticas significativas,  $p < 0,05$ .

**ANEXO 17**      **Análisis de varianza (ANDEVA) para los huevos y juveniles generados en raíces de lechuga efecto de exponer *Meloidogyne hapla* por dos tiempos a tres especies aromáticas.**

|              | Suma de<br>cuadrados | gl  | Média cuadrática | F   | Sig.   |
|--------------|----------------------|-----|------------------|-----|--------|
| Inter grupos | 72482,80             | 7   | 10354,70         | 127 | 0,2655 |
| Intra grupos | 1692920,00           | 208 | 8139,06          |     |        |
| Total        | 1765410,00           | 215 |                  |     |        |

**ANEXO 18**      **Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice A o número de agallas radiculares en plantas de lechuga, respuesta a la infestación de *Meloidogyne hapla* expuesto a tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y a dos tejidos foliares.**

| Tratamiento    |        | N  | Suma de rangos | Promedio de rangos |
|----------------|--------|----|----------------|--------------------|
| Testigo        |        | 5  | 454,50         | 90,90              |
| Especie        | Menta  | 37 | 2175,50        | 58,80              |
|                | Paico  | 33 | 1469,00        | 44,52              |
|                | Ruda   | 32 | 1679,00        | 52,47              |
| Concentración  | 25     | 25 | 1783,00        | 71,32              |
|                | 50     | 25 | 1616,00        | 64,64              |
|                | 75     | 27 | 1126,50        | 41,72              |
|                | 100    | 25 | 798,00         | 31,92              |
| Tipo de tejido | Fresco | 50 | 2859,00        | 57,18              |
|                | Seco   | 52 | 2464,50        | 47,39              |

**ANEXO 19**      **Resumen de los resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice A (indicador del número de agallas) y los factores independientes especie aromática, concentración y tipo de tejido.**

| Combinaciones      |                    | Diferencia teórica | Diferencia observada |
|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Testigo            | Paico              | 39,30              | 46,38                |
|                    | Tejido seco        | 34,78              | 43,51                |
|                    | Concentración 75%  | 42,41              | 49,18                |
|                    | Concentración 100% | 42,67              | 58,98                |
| Concentración 75%  | Concentración 25%  | 24,18              | 29,60                |
|                    | Concentración 50%  | 24,18              | 22,92                |
| Concentración 100% | Concentración 25%  | 24,64              | 39,40                |
|                    | Concentración 50%  | 24,64              | 32,72                |

\* NOTA: Sólo se incluyen los contrastes con diferencias estadísticas significativas,  $p < 0,05$ .

**ANEXO 20 Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice B o porcentaje de raíces con agallas en plantas de lechuga, respuesta a la infestación de *Meloidogyne hapla* expuesto a tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y a dos tejidos foliares.**

| Tratamiento    |        | N  | Suma de rangos | Promedio de rangos |
|----------------|--------|----|----------------|--------------------|
| Testigo        |        | 5  | 490,50         | 98,10              |
| Especie        | Menta  | 37 | 2104,00        | 56,86              |
|                | Paico  | 33 | 1505,00        | 45,61              |
|                | Ruda   | 32 | 1678,50        | 52,45              |
| Concentración  | 25     | 25 | 1739,00        | 69,56              |
|                | 50     | 25 | 1583,00        | 63,32              |
|                | 75     | 27 | 1030,00        | 38,15              |
|                | 100    | 25 | 935,50         | 37,42              |
| Tipo de tejido | Fresco | 50 | 2896,00        | 57,92              |
|                | Seco   | 52 | 2391,48        | 45,99              |

**ANEXO 21 Resumen de los resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice B (indicador del porcentaje de raíces con agallas) y los factores independientes especie aromática, concentración y tipo de tejido.**

| Combinaciones      |                    | Diferencia teórica | Diferencia observada |
|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Testigo            | Menta              | 39,01              | 41,24                |
|                    | Paico              | 39,30              | 52,49                |
|                    | Ruda               | 39,37              | 45,65                |
|                    | Tejido fresco      | 34,85              | 40,18                |
|                    | Tejido seco        | 34,78              | 52,11                |
|                    | Concentración 75%  | 42,41              | 59,95                |
|                    | Concentración 100% | 42,67              | 60,68                |
| Concentración 75%  | Concentración 25%  | 24,18              | 31,41                |
|                    | Concentración 50%  | 24,18              | 25,17                |
| Concentración 100% | Concentración 25%  | 24,64              | 32,14                |
|                    | Concentración 50%  | 24,64              | 25,90                |

\* NOTA: Sólo se incluyen los contrastes con diferencias estadísticas significativas,  $p < 0,05$ .

