



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Agrarias

Escuela de Agronomía

Efecto de extractos acuosos de compost y del follaje de árboles nativos en la eclosión de juveniles de *Globodera rostochiensis*.

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

Joaquín Alonso
Beltrán Arriagada

Valdivia – Chile

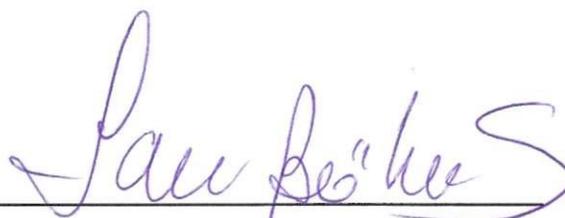
2016

PROFESOR PATROCINANTE:



Erika Briceño Ponce
Ing. Agr. Dr. Cs. Agr.
Instituto Producción y Sanidad Vegetal

PROFESOR INFORMANTE:



Laura Böhm Stoffel
Ing. Agr.
Instituto Producción y Sanidad Vegetal

PROFESOR INFORMANTE:



Anita Behn
Ing. Agr. Dr.
Instituto Producción y Sanidad Vegetal

AGRADECIMIENTOS

En el camino hacia el objetivo de ser un Ingeniero Agrónomo hubo grandes personas las cuales no siempre sabiendo contribuyeron enormemente a mi crecimiento y desarrollo como estudiante.

Agradecer a mis padres que me permitieron estudiar y se aseguraron de que nunca me faltase nada, a mis abuelos que me brindaron todo el apoyo incondicional a mis hermanos Gonzalo y Rodrigo fuente de motivación, Elia Asencio que, aunque no presente de forma física siempre lo estuvo de forma emocional.

En este camino encontré importantes personas, entre ellas Paulina Salvo la que me brinda apoyo y empuje desde el año 2014 en mi toma de decisiones. Compañeros de curso, mis amigos Álvaro Reyes, Nikolaz Heinz, Marcos Maldonado, grandes historias y momentos junto a ellos, grandes personas.

Agradecer a Herman Doussoulin por la ayuda brindada en el trabajo de datos y su excelente disposición. Agradecer a mi profesora patrocinante Erika Briceño y a las profesoras informantes Laura Böhm y Anita Behn por preocuparse de hacerme sentir como en casa en todo momento. A los funcionarios del laboratorio, Don Ramón, Don Víctor, a la Tante Sylvia Oettinger por estar siempre disponibles y dispuestos.

Muchas Gracias.

ÍNDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
	RESUMEN	1
	SUMMARY	2
1	INTRODUCCIÓN	3
1.1	<i>Globodera rostochiensis</i>	3
1.1.1	Biología y ciclo de vida	3
1.1.2	Control	5
1.2	Control biológico y uso de antagonistas	7
1.3	Uso de especies vegetales para el control de nemátodos	7
1.3.1	<i>Laurelia sempervirens</i>	8
1.3.2	<i>Drimys winteri</i>	9
1.4	Té de compost y sus aplicaciones	9
2	MATERIAL Y MÉTODO	12
2.1	Ubicación del ensayo	12
2.2	Material utilizado	12
2.2.1	Material biológico	12
2.2.2	Material de laboratorio	12
2.3	Metodología	13

2.3.1	Obtención de extractos acuosos de tejido seco	13
2.3.2	Obtención de exudado radical de papa	13
2.3.3	Obtención de quistes y conteo de juveniles	13
2.3.4	Obtención de té de compost	13
2.4	Experimento	14
2.5	Evaluaciones	14
2.5.1	Conteo de juveniles eclosionados	14
2.5.2	Contenido remanente de quistes	15
2.6	Duración del ensayo	15
2.7	Diseño experimental	15
2.8	Procesamiento de los datos obtenidos	16
3	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	17
3.1	Efecto de extracto acuoso de canelo sobre la eclosión de J2 de <i>G. rostochiensis</i>	20
3.2	Efecto de extracto acuoso de laurel sobre la eclosión de J2 de <i>G. rostochiensis</i>	23
3.3	Efecto de extracto acuoso de compost (té de compost) sobre la eclosión de J2 de <i>G. rostochiensis</i>	26
3.4	Efecto de la concentración y el exudado radical de papa sobre la eclosión de J2 de <i>G. rostochiensis</i>	29
4	CONCLUSIONES	31
5	BIBLIOGRAFÍA	32

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Análisis de varianza de los datos de eclosión final (%) de J2 de <i>G. rostochiensis</i> .	17

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Hembras adultas de <i>G.rostochiensis</i> (izquierda) y quiste abierto con numerosos huevos (derecha).	5
2	Comparación entre planta infestada (derecha) y planta libre de nematodo dorado (izquierda).	6
3	Esquema de la disposición de quistes de <i>Globodera rostochiensis</i> en vasos de 20 mL en los que se aplicaron los extractos de plantas nativas y té de compost.	15
4	Dinámica de eclosión porcentual semanal de J2 de <i>G. rostochiensis</i> en presencia o ausencia de exudado radical de papa.	18
5	Eclosión porcentual en relación al total de J2 de <i>G. rostochiensis</i> por tratamientos.	19
6	Eclosión semanal de J2 de <i>G. rostochiensis</i> respecto del total en presencia de extracto acuoso de canelo.	20
7	Porcentaje de eclosión de J2 respecto del total en presencia de extracto acuoso de canelo.	21
8	Efecto de la concentración de extracto base de canelo en el porcentaje final de eclosión de J2.	22
9	Eclosión semanal de J2 de <i>G. rostochiensis</i> respecto del total en presencia de extracto acuoso laurel.	23
10	Porcentaje de eclosión de J2 respecto del total en presencia de extracto acuoso de laurel.	24

11	Efecto de la concentración de extracto base de laurel en el porcentaje final de eclosión de J2.	25
12	Eclosión semanal de J2 de <i>G. rostochiensis</i> respecto del total en presencia de té de compost.	26
13	Porcentaje de eclosión de J2 respecto del total en presencia de extracto acuoso de compost.	27
14	Efecto de la concentración de extracto base de té de compost en el porcentaje final de eclosión de J2.	28
15	Interacción entre concentración de extractos y presencia/ausencia de exudado radical de papa y su efecto sobre el promedio de eclosión de J2 de <i>G. rostochiensis</i> .	29

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	<i>Drimys winteri</i> (canelo).	38
2	<i>Laurelia sempervirens</i> (laurel).	38
3	Compost Vitta Fert Té® Rosario S.A.	39
4	Preparación de té de compost en biorreactor Earthforth de 20L.	40
5	Tukey para factores de exudado y concentración.	40
6	Efecto de la concentración sobre la eclosión en J2 de <i>G. rostochiensis</i> .	41

RESUMEN

El nemátodo dorado, *G. rostochiensis*, es considerado la principal plaga del cultivo de papa a nivel mundial. Esto se debe a su particular capacidad de permanecer viable alrededor de 20 años en el suelo y ser el responsable de pérdidas productivas de hasta 60%. Estas pérdidas más los costos elevados del manejo de infestaciones, la poca especificidad de nematicidas y los problemas asociados a la aplicación (toxicidad, persistencia y contaminantes de agua y suelo), hacen que la creación de nuevas alternativas de control resulten todo un desafío para el sector agrícola. En la búsqueda de alternativas más sustentables y menos dañinas para el manejo de plagas, se han reportado numerosas especies de plantas que producen compuestos nematicidas, las que se denominan plantas antagónicas a los nemátodos. Estas plantas han desarrollado de forma natural un amplio rango de elementos defensivos, ya sea porque contienen o forman durante su descomposición compuestos nematicidas o nemoestáticos. Esta investigación buscó establecer el efecto *in vitro* del extracto acuoso de follaje seco de dos especies arbóreas, *Drymis winteri* J.R Foster y *Laurelia sempervirens*(Ruiz & Pav.) Tul y de extracto acuoso de compost sobre la eclosión de J2 de *Globodera rostochiensis* a partir de quistes del nemátodo dispuestos en minitamicos. Cada extracto fue evaluado a: 0% (control), 10% y 50%, aplicados en conjunto con exudado radical de papa y en tratamientos reemplazando el exudado radical de papa por agua. El ensayo se mantuvo por 10 semanas recuperando cada siete días los J2 formados y renovando al mismo tiempo la suspensión de cada tratamiento. Los resultados indicaron que, de los tres extractos, té de compost fue el único que logró disminuir la eclosión de J2 al ser contrastado con los testigos, tanto a 10% como a 50% de concentración. El extracto acuoso de laurel al igual que canelo en presencia de ERP estimularon la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*.

La interacción entre la concentración y la presencia-ausencia de exudado radical de papa mostró diferencias significativas solo entre el testigo sin exudado radical y los demás tratamientos.

SUMMARY

The golden nematode, *G. rostochiensis* is considered the main potato pest worldwide. This is due to its ability to remain viable for more than 20 years in the soil and to be the responsible of productive losses of up to 60%. Losses in the production, high costs of control, lack of specific nematicides and problems made by traditional control methods (which are toxic, persistent and shows water and soil contaminants) lead to look for new control alternatives that challenge the agricultural sector. Therefore, the challenge is to look for sustainable and less harmful alternatives in the pest management methods. Reports showed many species of plants and botanical varieties that produce nematicide compounds and are called antagonistic plants to the nematodes. Naturally, these plants have developed a wide range of defensive elements due to exudation of nematicide or nemostatic compounds. The present research looks to establish an aqueous extract effect from dried foliage from two tree species: *Drymis wintery* J.R Foster and *Laurelia sempervirens* (Ruiz&Pav.) Tul and a compost tea treatment on the hatching of J2 of *Globodera rostochiensis*. These extracts were evaluated at three concentrations: 0%(control), 10% and 50%, and two conditions, with and without potato radical exudate. Counts were made each seven days during 10 weeks and results were checked compared with to the negative control. Results showed that compost tea made decrease the hatching of J2 when contrasted with negative control at a concentration of 10% and 50%. The exudate of *L. sempervirens* and *D. wintery* in presence of potato root exudate stimulated the hatching of J2. The interaction between concentration and presence/absence of potato radical exudates showed important differences only at 0%(control) without a potato radical exudate and the other treatments.

1. INTRODUCCIÓN

El nemátodo dorado *Globodera rostochiensis*(Woll), considerado como la principal plaga del cultivo de papa, es originario de las montañas andinas y actualmente se encuentra presente en la mayoría de las regiones productoras de este cultivo a nivel mundial (Jatala y Bridge 1990).

En Chile, hasta el año 2012 *G. rostochiensis* estaba presente desde la Región de Arica y Parinacota hasta la Región del Bío-Bío, sin embargo, en la actualidad el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) ha detectado su presencia en sectores puntuales de las regiones de Los Ríos y Los Lagos, redefiniendo la zona cuarentenaria (Chile, Servicio Agrícola y Ganadero, SAG, 2013).

1.1 *Globodera rostochiensis*

G. rostochiensis infesta a especies solanáceas, principalmente papa y en menor medida tomate y berenjena (Brodie, 1996). Este nemátodo parasita raíces y tubérculos causando reducción del crecimiento y retardo en el desarrollo del cultivo(Elston *et al.*, 1991), pudiendo reducir el rendimiento hasta en más de 60% (Banks *et al.*, 2012).

Corresponde a un endoparásito sedentario que exhibe un marcado dimorfismo sexual (Brodie, 1984), es decir, que existen diferencias evidentes en la fisionomía externa, como color, forma y tamaño entre hembras y machos (Brodie, 1996). Estas diferencias se manifiestan en el estado adulto, cuando al morir la hembra, su cutícula comienza a cambiar de color blanco, a amarillo dorado, y café oscuro. Este cambio de color ocurre por la alteración de varias capas de células cuticulares, las cuales se van endureciendo y de esta manera transformando a la hembra en un quiste resistente a condiciones desfavorables, el cual contiene en su interior 300 o más huevos (Franco, 1986, Bittner *et al.*, 2009).

