UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TEMA:

"CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DEL TOMATE ***Meloidogyne incognita*** **(Kofoit and White, 1919)** CON EXTRACTOS ESTANDARIZADOS DE TRES PLANTAS NATIVAS CON PROPIEDADES NEMATICIDAS"

Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera Agrónomo.

AUTORA: Sandra Soledad Curimilma Campos

DIRECTOR: Dr. Ing. Tulio Fernando Solano Castillo Mg. Sc.

Loja– Ecuador

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Ingeniero Agrónomo
Dr. Tulio Fernando Solano Castillo Mg.Sc.
DOCENTE DE LA CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICO:

Que el trabajo de investigación de tesis:**"Control del nematodo agallador de las raíces del tomate *Meloidogyne incognita* (Kofoit and White, 1919) con extractos estandarizados de tres plantas nativas con propiedades nematicidas"**de la autoría de la Señorita Sandra Soledad Curimilma Campos, Egresada de la Carrera de Ingeniería Agronómica, ha sido desarrollado bajo mi dirección, acorde con las actividades establecidas en el cronograma de ejecución del proyecto aprobado y sujetándose a la rigurosidad científica y las normas de redacción técnica.

Por lo expuesto autorizo a la Autora indicada, la presentación del documento de tesis respectivo para que continúe con los trámites legales de graduación.

Loja, 20 de octubre de 2015

Dr. Ing.Tulio Fernando Solano Castillo Mg.Sc.
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICACIÓN

Una vez cumplida la reunión del tribunal de calificación del trabajo final de tesis "CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DEL TOMATE ***Meloidogyne incognita*** **(Kofoit and White, 1919)** CON EXTRACTOS ESTANDARIZADOS DE TRES PLANTAS NATIVAS CON PROPIEDADES NEMATICIDAS" de la autoría de la Señorita egresada de la Especialidad de Ingeniería Agronómica, se propuso algunas correcciones de forma, las mismas que han sido incluidas en el documento final.

En virtud, nos permitimos certificar el trabajo final consolidado de investigación está acorde a los requisitos de la carrera de Ingeniería Agronómica del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, por lo tanto se autoriza continuar con los trámites correspondientes.

Loja 24 de noviembre del 2015.

Dra. Ing. Zoila Zaruma Hidalgo Mg.Sc.
Presidenta

Ing. Bolívar Cueva Cueva
Vocal

Ing. Klever Chamba Caillagua
Vocal

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

AUTORIA

Yo, Sandra Soledad Curimilma Campos, declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional - Biblioteca Virtual.

Autora: Sandra Soledad Curimilma Campos

Firma: .....

Cédula: 1105046492

Fecha: 27 de noviembre de 2015

AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, Sandra Soledad Curimilma Campos declaro se autora de la tesis titulada "CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DEL TOMATE ***Meloidogyne incognita*** **(Kofoit and White, 1919)** CON EXTRACTOS ESTANDARIZADOS DE TRES PLANTAS NATIVAS CON PROPIEDADES NEMATICIDAS", como requisito para optar al grado de: **INGENIERA AGRÓNOMO**, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la reproducción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las Redes de Información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 27 días del mes de noviembre del 2015, firma la autora.

Firma:	
Autora:	Sandra Soledad Curimilma Campos
Número de Cédula:	1105046492
Dirección:	Loja, Av. Eugenio Espejo y Adolfo Valarezo
Correo electrónico:	sole_sandra@hotmail.es
Teléfono:	2713059
Celular:	0981440857

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis: Dr. Ing. Tulio Solano Castillo. Mg. Sc.

Tribunal de Grado:	Ing. Zoila Zaruma Hidalgo.	PRESIDENTA
	Ing. Bolívar Cueva Cueva.	VOCAL
	Ing. Klever Chamba Caillagua	VOCAL

AGRADECIMIENTO

Al terminar esta investigación quiero dar las gracias a muchas personas que han intervenido directa o indirectamente en esta investigación, pues sin ellas no hubiese sido posible su finalización.