**ANEXO 22**      **Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice A o número de agallas radicales en plantas de lechuga, respuesta a la infestación de *Meloidogyne hapla* expuesto a la interacción de tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y dos tejidos foliares.**

| Tratamiento            |                    |                   | N | Suma de rangos | Promedio de rangos |
|------------------------|--------------------|-------------------|---|----------------|--------------------|
| Especie                | Concen-<br>tración | Tipo de<br>tejido |   |                |                    |
| Testigo (agua+inóculo) |                    |                   | 5 | 454,50         | 90,90              |
| Menta                  | 25                 | Fresco            | 4 | 172,00         | 43,00              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 498,00         | 99,60              |
|                        | 50                 | Fresco            | 5 | 348,00         | 69,60              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 408,50         | 81,70              |
|                        | 75                 | Fresco            | 5 | 131,50         | 26,30              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 211,00         | 42,20              |
|                        | 100                | Fresco            | 5 | 348,00         | 69,60              |
|                        |                    | Seco              | 3 | 58,50          | 19,50              |
| Ruda                   | 25                 | Fresco            | 5 | 371,00         | 74,20              |
|                        |                    | Seco              | 3 | 195,00         | 65,00              |
|                        | 50                 | Fresco            | 3 | 112,50         | 37,50              |
|                        |                    | Seco              | 4 | 306,00         | 76,50              |
|                        | 75                 | Fresco            | 4 | 149,00         | 37,25              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 160,00         | 32,00              |
|                        | 100                | Fresco            | 4 | 44,00          | 11,00              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 131,50         | 26,30              |
| Paico                  | 25                 | Fresco            | 4 | 372,50         | 93,13              |
|                        |                    | Seco              | 4 | 174,50         | 43,63              |
|                        | 50                 | Fresco            | 4 | 320,50         | 80,13              |
|                        |                    | Seco              | 4 | 120,50         | 30,13              |
|                        | 75                 | Fresco            | 4 | 329,00         | 82,25              |
|                        |                    | Seco              | 4 | 146,00         | 36,50              |
|                        | 100                | Fresco            | 3 | 161,00         | 53,67              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 55,00          | 11,00              |

**ANEXO 23 Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice A (indicador del número de agallas) y la interacción de los factores especie, concentración y tipo de tejido.**

| Combinaciones       |                        | Diferencia teórica | Diferencia observada |
|---------------------|------------------------|--------------------|----------------------|
| Ruda fresca<br>100% | Testigo (agua+inóculo) | 78,37              | 79,90                |
|                     | Menta seca 25%         | 78,37              | 88,60                |
| Paico seco<br>100%  | Testigo (agua+inóculo) | 73,89              | 79,90                |
|                     | Menta seca 25%         | 73,89              | 88,60                |
|                     | Paico fresco 25%       | 78,37              | 82,13                |

\* NOTA: Sólo se incluyen los contrastes con diferencias estadísticas significativas,  $p < 0,05$ .

**ANEXO 24 Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice B o porcentaje de agallas radicales en plantas de lechuga, respuesta a la infestación de *Meloidogyne hapla* expuesto a la interacción de tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y dos tejidos foliares.**

| Tratamiento            |                    |                   | N | Suma de rangos | Promedio de rangos |
|------------------------|--------------------|-------------------|---|----------------|--------------------|
| Especie                | Concen-<br>tración | Tipo de<br>tejido |   |                |                    |
| Testigo (agua+inóculo) |                    |                   | 5 | 490,50         | 98,10              |
| Menta                  | 25                 | Fresco            | 4 | 212,50         | 53,13              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 457,50         | 91,50              |
|                        | 50                 | Fresco            | 5 | 313,50         | 62,70              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 364,50         | 72,90              |
|                        | 75                 | Fresco            | 5 | 155,00         | 31,00              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 155,00         | 31,00              |
|                        | 100                | Fresco            | 5 | 360,00         | 72,00              |
|                        |                    | Seco              | 3 | 86,00          | 28,67              |
| Ruda                   | 25                 | Fresco            | 5 | 383,50         | 76,70              |
|                        |                    | Seco              | 3 | 181,50         | 60,50              |
|                        | 50                 | Fresco            | 3 | 121,00         | 40,33              |
|                        |                    | Seco              | 4 | 312,50         | 78,13              |
|                        | 75                 | Fresco            | 4 | 138,00         | 34,50              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 145,50         | 29,10              |
|                        | 100                | Fresco            | 4 | 68,00          | 17,00              |
|                        |                    | Seco              | 5 | 155,00         | 31,00              |