1.1.1 Biología y ciclo de vida. Esta especie de nemátodo presenta una estrecha sincronía con el ciclo biológico de su hospedero, ya que los juveniles infestivos requieren exudados radicales de papa u otras solanáceas específicas para conseguir el eclosionar de los huevos e infestar las raíces, ocurriendo de esta manera sólo un ciclo biológico por temporada de cultivo (Perry, 1986; Desgarenes *et al.*, 2006).

El ciclo parasítico comienza cuando el segundo estado juvenil (J2) emerge de los huevos y penetra las raíces del hospedero bajo el estímulo de exudados de raíces de papa (Jatala y Bridge, 1990). La formación del estado parásito de J2 en el huevo ocurre por cambios en la permeabilidad de la cutícula de éste último, gatillado por exudados radicales de papa; ello permite a los juveniles dentro del huevo, absorber suficiente agua e iniciar su metabolismo, eclosionando al pinchar con su estilete en forma reiterativa la cutícula del huevo y emergiendo del quiste por sus aberturas naturales, es decir, vulva y cuello (Desgranes *et al.*, 2006).

Una vez en el suelo los J2 son atraídos a las raíces del hospedero e ingresan al sector apical de éstas, migrando intracelularmente hasta llegar al sistema vascular donde inyectan con su estilete, en las células que rodean su cabeza, una secreción de proteínas del tipo lipasas pectínicas, poligalactouronasas y expansinas promoviendo la formación del sincitio (Rehman *et al.*, 2009). Éste funciona como un centro de atracción de nutrientes y corresponde a su sitio de alimentación durante todo el ciclo parasitario (Jatala y Bridge, 1990).

A medida que se alimenta el nemátodo va incrementando su tamaño y pasando por mudas cuticulares hasta llegar al estado adulto. En el tercer estadio, definirán su sexo en función de la cantidad de alimento y población (Franco, 1986). Éste mismo indica que al finalizar la fase de juvenil IV, las hembras se volverán globosas, mientras que los machos abandonarán la raíz y conservarán su forma alargada para buscar una hembra y aparearse (Franco, 1986).

Cada hembra puede poner entre 300 a 400 huevos los que permanecen dentro de su cuerpo (Trudgill *et al.*, 2003) sin embargo, otros autores afirman que esta cifra puede llegar a 600 (Franco, 1986). Una vez muerta, la cutícula se endurece, cambia de coloración y se transforma en un quiste el cual se desprende de la raíz y se mantiene en el suelo durante varios años (Devine, 2009).

Los quistes son fácilmente dispersados por movimiento de tubérculos y suelo infestado (Banks *et al.*, 2012) pero también por maquinaria agrícola, escurrimiento de agua y viento. Hodda y Cook (2009) reportan que pueden sobrevivir incluso al tracto digestivo de animales no rumiantes, mientras que otros autores aseguran que el quiste resiste temperaturas de hasta -39°C por períodos cortos (Devine, 2009).



Figura 1. Hembras adultas de *G.rostochiensis* (izquierda) y quiste abierto con numerosos huevos (derecha)

Fuente: Invasive.org (2010)

1.1.2 Control. *G. rostochiensis* ha sido estudiado por más de 40 años, sin embargo, su erradicación ha demostrado ser dificultosa una vez detectado en la zona de cultivo (Minnis *et al.*, 2002). Esto se debe en gran medida a la habilidad de los huevos y juveniles de permanecer viables por más de 20 años protegidos dentro del quiste en ausencia de hospederos (Trudgill *et al.*, 2003). Cuando se detecta una infestación en el suelo, la población de quistes generalmente es alta, pudiendo causar daño considerable al cultivo (Banks *et al.*, 2012; Hodda y Cook, 2009).

En la actualidad, el manejo de infestaciones de esta especie de nemátodo se basa en rotaciones largas con cultivos no hospederos, el uso de variedades resistentes, siembra de semilla certificada y la aplicación de nematicidas químicos (Mugniery *et al.*, 2007; SAG, 2013).

Tanto la rotación de cultivos como la siembra de variedades resistentes permiten atenuar los daños provocados al cultivo, sin embargo, no elimina completamente los quistes del suelo lo que conlleva a que la población se recupere al utilizar una variedad susceptible (Mugniery *et al.*, 2007).

En relación a la aplicación de productos químicos al suelo de cultivo existen factores que hacen variar su efectividad, como son básicamente tipo de suelo, momento de aplicación, dosis empleada y el producto utilizado (Lord *et al.*, 2011).



Figura 2. Planta infestada (derecha) comparada con planta libre de nemátodo dorado (izquierda).

Fuente. Invasive.org (2010)

Además de lo señalado, el uso de nematicidas es actualmente cuestionado debido a efectos adversos en el agro-ecosistema, altos costos y su falta de especificidad hacia *G. rostochiensis* (Soler-Serratos *et al.*, 1996; Chitwood, 2002), es decir, que afectan a todas las especies de nemátodos en el suelo, como son fitoparásitos, nemátodos predadores fungívoros, bacteriófagos u otros (European Food Safety Authority, 2012) sin controlar efectivamente a *G. rostochiensis*.

El uso de enmiendas orgánicas, compost y purines tendría un efecto controlador de poblaciones de nemátodos fitoparásitos. Según Aires *et al.* (2009) esto se debería a la interacción de factores como el mejoramiento de la estructura física, química y fertilidad del suelo facilitando el desarrollo radical de las plantas, y el incremento de microorganismos como hongos y bacterias benéficos.

Debido a lo anteriormente mencionado, es que desde hace años se estudian alternativas de organismos o productos naturales que sean capaces de controlar población de nemátodos y que no afecten al medio ambiente.

1.2 Control biológico y uso de antagonistas.

El control biológico de nemátodos ha sido ampliamente estudiado no siempre con resultados esperados (Chitwood, 2002), puesto que depende fuertemente de la interacción entre la especie de nemátodo y el agente o producto biológico estudiado. Existen algunas cepas de hongos como *Pochonia clamydosporia* y *Paecilomyces lilacinus* que parasitan los huevos de nemátodos, las cuales no eliminan pero sí disminuyen, bajo determinadas condiciones, el nivel de infestación de *Meloidogyne* (Oclarit y Cumagun, 2009), también existiendo reportes de efecto sobre nemátodos del género *Globodera* (Holgado y Magnusson, 2010).

Aires *et al.* (2009) sugieren que cualquier compuesto que se aplique con el fin de controlar nemátodos del quiste en papa, debe utilizarse en el momento en que existen exudados radiculares del hospedero, ya que los juveniles infestivos (J2) se forman en el huevo como respuesta a su presencia y es, el único momento en el ciclo del nemátodo en que se encuentra vulnerable.

1.3 Uso de especies vegetales para el control de nemátodos.

Las plantas, sus productos, sustancias o extractos derivados de éstas han sido estudiados en relación al efecto antagónico hacia insectos, microorganismos patogénicos y nemátodos fitoparásitos; también se han desarrollado pesticidas sintéticos y no sintéticos basados en componentes naturales presentes en plantas, por ejemplo, piretrina y piretroides como insecticidas. Aun cuando varios compuestos con efecto nematocida han sido aislados e identificados desde plantas (Chitwood, 2002), sólo algunos de estos han sido usados para el control de nemátodos en suelos agrícolas en producción comercial.

Las propiedades nematocidas de plantas y sus productos se explican por la presencia de compuestos fitoquímicos en tejidos o formados por su degradación (Chitwood, 2002). Danquah *et al.* (2010) señalan que existen diferencias respecto de los efectos que pueden provocar distintos tejidos de una misma planta, por ejemplo, las raíces de

una especie pueden tener un efecto supresivo sobre poblaciones de nemátodos, mientras que el tejido foliar de ésta puede no afectarlos.

Especies que destacan consistentemente por sus propiedades nematicidas son, *Azadirachta indica* conocido como “neem” (Akhtar y Mahmood, 1996) y diversas especies de los géneros *Tagetes* y *Brassica* (Chitwood, 2002; Danquah *et al.* 2010)

Por otro lado, existen diversas investigaciones que demuestran que la exudación de determinados compuestos químicos originados durante la descomposición de residuos biológicos en el suelo disminuyen las poblaciones de algunas especies de nemátodos en éste. Un ejemplo es la mortalidad de 95% de huevos enquistados de *G. pallida* en presencia de *Brassica juncea* obtenidos por Lord *et al.* (2011), mientras que Valdés *et al.* (2011) observaron que la incorporación al suelo de follaje de *Brassica napus* y *Raphanus sativus* no afectó la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*. Por otra parte, Trifonova y Atanosov (2011) registraron una disminución significativa en la multiplicación de este nemátodo en plantas de papa donde se aplicó como riego una mezcla de aceites de *Azadirachta indica* con extractos de plantas de *Nicotiana tabacum* y *Veratrum album*.

Además, existe una amplia variedad de especies herbáceas que poseen aceites aromáticos con efectos antagónicos hacia nemátodos que afectan animales y plantas destacando entre ellas, menta (*Mentha sp*), orégano (*Oreganum vulgare*), ruda (*Ruta graveolens*) y sésamo (*Sesamum indicum*) entre otras (Walker y Melin, 1996; Fierro, 2009).

1.3.1 *Laurelia sempervirens*. *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tulconocido como laurel, laurel chileno, tihue o trihue, corresponde a una especie arbórea endémica que se extiende desde la zona centro sur a la zona austral de Chile. Sus hojas son simples, enteras, oblongas, coriáceas, de ápice agudo y/o obtuso, con márgenes aserrados, de un largo variable entre 5 a 10 cm y de 2 a 3 cm de ancho, son lisas o glabras y aromáticas especialmente al triturarlas. (Enciclopedia Flora Chilena, 2015).

L. sempervirens presenta una composición química variada en sus hojas y algunos de los compuestos que han sido identificados son 3-careno, α -feladreno y α -pineno terpenos (Bittner *et al.*, 2009).

Por su parte Schmeda-Hirschmann *et al.*(1996), reportaron la presencia de los alcaloides lauretanina y isotetrandrina en sus hojas, mientras que Neira *et al.* (2004) aislaron derivados de safrol y eugenol. Es importante destacar que safrol es el mayor ingrediente activo en el control de hongos fitopatógenos(Bittner *et al.*, 2009).

La presencia de hojas de *L. sempervirens* tiene un efecto alelopático en el nemátodo de las agallas *Meloidogyne hapla*, logrando reducir significativamente la formación de propágulos en suelo, sin embargo, se desconoce el compuesto químico específico responsable de este efecto(Böhm *et al.*, 2009).

1.3.2 *Drimys winteri*. *Drimys winteri* (J.R. et G. Forster) conocido comúnmente como canelo es una especie de hábito arbóreo perteneciente a la familia Winterácea. Este árbol es nativo de la zona centro sur y extremo sur de Chile. Sus hojas son de margen entero, bordes planos, pueden ser lisas o glabras, coriáceas (al doblarlas suenan y se quiebran) y/o ni coriáceas ni suculentas, no son pegajosas y no poseen espinas. Esta especie se usa con fines medicinales, la corteza y hojas se usan para combatir el escorbuto, la sarna, para limpiar heridas y cicatrizar úlceras (Enciclopedia Flora Chilena, 2015).

D. winteri presenta una composición química variada en sus hojas. Algunos de esos compuestos han sido aislados e identificados, entre los que destacan aceites esenciales como el ascáride, pineno, limoneno y eugenol, además de taninos y flavonoides (Montes y Wikomirsky, 1985; Muñoz-Concha *et al.*, 2004).

Extractos obtenidos a partir de sus hojas han sido usados efectivamente en el control de insectos (Torres *et al.*, 2004), y derivados de ascaridol han mostrado actividad nematicida hacia *Aphelenchoides besseyi* y *Meloidogyne incognita* (Yen *et al.*, 2007).

1.4 Té de compost y sus aplicaciones.

El té de compost es un extracto acuoso, fermentado y aireado que se obtiene de la fracción hidrosoluble del compost. Este contiene una gran cantidad de compuestos orgánicos como azúcares, vitaminas, aminoácidos, ácidos orgánicos además de microorganismos (Martínez, 2009), los cuales se sabe son transferidos desde el compost hacia el té de compost(Ohio State University, OSU, 2007). Este té es una herramienta emergente en la agricultura orgánica y tradicional, en especial por su acción en el control enfermedades vegetales.