De manera muy especial expreso mi gratitud a mi director de tesis Dr. Ing. Tulio Fernando Solano Castillo Mg. Sc., por sus sabias contribuciones, dedicación constante, sus amplios conocimientos, gran calidad humana, que con su paciencia y sabiduría me ha guiado durante este período y por la confianza puesta en mí persona.

Como no dar las gracias a esas personas que noblemente dedican parte de su tiempo a ayudar a otras personas y lo que es mejor, disfrutan haciéndolo, proporcionando sus consejos y sugerencias, e incluso facilitando el camino para aprender. Gracias, Ing. Jeamel Ruiz Mg. Sc. y Dr. Luis Morocho.

Dejo constancia mis más sinceros agradecimientos a mi compañero y amigo incondicional quien me brindó su apoyo al Ing. Milton Duarte, y a Alex Acaro gracias por su compañía y amistad.

A cada uno de los maestros de la Carrera de Ingeniería Agronómica, quienes me formaron con sus respetables conocimientos.

Finalmente, y de manera prioritaria deseo agradecer el apoyo y respaldo de mi familia. Destaco la orientación y rumbo que siempre me inculcaron mis padres y hermanos, que me marcó un estilo de esfuerzo y dedicación constante.

"La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar". Thomas Chalmers.

La autora

DEDICATORIA

Primeramente quiero dedicar este trabajo a **Dios** por haber sido mi guía incondicional en cada una de las etapas de mi vida estudiantil.

A mis queridos y adorados padres **Manuel y Zoila**, a los dos gracias por siempre estar presentes para mí, ser mi fuente de inspiración para seguir adelante, gracias madre por tus consejos de perseverancia, confianza, apoyo y amor incondicional ; es por ustedes que soy lo que soy ahora. Los amo con mi vida.

A cada uno de mis hermanos: **Fabiola, Fanny, Byron, Vinicio,** gracias por sus sabios consejos, apoyo, teniendo en cada uno de ustedes un ejemplo de superación y ser mi incentivo para poder seguir adelante y lograr este objetivo.

Como no dedicar este trabajo a cada uno de mis queridos sobrinos: **Andrés, Lisbeth, Dayana, Patricia, Doménica, Jonathan, Camila, Mateo y Nicol.**

Quiero dedicar a alguien muy especial en mi vida que aunque ya no se encuentre junto a mí, sé que desde el cielo me hecha muchas bendiciones a mi querida Abuelita **Rosenda ✝.**

A todos quienes, compartieron experiencias y conocimientos en la realización de este trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

PORTADA……. i

CERTIFICACIÓN…….. ii

APROBACIÓN…….. iii

AUTORIA…….. iv

CARTA DE AUTORIZACIÓN……. v

AGRADECIMIENTO…… vi

DEDICATORIA…… vii

ÍNDICE GENERAL……... viii

ÍNDICE DE CUADROS…… xi

ÍNDICE DE FIGURAS……. xii

ÍNDICE DE ANEXOS…….. xiii

RESUMEN…… xv

ABSTRACT…….. xvi

I. INTRODUCCIÓN…….... 1

II. REVISIÓN DE LITERATURA…… 4

2.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SOCIAL DEL CULTIVO DE TOMATE *Solanum Lycopersicum Mill*…….. 4