**ANEXO 24 Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis, para el índice B o porcentaje de agallas radicales en plantas de lechuga, respuesta a la infestación de *Meloidogyne hapla* expuesto a la interacción de tres especies aromáticas, cuatro concentraciones y dos tejidos foliares.**

| Tratamiento |                    |                   | N | Suma de rangos | Promedio de rangos |
|-------------|--------------------|-------------------|---|----------------|--------------------|
| Especie     | Concen-<br>tración | Tipo de<br>tejido |   |                |                    |
| Paico       | 25                 | Fresco            | 4 | 366,00         | 91,50              |
|             |                    | Seco              | 4 | 138,00         | 34,50              |
|             | 50                 | Fresco            | 4 | 298,50         | 74,63              |
|             |                    | Seco              | 4 | 173,00         | 43,25              |
|             | 75                 | Fresco            | 4 | 298,50         | 74,63              |
|             |                    | Seco              | 4 | 138,00         | 34,50              |
|             | 100                | Fresco            | 3 | 181,50         | 60,50              |
|             |                    | Seco              | 5 | 85,00          | 17,00              |

**ANEXO 25 Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de DUNN'S, para la variable dependiente índice B (indicador del número de agallas) y la interacción de los factores especie, concentración y tipo de tejido.**

| Combinaciones             |                  | Diferencia teórica | Diferencia observada |
|---------------------------|------------------|--------------------|----------------------|
| Testigo<br>(agua+inóculo) | Ruda fresca 100% | 78,37              | 81,10                |
|                           | Paico seco 100%  | 73,89              | 81,10                |

\* NOTA: Sólo se incluyen los contrastes con diferencias estadísticas significativas,  $p < 0,05$ .

**ANEXO 26 Análisis de varianza (ANDEVA) con interacción de factores para los huevos y juveniles generados en raíces de lechuga efecto de exponer *Meloidogyne hapla* a tres especies aromáticas, cuatro concentración y dos tejidos foliares.**

|                    | Suma de<br>cuadrados | gl  | Media cuadrática | F    | Sig.   |
|--------------------|----------------------|-----|------------------|------|--------|
| Especie (A)        | 20432,0              | 2   | 10216,0          | 1,50 | 0,2288 |
| Concentración (B)  | 36409,0              | 4   | 9102,2           | 1,33 | 0,2627 |
| Tipo de tejido (C) | 15172,2              | 1   | 15172,2          | 2,22 | 0,1391 |
| A x B              | 33878,3              | 8   | 4234,8           | 0,62 | 0,7590 |
| A x C              | 19263,3              | 2   | 9631,6           | 1,41 | 0,2486 |
| B x C              | 22144,1              | 4   | 5536,0           | 0,81 | 0,5210 |
| A x B x C          | 71115,8              | 8   | 8889,5           | 1,30 | 0,2509 |
| Error              | 696323,0             | 102 | 6826,7           |      |        |
| Total              | 929022,0             | 131 |                  |      |        |

**ANEXO 27      Resumen de los huevos y juveniles generados en raíces de lechuga efecto de exponer *Meloidogyne hapla* a la interacción de las especies aromáticas, las concentraciones y los tejidos foliares.**

| Interacción          |                       | Propágulos (Huevos y juveniles) |
|----------------------|-----------------------|---------------------------------|
| <i>Especie</i>       | <i>Concentración</i>  |                                 |
| Menta                | 0 %                   | 105,20                          |
|                      | 25 %                  | 115,00                          |
|                      | 50 %                  | 72,00                           |
|                      | 75 %                  | 102,00                          |
|                      | 100 %                 | 52,00                           |
| Paico                | 0 %                   | 105,20                          |
|                      | 25 %                  | 50,00                           |
|                      | 50 %                  | 52,50                           |
|                      | 75 %                  | 22,50                           |
|                      | 100 %                 | 64,00                           |
| Ruda                 | 0 %                   | 105,20                          |
|                      | 25 %                  | 65,33                           |
|                      | 50 %                  | 82,50                           |
|                      | 75 %                  | 86,50                           |
|                      | 100 %                 | 54,00                           |
| <i>Especie</i>       | <i>Tipo de tejido</i> |                                 |
| Menta                | Fresco                | 62,24                           |
|                      | Seco                  | 116,24                          |
| Paico                | Fresco                | 61,04                           |
|                      | Seco                  | 56,64                           |
| Ruda                 | Fresco                | 70,84                           |
|                      | Seco                  | 86,57                           |
| <i>Concentración</i> | <i>Tipo de tejido</i> |                                 |
| 0 %                  | Fresco                | 105,20                          |
|                      | Seco                  | 105,20                          |
| 25 %                 | Fresco                | 59,67                           |
|                      | Seco                  | 93,89                           |
| 50 %                 | Fresco                | 59,00                           |
|                      | Seco                  | 79,00                           |
| 75 %                 | Fresco                | 38,33                           |
|                      | Seco                  | 102,33                          |
| 100 %                | Fresco                | 61,33                           |
|                      | Seco                  | 52,00                           |