El compost puede fabricarse a partir de materia orgánica de distintas procedencias. Durante su elaboración algunos materiales liberan compuestos tóxicos para los nemátodos como son: fenoles, taninos, azaridactina, ricina (Mian y Rodríguez-Kabana, 1982; Rossner y Zebits, 1987; Rich *et al.*, 1989) o derivados del proceso de descomposición en el suelo como amonio, nitritos y sulfuro de hidrógeno y otros no tóxicos (Mian y Rodríguez-Kabana, 1982).

Estudios realizados por la Universidad de Ohio (OSU, 2007) indican que el té de compost tendría efecto supresor sobre poblaciones de hongos como *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Plectosporium* y *Verticillium*, nemátodos del género *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Globodera* (Renčo *et al.*, 2011), como también sobre algunos artrópodos. Por el contrario, existen estudios como el de Kimpinski *et al.* (2003), en el cual no se encontró reducción de la población de *Meloidogyne* en papa después de aplicar compost en terreno, pero sí se registró un incremento en el rendimiento del cultivo. Esta diferencia en los resultados se debe en gran medida a que existen factores como la madurez final del compost, el proceso de fabricación y la materia orgánica originaria del compost, que hacen variar la efectividad y composición de éste (Renčo *et al.*, 2011).

Existen reportes de que la aplicación de compost enriquecido con poblaciones microbianas como *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma virens* puede reducir enfermedades que afecten el cultivo de la papa tanto en invernadero y en terreno (Brewer y Larkin, 2005).

En base a lo anteriormente planteado y en vista de la complejidad del control y manejo de *G. rostochiensis* se postula que la aplicación de té de compost, así como extractos acuosos de *Laurelia sempervirens* y *Drimys winteri* generan un efecto nematicida y/o nemostático sobre la eclosión de J2 desde quistes de *Globodera rostochiensis* en ensayos *in vitro*.

La presente investigación tuvo como objetivo principal evaluar el efecto de extractos acuosos de compost, canelo (*Drimys winteri*) y laurel chileno (*Laurelia sempervirens*) en la eclosión de juvenil II (J2) de *Globodera rostochiensis*.

Los objetivos específicos son:

-Establecer el efecto de extracto acuoso de follaje seco de canelo en la eclosión de juveniles II de *G. rostochiensis*.

-Establecer el efecto de extracto acuoso de follaje seco de laurel chileno en la eclosión de juveniles II de *G.rostochiensis*.

-Establecer el efecto del té de compost en la eclosión de juveniles II de *G. rostochiensis*.

-Comparar el efecto *in vitro* de diferentes concentraciones de extracto acuoso de compost, canelo y laurel por separado en la eclosión de juveniles II de *G. rostochiensis*.

2. MATERIAL Y MÉTODO

Esta investigación consistió, en sus aspectos generales, en conocer si los extractos acuosos de dos especies vegetales nativas y un té de compost por separado eran capaces de generar un efecto nematológico o nemostático sobre quistes de *Globodera rostochiensis* en condiciones *in vitro*.

2.1 Ubicación del ensayo

Se realizó en el laboratorio de Nematología, del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agrarias en la Universidad Austral de Chile (Campus Isla Teja, Valdivia).

2.2 Material utilizado

A continuación, se detalla el material biológico y de laboratorio que se utilizó en el ensayo.

2.2.1 Material biológico. Se utilizó como planta indicadora una planta de papa de la variedad “Desireé”, susceptible a *G. rostochiensis* (Kumar y Forrest, 1990) de la cual se obtuvo el exudado radical.

Se evaluaron extractos acuosos del follaje seco de *Drimys winteri*(canelo) (Anexo 1) y *Laurelia sempervirens*(laurel chileno) (Anexo 2), recolectadas durante el mes de abril de 2014 en el sector Teja Norte, en el Arboretum de la Universidad Austral de Chile.

Para la elaboración de té de compost, se utilizó la base del té de compost comercial Vitta Fert Té® enriquecido con Vitta feed®, perteneciente a la empresa RosarioS.A. (Anexo 3).

Los quistes de *G. rostochiensis* fueron obtenidos en el Laboratorio de Nematología del Servicio Agrícola y Ganadero, Osorno, Región de los Lagos.

2.2.2 Material de laboratorio. Se utilizaron diversos materiales fungibles de laboratorio destacando entre éstos microtamices, vasos de 20 mL, placa de recuento nematológico, contador digital, probetas, pipetas, pisetas, matraces Erlenmeyer, papel

Whatmann N°1, lupa estereoscópica Nikon (x40), molinillo eléctrico y biorreactor Earthfort® de 20 L para té de compost con bomba eléctrica.

2.3 Metodología

Para la realización de la investigación se debieron llevar a cabo los siguientes procedimientos previos al experimento principal.

2.3.1 Obtención de extractos acuosos de tejido seco. Los extractos acuosos de laurel y canelo, se prepararon con hojas lavadas y secadas a temperatura ambiente, posteriormente trituradas en un molinillo eléctrico para ser almacenadas en frascos de vidrio correctamente rotulados y mantenidos a 7°C y oscuridad hasta su uso. El extracto acuoso de tejido seco(EB) se preparó adoptando protocolos desarrollados por Hidalgo (2008) y Tapia (2009), en ensayos previos. Una vez obtenido el extracto se diluyó con agua destilada estéril hasta una concentración de EB 50 y EB 10% y almacenando a 5°C para ser utilizados en un período no mayor a 7 días; debido a lo anterior se debió repetir el procedimiento las veces necesarias.

2.3.2 Obtención de exudado radical de papa. Para la obtención de exudado radical de papa (ERP), se utilizaron plantas de cv. Desireé siguiendo el protocolo de Turner *et. al.* (2009). El ERP se utilizó antes de cumplirse 24 h post obtención, por lo que fue necesario repetir el procedimiento en varias ocasiones.

2.3.3 Obtención de quistes y conteo de juveniles. Los quistes del nemátodo fueron solicitados directamente al SAG-Región de Los Lagos, se guardaron en placas *Petri* a 7°C donde permanecieron almacenados hasta su uso.

Para estimar el contenido promedio de huevos por quistes, del total de quistes a utilizar se sumó un 10%; estos quistes fueron triturados individualmente sobre una placa de recuento para registrar su contenido y así estimar un promedio de nemátodos y/o huevos por quiste en forma previa al ensayo.

2.3.4 Obtención de té de compost. La obtención del té de compost fue a partir de compost adquirido comercialmente bajo el nombre de Vitta Fert Té® enriquecido con Vitta feed®, de la empresa Rosario S.A. Cabe destacar que Vitta Fert Té® ofrece compost homogéneo tanto en pH como tamaño de agregado. Para la elaboración de 10 litros de té de compost se utilizaron 300 g de compost más 5 mL del catalizador. El

té de compost fue fabricado semanalmente. Este proceso se llevó a cabo en un biorreactor Earthfort® de 20 L (Anexo 4) bajo condiciones de agitación y aireación constante durante 24 horas. Una vez listo el té de compost fue almacenado refrigerado durante no más de 24h hasta su uso.

2.4 Experimento

Se evaluó el efecto de los extractos acuosos de canelo, laurel y de té de compost, a concentraciones (0%(testigo), 10% y 50% EB) sobre 10 quistes de *G. rostochiensis* por repetición, con y sin exudado radical de papa. Se consideraron dos testigos, uno constó de quistes más exudado radical de papa(0% EB)y otro que solo tuvo quistes más agua destilada. Se realizaron seis repeticiones para cada uno de los tratamientos.

Los tratamientos se dispusieron en un vaso de 20 mL, conteniendo un mini tamiz dentro del cual fueron ubicados los 10 quistes(Figura 3).En cada vaso se incorporaron 10mL de ERP o agua destilada y 5mL de extracto acuoso de canelo, laurel o té de compost en función de los tratamientos explicados anteriormente.

Para disminuir el efecto de diapausa de los quistes, previo inicio de los ensayos éstos se hidrataron en agua destilada durante cuatro días.

El ensayo duró 10 semanas.

Se aplicaron extractos acuosos solo durante las primeras seis semanas, las cuatro semanas siguientes se aplicó solo agua destilada en vez de los extractos.

2.5 Evaluaciones

Semanalmente se evaluó el número de J2 eclosionados en cada tratamiento y repetición, tal como se indica en los puntos siguientes.

El contenido inicial de los quistes fue calculado en base al número total de larvas contadas durante el período experimental más el contenido remanente de los quistes que incluyó huevos destruidos, larvas y huevos llenos.

2.5.1 Cuento de juveniles eclosionados. El conteo de J2 y presentes en la suspensión de cada vaso se realizó cada 7 días durante 10 semanas, para lo cual se dispuso la suspensión en una placa de recuento la que se revisó bajo lupa estereoscópica. Inmediatamente vaciado el contenido del tamiz, se debió rellenar cada

vaso con extracto radical de papa fresco y su correspondiente volumen y concentración de extracto acuoso.

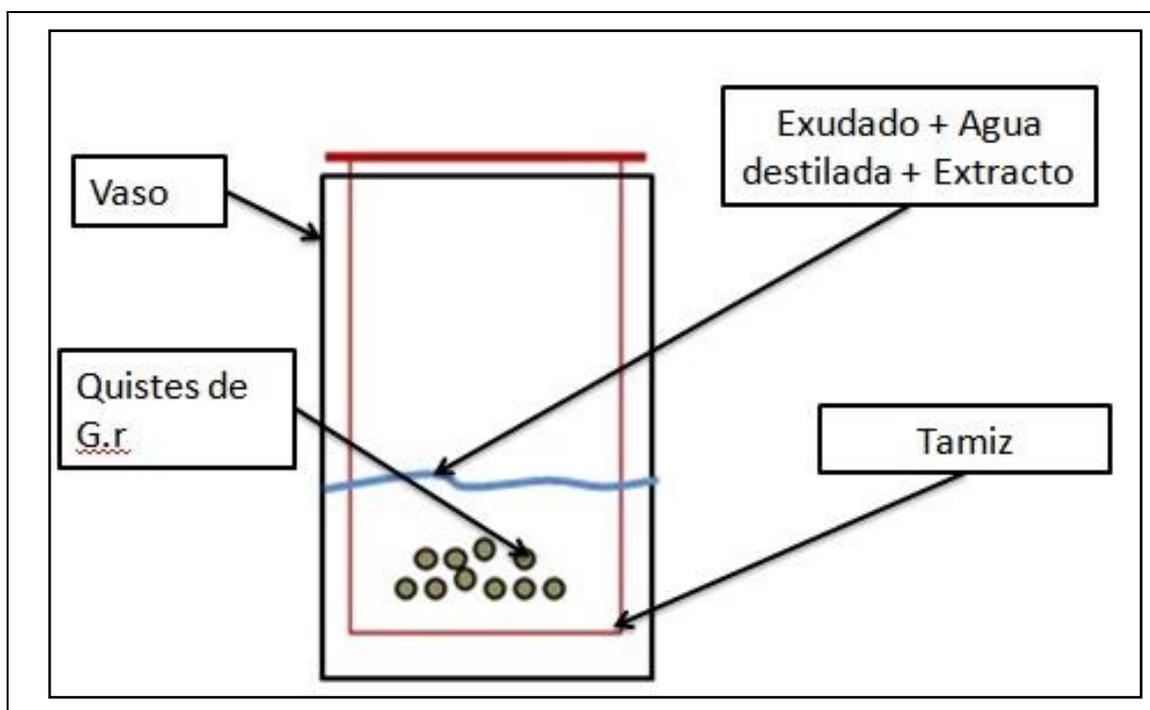


Figura 3. Esquema de la disposición de quistes de *Globodera rostochiensis* en vasos de 20 mL en los que se aplicaron los extractos de plantas nativas y té de compost.

2.5.2 Contenido remanente de quistes. Transcurridas las 10 semanas de recuento se procedió a triturar manualmente los quistes de cada tamiz para contabilizar el contenido de huevos y juveniles remanentes en éstos. De esta forma se estimó el porcentaje de eclosión semanal y total en relación al contenido de cada quiste.