2.2. NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DEL TOMATE *Meloidogyne incognita*……... 5

2.2.1. Clasificación Taxonómica de *Meloidogyne incognita*……. 5

2.2.2. Características Morfológicas de *Meloidogyne incognita*…… 5

2.2.3. Ciclo biológico y patológico…… 6

2.2.4. Distribución y Diseminación……. 6

2.2.5. Síntomas y Rango de Hospederos……. 7

2.2.6. Importancia Económica del nematodo agallador……. 8

2.3. MÉTODOS DE CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR *Meloidogyne incognita*…….. 8

2.3.2. Plantas con propiedades nematicidas…….. 10

2.3.3. Plantas evaluadas por sus extractos en esta investigación……. 12

2.3.3.1. La albahaca (*Ocimun basilicum L*)…… 12

Clasificación taxonómica…….. 12

Compuestos químicos de albahaca asociados al control de nematodos…… 13

2.3.3.2. Higuerilla (*Ricinus communis* L)…… 13

Clasificación taxonómica…….. 13

Compuestos asociados al control de nematodos…….. 14

2.3.3.3. Paico (*Chenopodium ambrosioides*)……. 14

Clasificación taxonómica…….. 14

Compuestos asociados al control de nematodos……. 15

2.3.3. Trabajos realizados con extractos vegetales…….. 15

III. MATERIALES Y MÉTODOS…… 19

3.1. UBICACIÓN DE ENSAYOS…….. 19

3.1.1. Fase de Laboratorio e Invernadero…….. 19

3.2. MATERIALES……. 19

3.2.1. Material Vegetal para los extractos…….. 19

3.2.3. Materiales utilizados para la valoración de extractos *In vitro*…….... 20

3.2.4. Materiales utilizados para la valoración de los extractos en invernadero.. 20

3.3. MÉTODOS…….. 20

3.3.1. Metodología Para el Primer Objetivo…… 20

3.3.1.1. Recolección de muestras vegetales……. 21

3.3.1.2. Obtención de extractos acuosos e hidroetanólicos…… 21

3.3.1.2.2. Extractos hidroetanólicos…… 22

3.3.1.3. Obtención de nematodos…… 23

3.3.1.4. Evaluación de los extractos sobre *Meloidogyne incognita* en condiciones *in vitro*…….…….. 24

3.3.1.4.1. Evaluación de los extractos……... 24

3.3.2. Metodología para el segundo objetivo……. 26

3.3.2.1. Preparación de semillero……... 26

3.3.2.2. Obtención del inóculo de nematodos…….. 27

3.3.2.3. Diseño experimental…… 28

3.3.2.4. Variables evaluadas…… 28

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN…….. 30

4.1. EVALUACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES EN EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita IN VITRO*….…….. 30

4.2. EVALUACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES EN EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita* EN INVERNADERO……... 33

4.2.1. Altura de planta, biomasa foliar, biomasa radical……. 33

4.2.2. Índice de agallamiento, población de J_2 en raíces y en suelo……... 35

V. CONCLUSIONES…… 38

VI. RECOMENDACIONES……. 39

VII. BIBLIOGRAFÍA…….. 40

VIII. ANEXOS…… 50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos (extractos) evaluados en ensayo in vitro. Loja. 2015. 25

Cuadro 2. Tratamientos utilizados en el control del nematodo agallador, en condiciones de invernadero. Loja. 2015…….. 28

Cuadro 3. Mortalidad de larvas J_2 de *M. incognita,* por extractos botánicos, *in vitro*…… 31

Cuadro 4. Efecto de los extractos sobre variables agronómicas en plantas de tomate en invernadero, Loja, 2015…… 34

Cuadro 5. Efecto de los extractos en la formación de agallas por *M. incognita* en raíces, población J2 en raíces y suelo en condiciones de invernadero. Loja. 2015…… 36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. **a**.parte foliar de albahaca .**b**. hojas de higuerilla**. c.** parte foliar de paico. **d.** frutos de higuerilla. Loja 2015…… 21

Figura 2. **a.** Licuado. **b.** filtrado con malla metálica. **c**. filtrado con papel filtro. **d**. Proceso de rotaevaporación. Loja 2015…… 21

Figura 3. **a.** Licuado. **b**. Extracto en agitador magnético. **c**. Filtrado. **d.** Proceso de rotaevaporación. Loja 2015…… 22

Figura 4 . Cultivo de tomate muestreado en el sector Chichaca. Loja 2015 23

Figura 5. Raíz de tomate con presencia de agallas……... 23

Figura 6. Extractos preparados para montar bioensayo Loja 2015…… 24

Figura 7. Montaje de ensayo in vitro, Laboratorio de Sanidad Vegetal. Loja 2015…….. 24

Figura 8. Evaluación de ensayo *in vitro*, Laboratorio de Sanidad Vegetal. Loja 2015…….. 26

Figura 9. Semillero de tomate var. Caribe Loja 2015……. 26

Figura 10. Picado de raíces para la obtención de nematodos. Loja 2015…… 27

Figura 11. **a.** Inoculación de nematodos. **b**. Aplicación de extracto. Loja 2015. 27