2.6 Duración del ensayo

El ensayo se realizó entre los meses de junio del 2014 a diciembre del 2014.

2.7 Diseño experimental

Se utilizó en este ensayo un diseño completamente al azar con tratamientos en arreglo factorial 2x3x3 de la cual se desprenden, dos condiciones experimentales, con

exudado radical de papa o sin exudado radical de papa y tres extractos acuosos; canelo, laurel y compost, tres concentraciones: 0%, 10% y 50%, lo que generó 18 tratamientos.

2.8 Procesamiento de los datos obtenidos

Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente, estableciendo primeramente su normalidad y homogeneidad, posteriormente aquellos que cumplieron con esta condición fueron sometidos a análisis de varianza y pruebas de significancia. El programa estadístico utilizado para los análisis fue Statistica® Plus 7.

3. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el Cuadro 1 se desprende que los datos de la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* no presentaron normalidad, pero si homogeneidad entre ellos, por lo que se les pudo realizar análisis de varianza (ANDEVA).

Cuadro 1 Análisis de varianza de los datos de eclosión final (%) de J2 de *G. rostochiensis*.

ANDEVA	MS	F	p
Exudado radical de papa (ERP)	2669,578	7,566	0,007
Extracto acuoso	2826,691	8,011	0,001
Concentración de extractos	2717,520	7,702	0,001
ERP * Extracto acuoso	477,831	1,354	0,263
ERP * Concentración	1338,443	3,793	0,026
Extracto acuoso * Concentración	824,455	2,337	0,061
ERP * Extracto acuoso * Concentración	263,411	0,747	0,563
Error	352,837		

El análisis indica que hubo diferencias significativas para ERP (exudado radical de papa), extractos y concentración, así como para la interacción entre exudado y concentración en la eclosión porcentual final de juveniles. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre la interacción de los tres factores simultáneamente ni tampoco en la interacción de los ERP y los extractos acuosos.

La esperada diferencia significativa en la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* en presencia o ausencia de ERP se debe a que éste estimula la eclosión (Desgarenes *et al.*, 2006), ya que esta especie presenta una estrecha relación biotrófica con su hospedero (Kumar y Forrest, 1990). De acuerdo a Ellenby y Perry (1976) el período de exposición mínimo a ERP requerido para iniciar la eclosión es de 24 horas siendo suficiente para que ocurran cambios en la permeabilidad del quiste y comience la imbibición de los huevos.

La dinámica de eclosión en los ensayos realizados se observa en la Figura 4.

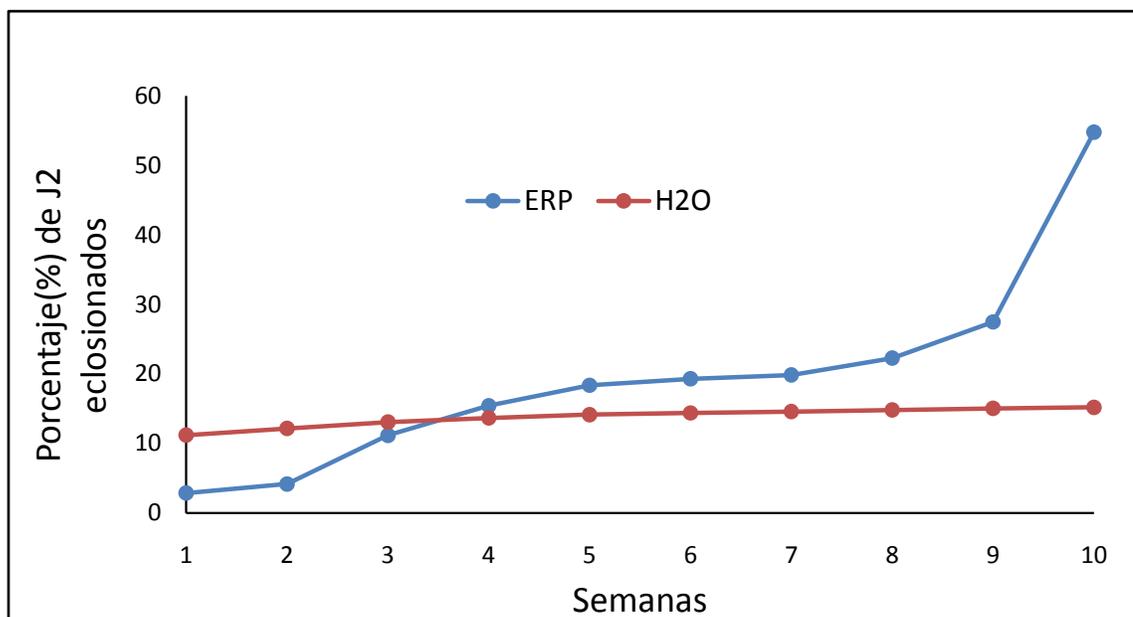


Figura 4. Dinámica de eclosión de J2 de *G. rostochiensis* acumulada porcentual semanal en presencia o ausencia de exudado radical de papa.

Sin embargo, también se observa eclosión espontánea en aquellos tratamientos que no presentaban exudado radical de papa alcanzando aproximadamente un porcentaje de eclosión final acumulada de 10% desde la primera semana y manteniéndose en el tiempo.

Ryan y Devine (2005) observaron un 5% de eclosión espontánea de J2 de *G. rostochiensis* a la quinta semana y hasta un 30% de eclosión espontánea al cabo de 10 semanas en condiciones de campo y en ausencia de plantas huésped. Estos autores señalan que podría deberse a factores bióticos y abióticos como edad de formación de los quistes y temperatura, entre otros, pero aseguran que la complejidad de los factores hace muy difícil establecer los motivos exactos de esta eclosión espontánea. Por otra parte, Turner *et al.* (2009) señalan que existe una estrecha relación entre la temperatura, específicamente grados acumulados por día y la dinámica de población de *G. pallida*, lo que sugeriría que algunos quistes hayan madurado de manera desigual.

En la Figura 5 donde se muestran los valores de eclosión porcentual al término del período experimental, se observan claramente las diferencias entre los testigos con ERP y aquellos con solo agua destilada.

En general, para los tratamientos que incluyen ERP, se notan diferencias de hasta un 16% de eclosión en relación al testigo (0%) cuando la concentración de extracto acuoso era de 50%, mientras que entre los testigos (0%) y 10% de concentración en presencia de ERP las diferencias son menores a 13%.

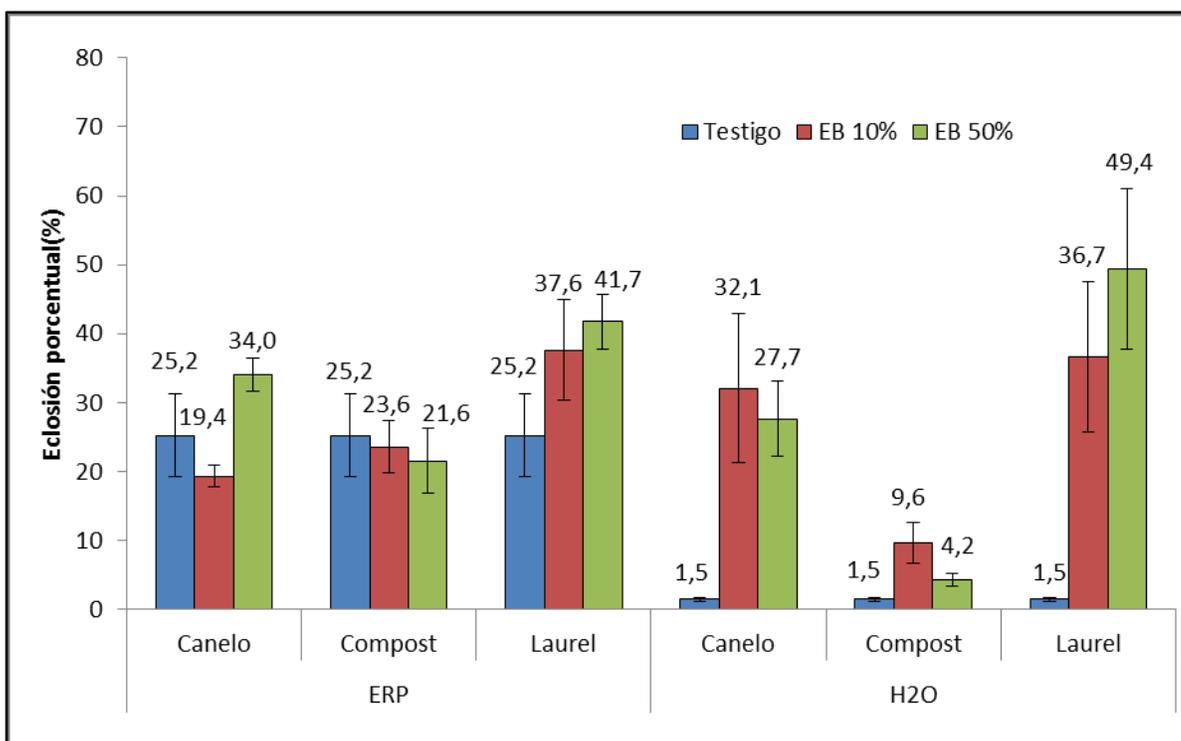


Figura 5. Eclosión porcentual en relación al total de J2 de *G. rostochiensis* por tratamientos A la con presencia de exudado radical de papa y a la derecha en ausencia de este. De azul los tratamientos control(testigo) con ERP(izquierda) y sin ERP(derecha).

En la misma Figura 5 se aprecia que laurel tendió a incrementar la eclosión en presencia y ausencia de ERP

En los tratamientos donde se reemplazó el ERP por agua destilada, se observó diferencias de hasta un 47% de eclosión en relación al testigo para los tratamientos que poseían una concentración de extracto acuoso al 50%, mientras que entre los

testigos (0%) y 10% de concentración se observan diferencias en el caso de compost menores a 9% y de alrededor de un 30% para canelo y 35% en laurel.

Para una revisión más detallada a continuación se mostrará y explicarán las dinámicas de eclosión a lo largo del período experimental para cada extracto acuoso.

3.1 Efecto de extracto acuoso de canelo sobre la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*.

En la Figura 6 se observa que el número de J2 de *G. rostochiensis* en presencia de extracto acuoso de canelo fue mayor durante las primeras 5 semanas, efecto que no se diferenció mayormente en presencia o ausencia de ERP. Cabe señalar que durante el ensayo se aplicó extractos acuosos solamente durante las primeras seis semanas.

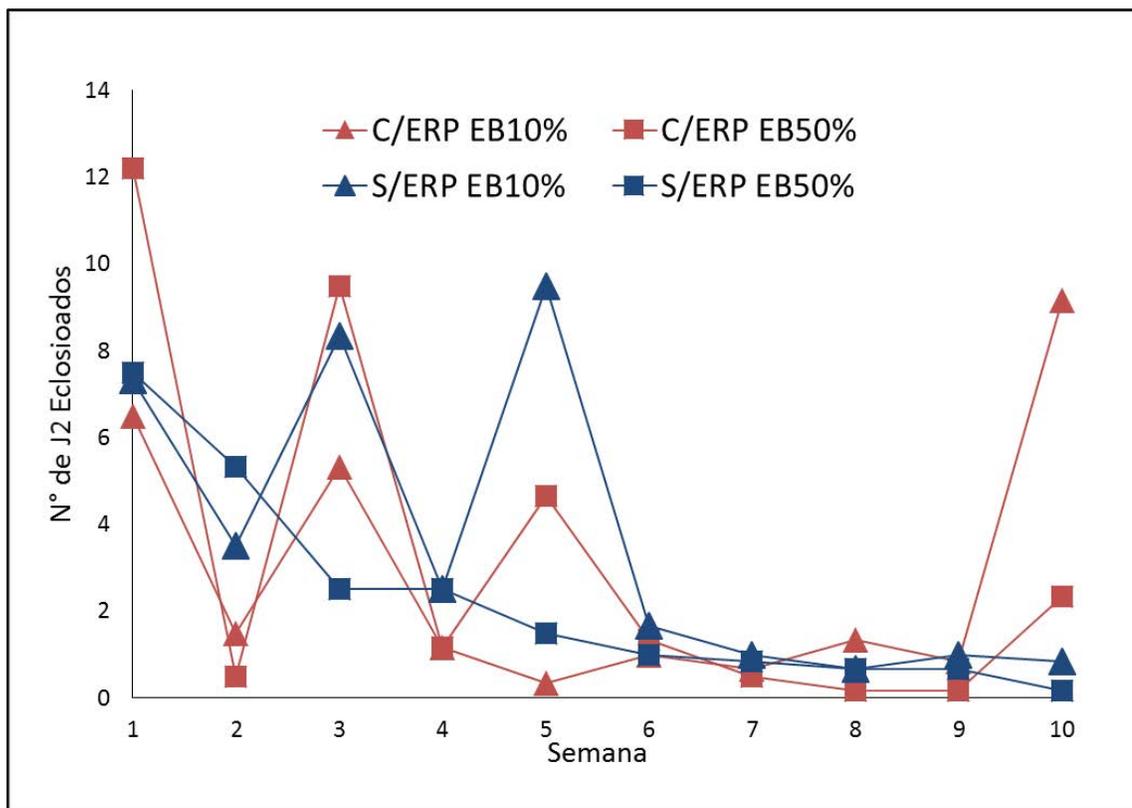


Figura 6. Eclosión semanal de J2 de *G. rostochiensis* respecto del total en presencia de extracto acuosos de canelo.

Según Doncaster y Shepherd (1971) la eclosión de juveniles infestivos de *G. rostochiensis* comienza luego haber expuesto los quistes por tres días a exudado radical de papa, pero también Forrest (1989) explica que muchos de los J2 eclosionan aún sin presencia de ERP debido a que se han formado dentro del huevo antes que muera la hembra y se transforme en un quiste. Cabe resaltar que los quistes utilizados en este ensayo, tenían aproximadamente 12 meses de formados ya que fueron obtenidos por el SAG desde muestras de suelo infestadas colectadas en un potrero en el que no hubo presencia de plantas huéspedes por dos años. Lo anterior puede explicar la eclosión inicial en agua.

Los resultados de este ensayo muestran que el extracto acuoso de canelo estimula la eclosión. Desde la semana 1 a la 5 se observa mayor eclosión la que disminuye a partir de la semana 6 y que coincide con la sustitución de extracto acuoso de canelo por agua destilada.

En la Figura 7 se observa que la aplicación de extracto acuoso de canelo, independiente de la concentración indujo a una mayor eclosión total de J2 en presencia y ausencia de ERP, lo que indicaría una posible interacción positiva, es decir estimulante.

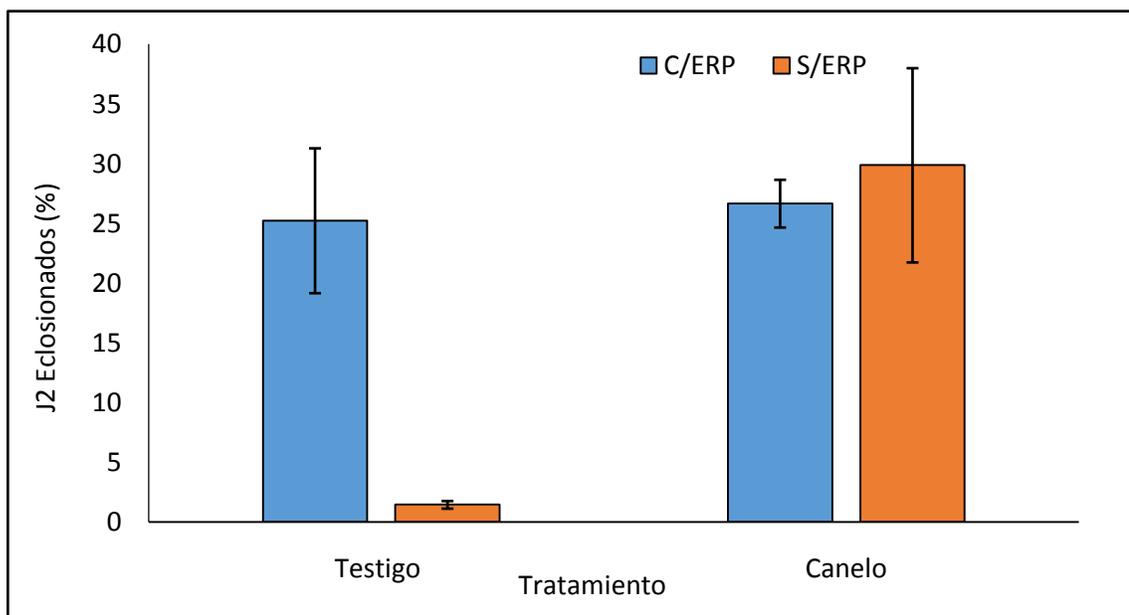


Figura 7. Porcentaje de eclosión de J2 respecto del total en presencia de extracto acuoso de canelo.

Aquellos tratamientos en presencia de extracto acuoso de canelo alcanzaron entre un 25 y 30% de eclosión y tanto en presencia y ausencia de ERP fueron superiores a los testigos correspondientes. Es por esto que se puede decir que, existiendo extracto acuoso de canelo, existe un efecto sinérgico en la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*.

Este efecto sinérgico podría deberse a la presencia de compuestos orgánicos presentes en las hojas de canelo. Clarke y Hennesi (1987) detectaron que la presencia de algunos ácidos orgánicos estimularía la eclosión de J2 en quistes de *G. rostochiensis*. Canelo presenta en su corteza ácidos orgánicos como el fórmico y el acético (Poblete y Roffael, 2004) los que podrían estar presentes también en su follaje.

Al analizar el efecto de la concentración de extracto acuoso de canelo sobre la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* se observa que, en presencia de ERP y a EB10% de canelo hubo un menor porcentaje de eclosión respecto al testigo, mientras que para aquellos tratamientos a EB50% hubo un mayor porcentaje de J2 eclosionados.

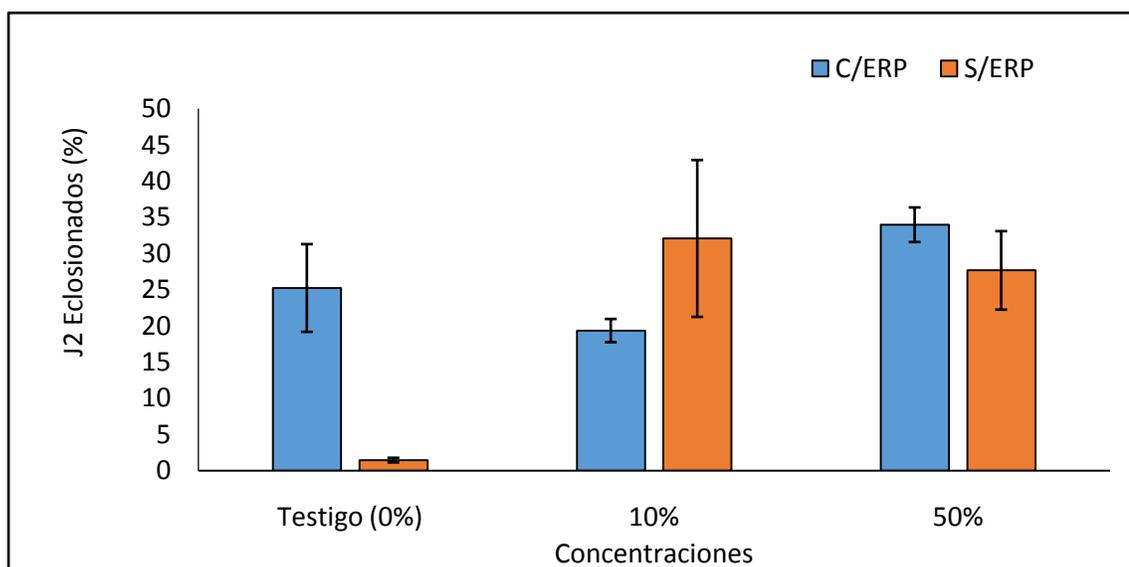


Figura 8. Efecto de la concentración de EB de canelo en el porcentaje final de eclosión de J2.

En ausencia de ERP, aquellos tratamientos expuestos a 10% EB de canelo obtuvieron un mayor porcentaje de J2 eclosionados respecto de su testigo respectivo y del tratamiento a 50% de concentración de extracto acuoso.

3.2 Efecto de extracto acuoso de laurel sobre la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*

En la Figura 9 se observa que la evolución del número de J2 eclosionados por semana no varió de manera considerable (Figura 9).

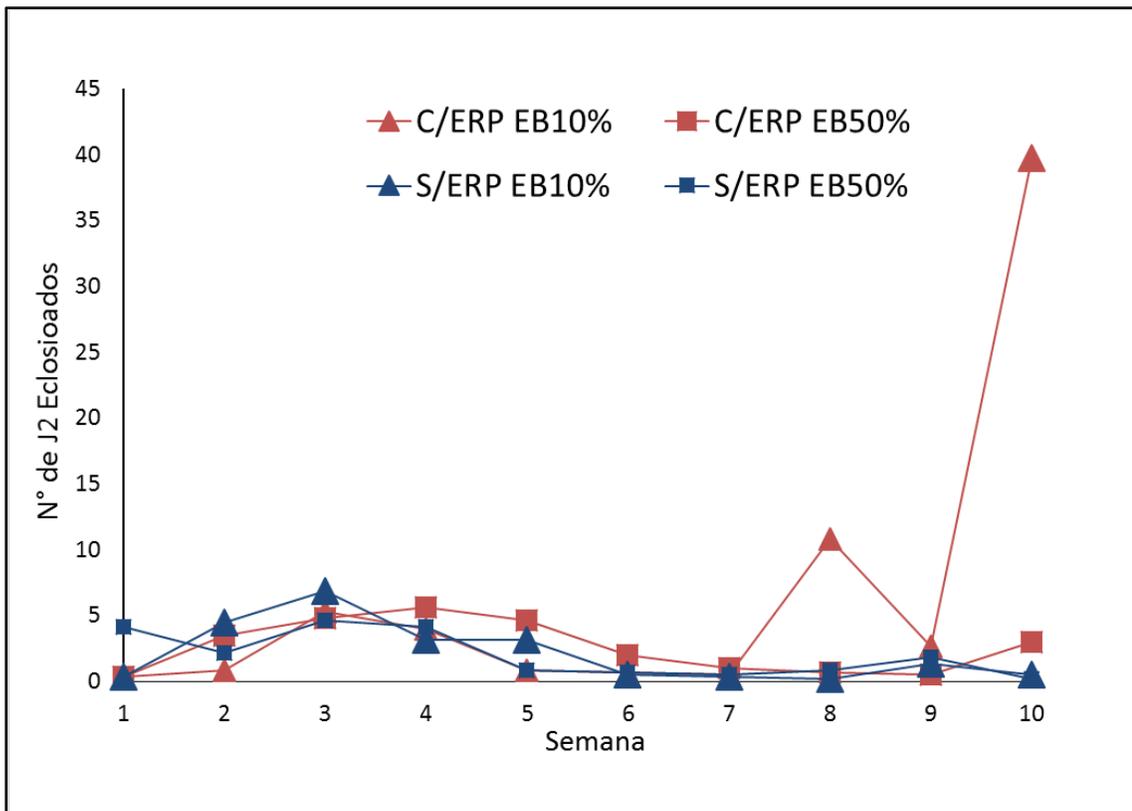


Figura 9. Eclosión semanal de J2 de *G. rostochiensis* respecto del total en presencia de extracto acuoso de laurel

Desde la semana uno a la semana tres se observa un crecimiento en el número de J2 eclosionados y a partir de la semana cuatro un decrecimiento. A partir de la semana seis se nota una disminución en la eclosión lo que coincide con la sustitución de EB de laurel por agua destilada. En la semana ocho y semana diez se observa un “peak” de J2 eclosionados lo que puede deberse a la ruptura retrasada de uno o más quistes.

En relación al porcentaje final (Figura 10) se observa el efecto aislado sobre la eclosión porcentual respecto del total de J2 para aquellos tratamientos en presencia extracto acuoso de laurel.

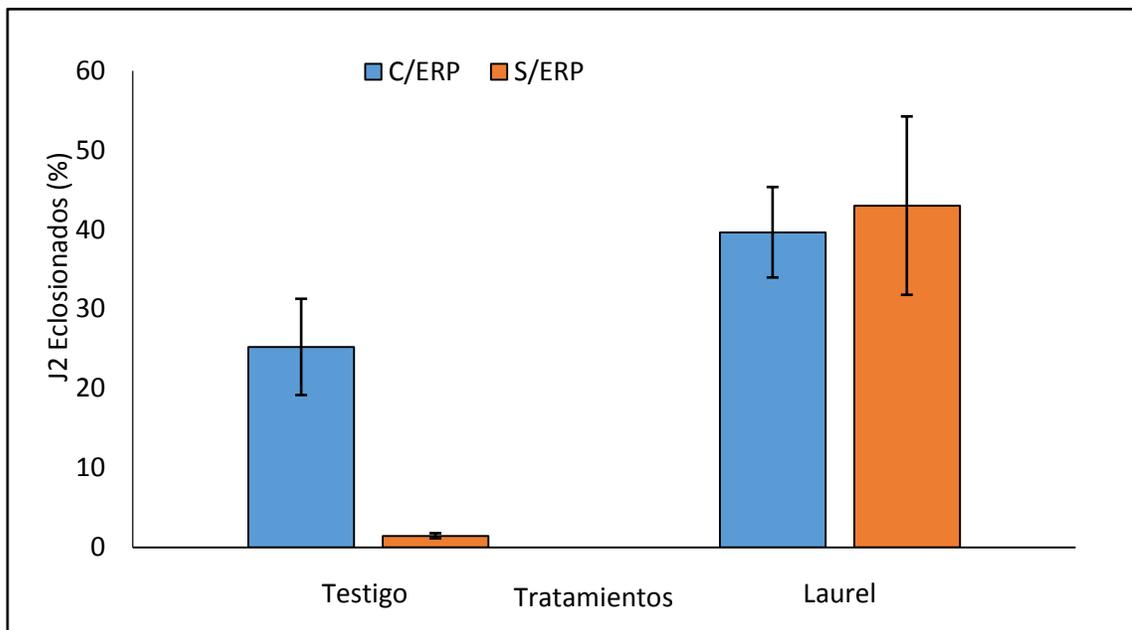


Figura 10. Porcentaje de eclosión de J2 respecto del total en presencia de extracto acuoso de laurel.

Contrastando los testigos con su correspondiente tratamiento, se observa en ambos casos un mayor porcentaje de J2 eclosionados en los tratamientos con presencia de extracto acuoso de laurel. Es por esto que se puede decir que, existiendo extracto acuoso de laurel, tanto en presencia como ausencia de ERP, existe un efecto sinérgico en la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* al ser comparado con su testigo respectivo.

Al analizar el efecto de la concentración de extracto acuoso de laurel sobre la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* se observa que, tanto a 10 y 50% de concentración existió un incremento sobre la eclosión. (Figura 11).

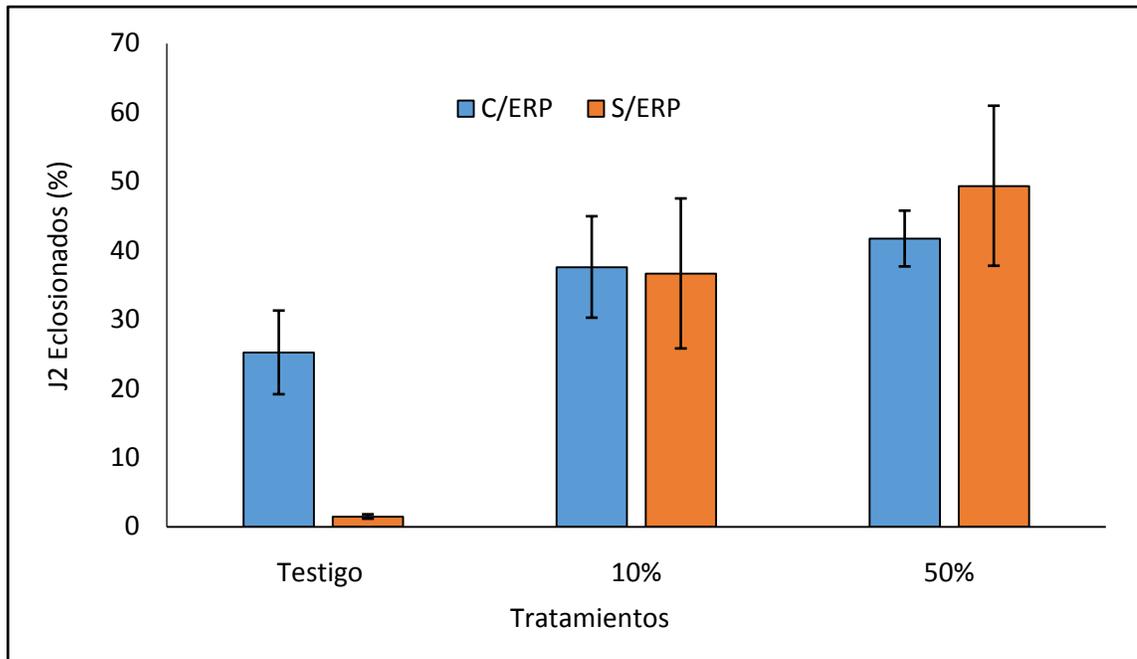


Figura 11. Efecto de la concentración de EB de laurel en el porcentaje final de eclosión de J2.

En ausencia de ERP, se observan diferencias entre el porcentaje de eclosión del testigo y ambas concentraciones, denotando un consistente efecto estimulante. Este efecto podría ser utilizado a favor del manejo de *G. rostochiensis* en suelos infestados. Una de las estrategias de manejo existentes son los cultivos trampa. Estos consisten en estimular la eclosión de J2 con el objetivo de exponerlos en su estadio más susceptible a falta de alimento. Sustituyendo el cultivo trampa por EB de laurel, estimularía la eclosión de J2 desde quistes, exponiendo el nemátodo en su estadio más vulnerable a falta de alimento, reduciendo su población. Estudios realizados por Sorribas y Ornat (2006) demostraron que con el uso de cultivos trampa se puede reducir el inóculo de *G. rostochiensis* en un 48% en suelos infestados, por lo que el uso de EB de laurel podría representar una herramienta eficaz en el control de población del *G. rostochiensis*.

3.3 Efecto de extracto acuoso de compost (té de compost) sobre la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*.

En la siguiente Figura se observa que la aplicación de té de compost no afectó de manera considerable la eclosión de J2 a lo largo del experimento. (Figura 12).

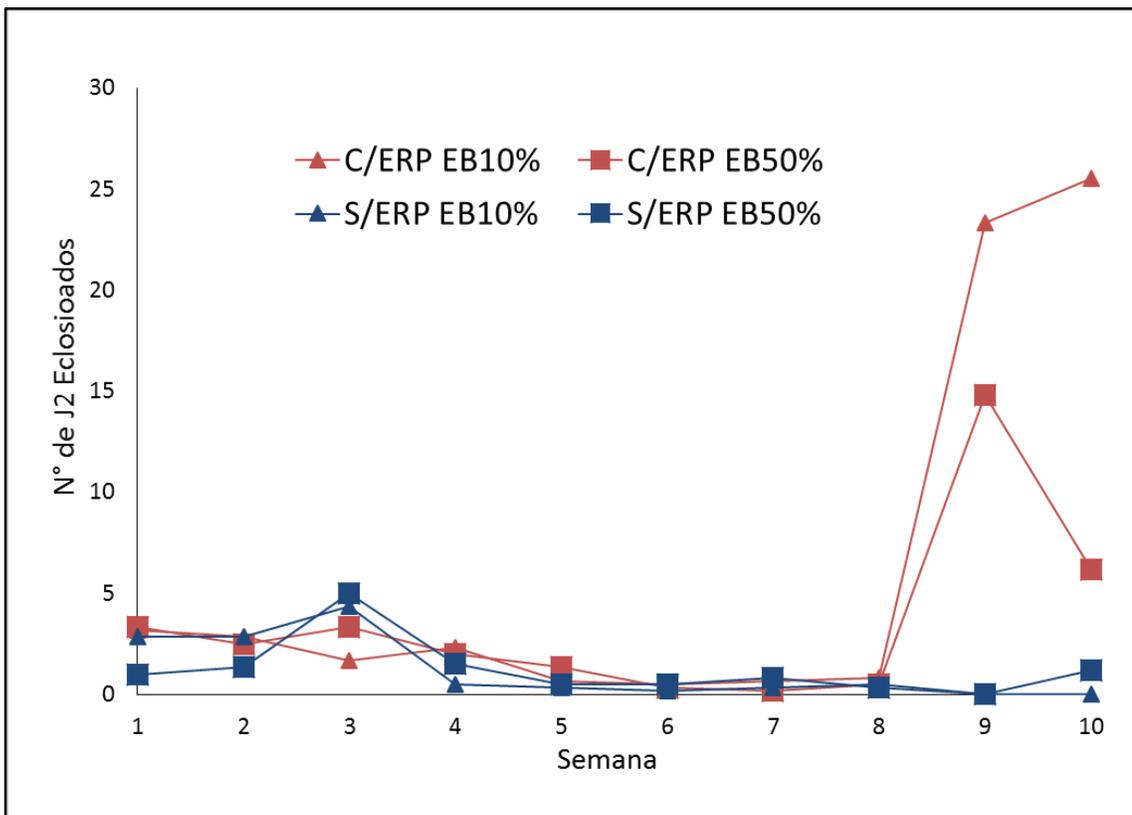


Figura 12. Eclosión semanal de J2 de *G. rostochiensis* respecto del total en presencia de té de compost.

La dinámica de la eclosión a lo largo de las primeras ocho semanas es decreciente. A partir de la semana seis, luego de la sustitución de té de compost por agua destilada, se mantiene una tendencia decreciente en la eclosión hasta la semana 8. Esto podría deberse a un posible efecto residual dado que la descomposición de materia orgánica proveniente del compost y la producción de amoníaco (NH_3) producto de su descomposición, tienen un efecto supresor en la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* (Renčo *et al.*, 2011)

En la semana ocho se observa un “peak” para los tratamientos en presencia de exudado radical de papa, esto puede deberse a la eclosión tardía de quistes lo que

produciría un mayor número de nemátodos en solución o que ya no hay efecto del extracto.

A continuación, se observa el efecto aislado sobre la eclosión porcentual respecto del total de J2 para aquellos tratamientos en presencia de extracto acuoso de compost (Figura 13).

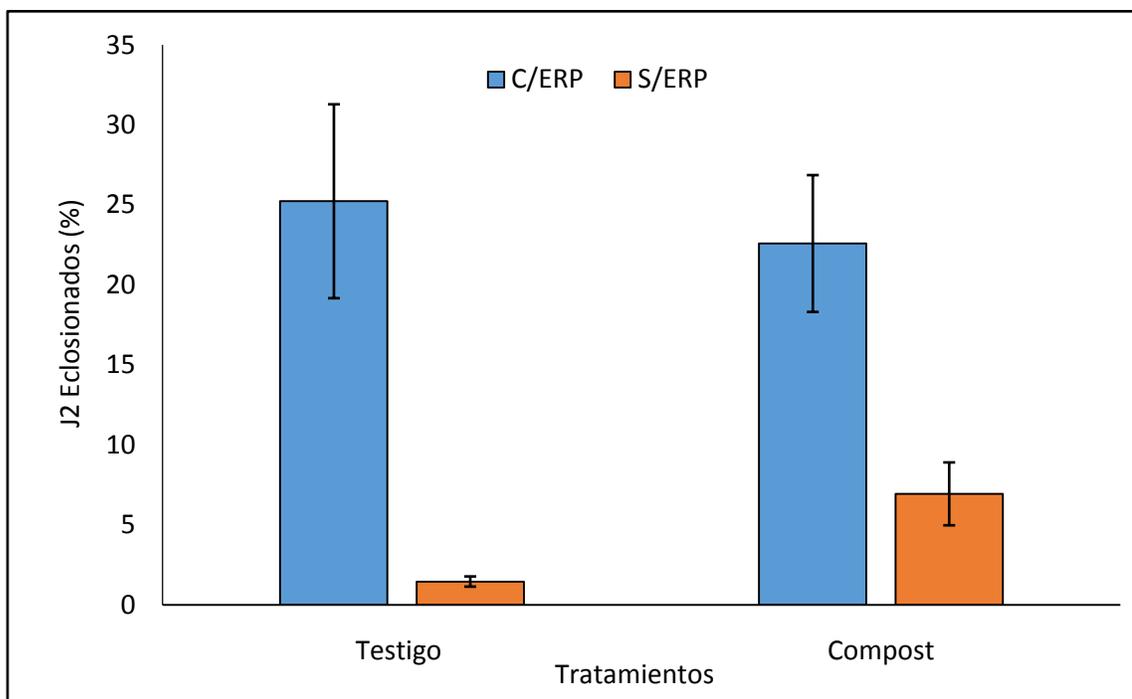


Figura 13. Porcentaje de eclosión de J2 respecto del total en presencia de extracto acuoso de compost.

En ausencia de ERP la presencia de compost estimula la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* en relación al testigo. En aquellos tratamientos en presencia de ERP no existieron diferencias significativas, aunque hubo un efecto supresivo en la eclosión de J2.

Este efecto supresivo puede deberse a compuestos presentes en el compost que reducirían la eclosión de J2. Este efecto concuerda con los obtenidos por Renčo *et al.* (2007) en el que diferentes tipos de compost compuestos por materia orgánica de distintos orígenes reducían la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* en distintas magnitudes.

Los compost poseen relaciones carbono nitrógeno(C:N) diferentes. Estudios de relaciones C:N de diferentes enmiendas orgánicas mostraron que a mayor proporción disponible de nitrógeno aumentaba el control de nemátodos. (Kirmani *et al.*, 1975; Mian & Rodríguez-Kábana, 1982).

Es necesario realizar análisis en mayor profundidad respecto del té de compost para determinar su relación C:N, y composición bioquímica para obtener el mayor provecho al efecto supresor obtenido. De este modo el uso del té de compost como enmienda orgánica pueda presentar una estrategia de manejo eco-compatible para el control de *G. rostochiensis*.

Al analizar el efecto de la concentración en aquellos tratamientos en presencia de ERP no se observan diferencias significativas respecto del testigo (Figura 14).

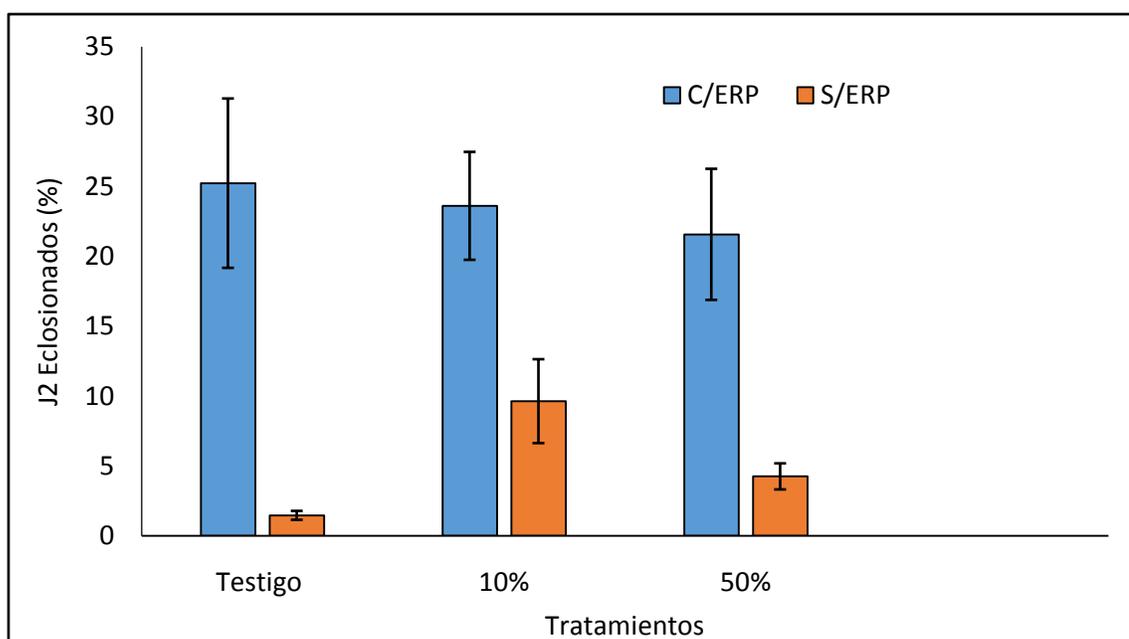


Figura 14. Efecto de la concentración de EB de té de compost en el Porcentaje final de eclosión de J2.

Sin embargo, en ausencia de ERP, tanto a 10 y 50% de concentración de té de compost, existe un mayor porcentaje de J2 eclosionados respecto del testigo evidenciando un efecto estimulante lo que se condice con Renčo *et al.*, (2011) que reportó un efecto supresor en la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*. No obstante, el

mismo autor señala que las materias originarias de los compost producirían variaciones en su composición y efectividad.

La ambigüedad de efectos mostrados por té de compost en la eclosión de J2 en presencia-ausencia de ERP deja la ventana abierta para análisis más profundos y detallados.

3.4 Efecto de la concentración y el exudado radical de papa sobre la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*.

Como se mencionó anteriormente la presencia o ausencia del exudado radical de papa juega un rol fundamental en la eclosión de J2 de *G. rostochiensis*. Los resultados del análisis de varianza indican que la interacción entre los factores concentración y exudados muestran diferencias significativas (Figura 15).

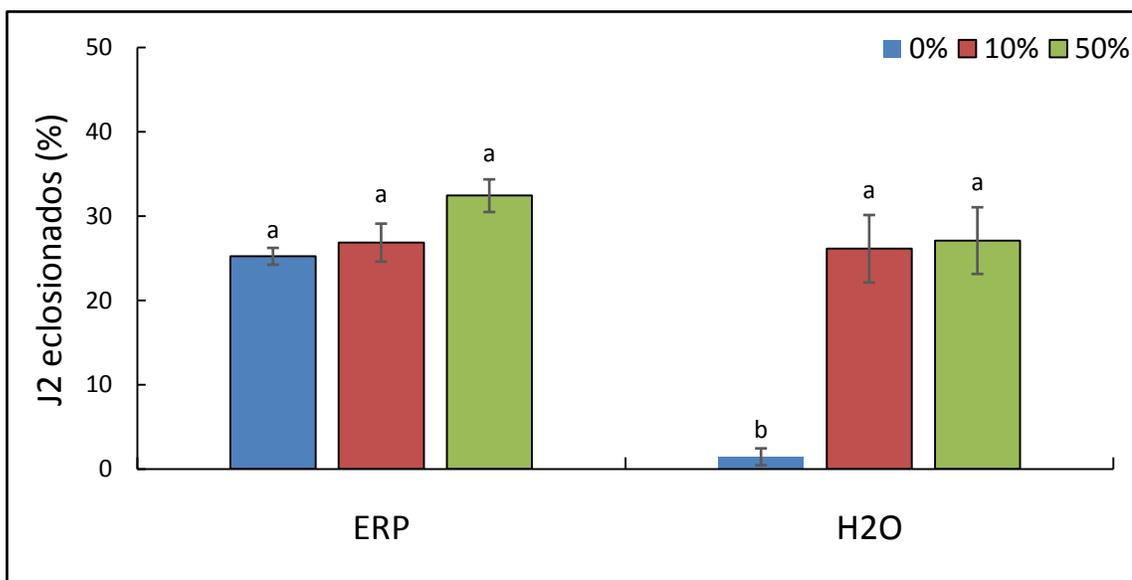


Figura 15. Interacción entre concentración de extractos y presencia/ausencia de exudado radical de papa y su efecto sobre el promedio de eclosión de J2 de *G. rostochiensis*.

Al realizar un análisis de Tukey (Anexo 5) se muestra diferencia significativa entre el testigo (0%) sin exudado radical (b) y el resto de los tratamientos(a). Esto indica que existiendo ERP o la presencia de alguno de los extractos utilizados, se produce un mayor porcentaje de eclosión

Por su parte aquellos tratamientos en ausencia de ERP mostraron en promedio que la presencia de extracto a distintas concentraciones estimuló la eclosión mostrando diferencias significativas respecto del testigo. Sin embargo, al aislar el efecto de la presencia de ERP, se aprecia una relación directa entre la concentración de los extractos y el porcentaje de eclosión de J2 (Anexo 6). Esta relación directa representa una oportunidad interesante para indagar en profundidad acerca de las concentraciones que optimicen los efectos supresivos abriendo la puerta para futuras investigaciones.

4. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este ensayo se puede concluir que existirían efectos estimulantes y supresivos en los extractos acuosos de follaje seco de las especies evaluadas.

En presencia de ERP, canelo y laurel mostraron un efecto sinérgico directo en el que a mayor concentración de extracto hubo un mayor porcentaje de J2 eclosionados tanto en ausencia como en presencia de exudado radical de papa.

En ausencia de ERP los tres tratamientos a distintas concentraciones estimularon la eclosión de J2.

La condición más favorable para la eclosión de J2 tanto para aquellos tratamientos en presencia y ausencia de ERP fue EB de laurel al 50% de concentración.

Canelo, laurel y té de compost a concentración EB de 10% y 50% en ausencia de ERP estimulan la eclosión de J2 de *G. rostochiensis* en condiciones *in vitro*.

La interacción entre la concentración de los extractos y la presencia o ausencia de exudado radical de papa mostró diferencias significativas solo entre el testigo sin ERP y los demás tratamientos.

En vista de estos resultados, sería conveniente realizar nuevos estudios que contemplen factores como temperatura, humedad y luminosidad a fin de comprobar la eficacia de estos extractos acercándonos de esta forma a condiciones de campo.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Aires, A., Carvalho, R., Barbosa, M. y Rosa, E. 2009. Suppressing potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, with extracts of *Brassicacea* plants. *American Journal of Potato Research* 86:327–333
- Akhtar, M. y Mahmood, I. 1996. Effect of a plant based product “nimin” and some plant oil on nematodes. *Nematologia Mediterranea* 24:3-5.
- Banks, N., Hodda, M., Singh, S. y Matveeva, E. 2012. Dispersal of potato cyst nematodes measured using historical and spatial statistical analyses. *Phytopathology* 102:620-626.
- Bittner, M; Milenko, A; Hernández, V; Arbert, C; Becerra, J; Casanueva, M 2009 Fungistatic activity of essential oils.
- Bittner, M., M.A. Aguilera, V. Hernández, C. Arbert, J. Becerra, y M.E. Casanueva. 2009. Fungistatic activity of essential oils extracted from *Peumus boldus* Mol., *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schodde and *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. (Chilean Monimiaceae). *Chilean Journal of Agricultural Research* 69:30-37.
- Böhm, L., N. Arismendi, y L. Ciampi. 2009. Nematicidal activity of leaves of common shrub and tree species from Southern Chile against *Meloidogyne hapla*. *Ciencia e Investigación Agraria* 36:249-258.
- Brewer, M.T. y Larkin, R.P., 2005. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. *Crop Protection* 24:939–950.
- Brodie, B. B. 1984. Nematode parasites of potatoes. In W. R. Nickle, (ed). *Plant and Insect Nematodes*. New York, USA. pp167-212
- Brodie, B, B. 1996. Golden nematode: A success story for biological control. *Nematology and Plant Pathology*. Cornell University USDA/ARS. <http://web.entomology.cornell.edu/shelton/cornell-biocontrol-conf/talks/brodie.html>.
- Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology*.40: 221-249.
- Clarke, A, Hennessy J. 1987. Hatching agents as stimulants of movement of *Globodera rostochiensis* juveniles. Nematology Department, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts., AL5 2JQ England. *Revue de Nématologie*. IO (4): 471-476.
- Doncaster, C. y Shepherd, A. 1967. The behaviour of second-stage *Heterodera rostochiensis* larvae leading to their emergence from the egg. *Nematologica*, 13: 476-478.
- Elston, D., Phillips M. y Trudgilt, D. 1991. The relationship between initial population density of potato cyst nematode *Globodera pallida* and the yield of partially resistant potatoes. *Revue nematology*. 14 (2): 221-229.

- Danquah, W.; Back, M.; Grove I. y Haydock, P. 2010. Potential use of plant extracts in potato cyst nematode management. *Aspects of Applied Biology* 103: 75-81.
- Desgarenes, D., Carrión, G., Núñez-Sánchez, A. y Núñez-Camargo, M. 2006. Distribution of stages and *in vitro* larval hatching in *Globodera rostochiensis* cysts. *Nematropica* 6: 251-260.
- Devine, J.D. 2009. Comparison of the effects of freezing and thawing on the cysts of the two potato cyst nematode species, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, using differential scanning calorimetry. *Nematology* 12: 81-88.
- Ellenby, C. & Perry, R. N. 1976. The influence of the hatching factor on the water uptake of the second stage larva of the potato cyst-nematode *Heterodera rostochiensis*. *Biology* 64: 141-147.
- Enciclopedia de la flora chilena, 2015. Ficha de especie "*Laurelia sempervirens*". <http://www.florachilena.cl/especies.php?id=2260> y "*Drimys winteri*". <http://www.florachilena.cl/especies.php?id=1225>. (Acceso, 2015).
- European Food Safety Authority. (EFSA). 2012. Scientific opinion on the risks to plant health posed by European versus non-European populations of the potato cyst nematodes *Globodera pallida* and *Globodera rostochiensis*. Panel of Plant Health. *Journal* 10(4): 2644.
- Fierro, A. 2009. Efecto sobre *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949 de extractos acuosos de ruda (*Rutagraveolens* L), menta (*Mentha x piperita* L.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.). Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias 89 p.
- Forrest, J. 1989. The effects of desiccation and root diffusates from potato and mustard on eggs of the white potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Annals of Applied Biology* 114(1): 215-219.
- Franco, J. 1986 Nemátodo del quiste de la papa *Globodera* spp. Boletín de información técnica 9, 2ª edición. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú.
- Hidalgo, D. 2008. Actividad nematicida sobre *Meloidogyne hapla* de extractos acuosos de especies arbóreas y arbustivas de la zona sur de Chile. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias 75 p.
- Hodda, M., y Cook, D. C. 2009. Economic impact from unrestricted spread of potato cyst nematodes in Australia. *Phytopathology* 99:1387-1393
- Holgado, R. y Magnusson, C. 2010. Management of PCN (*Globodera* spp.) populations under Norwegian conditions. *Aspects of Applied Biology* 103: 85-92
- Invasive (2015). Center from invasive species and ecosystem health. *Globodera rostochiensis*. <http://www.invasive.org/browse/subthumb.cfm?sub=4905>. (Acceso 2015).
- Jatala, P. y J. Bridge. 1990 Nematode parasites of root and tuber crops, *In* M. Luc, R.A. Sikora, & J. Bridge (eds). Plant parasitic nematode in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International Wallingford, Uk pp 137-180.

- Kimpinski, J., Gallant, C.E., Henry, R., Macleod, J.A., Anderson, J.B. & Sturz, A.V. 2003. Effect of compost and manure soil amendments on nematodes and on yields of potato and barley: a 7-year study. *Journal of Nematology* 35: 289-293.
- Kirmani, M., Alam, M., Khan, A. y Saxena, S. 1975. Effect of different carbon: nitrogen ratios on the population of nematodes and fungi and plant growth of cabbage. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 5: 22-25
- Kumar, A. y Forrest, J.M.S. 1990. Reproduction of *Globodera rostochiensis* on transformed roots of *Solanum tuberosum* cv. Desiree. *Journal of Nematology* 22(3):395-398.
- Lord, J.; Luca Lazzeri, L.; Atkinson, H. y Urwin, P. 2011. Biofumigation for control of pale potato cyst nematodes: activity of Brassica leaf extracts and green manures on *Globodera pallida* *in vitro* and in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 7882–7890.
- Martínez, M. M. 2009. Té de compost: usos, mitos y realidades. Institute for Crop Science and Resource Conservation (INRE) –Tropic crops. Germany.
- Mian, I y Rodríguez-Kabana, R. 1982. Organic amendments with high tanins and phenolic contents for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematologica* 12: 221-234.
- Minnis, S. T., Haydock, P. P. J., Ibrahim, S. K., Grove, I. G., Evans, K., y Russell, M. D. 2002. Potato cyst nematodes in England and Wales occurrence and distribution. *Annals of Applied Biology* 140:187-195.
- Montes, M. y Wikomirsky, T. 1985 *Medicina tradicional chilena*. Chile. Universidad de Concepción. 206 p
- Mugniéry, D., Plantard, O., Fournet, S., Grenier, É. Caromel, B., Kerlan, M., Picard, D. y Ellissèche, D. 2007. Évaluation de l'efficacité et de la durabilité des résistances à *Globodera pallida* PA2/3, provenant de *Solanum vernei*, *S. spegazzinii* et *S. sparsipilum*. *Nematologia Mediterranea* 35: 143-153.
- Muñoz-Concha, D., Vogel, H. y Razmilic, I. 2004. Variación de compuestos químicos en hojas de poblaciones de *Drimys* spp. (Magnoliophyta: Winteraceae) en Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 43-50.
- Neira, N., P. Heinsohn, y R. Carrillo. 2004. Efecto de aceites esenciales de lavanda y laurel sobre el ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Acari:Varroidae). *Agricultura Técnica (Chile)*
- Oclarit, E. y Cumagun, C. 2009. Evaluation of efficacy of *Paecilomyces lilacinus* as biological control agent of *Meloidogyne incognita* attacking tomato. *Journal of Plant Protection Research* 49: 337-340
- Ohio State University (OSU). 2007 *Suppressing plant parasitic nematodes and arthropod pest with vermicompost teas*. Biocycle advancing composting, organic recycling and renewable energy. Columbus. Ohio State University.
- Perry, R.N. 1986. Physiology of hatching. In: Lamberti, F. y Taylor, C.E. (eds). *Cyst nematodes*. New York, USA, Plenum Press. pp. 119-131.

- Poblete, H, y Roffael E. 2004. Acidez de la corteza de algunas especies nativas chilenas. Instituto de Tecnología de Productos Forestales, Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, 25:73-78.
- Rehman, S., Postma, W., Tytgat, T., Prins, P., Qin, L., Overmars, H., Vossen, J., Spiridon, L.N., Petrescu, A.J., Goverse, A., Bakker, J., y Smant, G. 2009. A secreted SPRY domain-containing protein (SPRYSEC) from the plant-parasitic nematode *Globodera rostochiensis* interacts with a CC-NB-LRR protein from a susceptible tomato. *Plant-Microbe Interactions*. 22:330-340.
- Renčo, M; Sasanelli, N; Kováčik, P. 2011. The effect of soil compost treatments on potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Helminthologia* 48(3): 184-194.
- Rich, J; Rahi, G; Oppermann, C y Davis, E. 1989. Influence of the castor bean (*Ricinus communis*) lectin (ricin) on motility of *Meloidogyne incognita*. *Nematropica* 10:99-103.
- Rodríguez-Kábana, R., Morgan-Jones, G. y Chet, I. 1986. Biological control of nematodes: soil amendments and microbial antagonists. *Plant and Soil* 100: 237-247.
- Rossner, J; and Zebitz, C. 1987. Effect of neem product on nematode and growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants in natural pesticides from neem tree (*Azadirachta indica* A Juss) and other tropical plants. In: H, Schuttered and K.R.S Ascher (eds). *Proceeding of the 3rd International Neem Conference*. Nairobi, Kenya. 10-15 of July 1986. pp. 611-621.
- Ryan, A., and Devine J.D. 2005. Comparison of the in-soil hatching responses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in the presence and absence of the host potato crop cv. British Queen. *Nematology*, 7(4): 587-597.
- Schmeda-Hirschmann, G., Dutra-Behrens, M., Habermehl, G., y Jakupovic, J. 1996. Seco-isotetrandrine from *Laurelia sempervirens*. *Phytochemistry*, 41(1): 339-341.
- Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2013 Situación actual de las enfermedades cuarentenarias de papa en la zona sur de Chile. Online <http://www.sag.cl/sites/default/files/o.-plagas_cuarentenarias_papa.pdf>
- Soler-Serratos, A., Kokalis-Bureli, N., Rodríguez-Kabana, R., Weaver, C., y King, P.S. 1996. Allelochemicals for control of plant-parasitic nematodes. I. *In vivo* nematicidal efficacy of thymol-benzaldehyde combinations. *Nematropica* 26: 57-71
- Sorribas, F. y Ornat, C. 2006. Manejo de *Globodera* spp. en cultivo de patata en la Sierra de Prades mediante cultivo trampa y solarización. *Fruticultura Profesional* 163: 117-119.
- Tapia, M. 2009. Actividad nematicida de extractos acuosos del tejido foliar de seis especies nativas del sur de Chile, sobre juveniles de *Meloidogyne hapla* (Chitwood, 1949). Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias. 50 p.
- Torres, P., J. Marín, J. Becerra, E. Aranda, y C. Céspedes, C. 2004. Insecticidal and growth regulatory activities of essential oil from Chilean natives Magnoliidae. PO-

- 128 (Summary). XIII Congreso Italo-latino americano di Etnomedicina "Paolo Ceccherelli". Salerno, Italy 22-25 Septiembre 2004.
- Trifonova, Z. y Atanosov, A. 2011. Control of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* with some plant extracts and neem products. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 17:623-627.
- Trudgill, D., Elliot, M., Evans, K., and Phillips, M. 2003. The white potato cyst nematode (*Globoderapallida*), a critical analysis of the threat in Britain. *Annals of Applied Biology* 143: 73–80.
- Turner, S., Fleming, C., Moreland, B. y Martin, T. 2009. Variation in hatch among pathotypes of the potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, in response to potato root diffusate from *Solanum* spp. I. Preliminary assessments to establish optimal testing conditions. *Nematology* 11: 749-756.
- Valdés Vazquez, Y., Viaene, N., Perry, R. N., y Moens, M. 2011. Effect of the green manures *Sinapis alba*, *Brassica napus* and *Raphanus sativus* on hatching of *Globodera rostochiensis*. *Nematology*, 13(Part 8).
- Walker, J. and Melin, J. 1996. *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. *Journal of Nematology* 28 (suppl.4): 629-635.
- Yen, Y., M.J. Yeh y W.F. Hsiao. 2007. Synthesis and nematicidal activity of ascaridole derivatives against *Meloidogyne incognita* and *Aphelenchoides besseyi*. *Journal of Pesticide Science* 32:49-52.

ANEXOS

ANEXO 1. Fotografía de *Drimys winteri* (canelo).



ANEXO 2. Fotografía de *Laurelia sempervirens* (laurel).



ANEXO 3. Imagen representativa de compost. Vitta Fert Té® Rosario S.A.

ANEXO 4. Preparación de té de compost en Biorreactor Earthforth de 20 L.



ANEXO 5. Resultado de Test de Tukey para factores de exudado y concentración.

Tukey HSD test; variable %Eclósión (Spreadsheet1)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 352,84, df = 90,000				
Tratamiento	Concentración	%Eclósión Mean	1	2
H2O	0	1,46007		b
ERP	0	25,23252	a	
H2O	10	26,12815	a	
ERP	10	26,85802	a	
H2O	50	27,09589	a	
ERP	50	32,42409	a	

ANEXO 6. Efecto de la concentración sobre la eclosión en J2 de *G. rostochiensis*.