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Escala de evaluación de índice de agallas para el nematodo agallador (Escala de Bridge y Page, 1980)……..... 50

Anexo 2. Registros de mortalidad de *M. incognita., in vitro* a las 24 h Loja 2015…….. 51

Anexo 3. Registro de mortalidad de *M. incognita., in vitro* a las 48 h Loja. 2015……... 52

Anexo 4. Registro de mortalidad de *M. incognita., in vitro* a las 72 h Loja. 2015……. ……. 53

Anexo 5. Registros de altura de planta del tomate de mesa Loja 2015….. 54

Anexo 6. Registro de evaluación de biomasa foliar del tomate de mesa. Loja 2015……. 54

Anexo 7. Registros de población de J_2 en 10 gr de raíces. Loja 2015….. 55

Anexo 8. Registros de población de J_2 en 100cc de suelo. Loja 2015…... 55

Anexo 9. Colecta y preparación de inóculo para pruebas in vitro…… 56

Anexo 10. Pesaje y dilución de extractos para pruebas in vitro…… 56

Anexo 11. Montaje y evaluación de ensayo *in vitro*……. 57

Anexo 12. Preparación de inoculo para ensayo en invernadero…… 57

Anexo 13. Inoculación de nematodos y aplicación de extractos a plantas de tomate en condiciones de invernadero…….. 58

Anexo 14. Evaluación de variables de ensayo en invernadero…….. 58

“CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DEL TOMATE ***Meloidogyne incognita*** **(Kofoit and White, 1919)** CON EXTRACTOS ESTANDARIZADOS DE TRES PLANTAS NATIVAS CON PROPIEDADES NEMATICIDAS”

RESUMEN

El tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* L.) es una hortaliza hospedera de un sinnúmero de plagas y enfermedades que inciden en la disminución de los rendimientos. En Ecuador, el nematodo agallador *Meloidogyne incognita, es* uno de los principales problemas del cultivo, debido a las elevadas pérdidas del 36, 43 y 47%. En este trabajo se evaluó la acción nematóxica de extractos acuosos de albaca, higuerilla, paico e hidroetanólicos de frutos de higuerilla en diferentes concentraciones sobre *Meloidogyne incognita.*

Los ensayos *in vitro* se realizaron bajo un diseño completamente aleatorizado con 20 tratamientos más un testigo y 4 réplicas (cajas con 50 larvas J_2) utilizando concentraciones de 0.01, 0.03, 0.06, 0.08 y 0.10 g de extracto/100mL de agua destilada estéril, la mortalidad se observó hasta las 72 h. El ensayo en invernadero se realizó utilizando plántulas de tomate var Caribe de 4 semanas en fundas de polietileno que contenían un sustrato 1:1:1 (suelo, arena, humus), bajo un diseño completamente aleatorizado de 13 tratamientos incluido un testigo con 15 réplicas (plantas). La inoculación se realizó una semana después del trasplante con 2000 J_2/planta, los extractos se aplicaron a las 48h y 28 días después utilizando concentraciones de 0.06, 0.08 y 0.10g en 100mL.

La evaluación se realizó a los 60 días después del trasplante y se determinó altura de la planta, biomasa foliar, biomasa radical, índice de agallamiento, población de J_2 en 10 g de raíces y en 100 cc de suelo. Mediante análisis de varianza de clasificación simple y pruebas de rangos múltiples de Tukey 5% se determinó que los mejores extractos en condiciones *in vitro* fueron albahaca 0.10 g, hojas de higuerilla 0.10 g, frutos de higuerilla 0.10 g y paico 0.10 g de extracto/ 100 mL de agua, con mortalidades superiores al 50%, mientras que en invernadero los extractos de frutos de higuerilla 0.10 g, paico 0.08 y 0.10 g dieron los mejores resultados en todas las variables evaluadas.

Palabras clave: Tomate de mesa, *Meloidogyne incognita,* extractos botánicos.

ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a crop affected by a great number of pests that decrease the yields. In Ecuador, the root knot nematode Meloidogyne incognita is one of the main problems of the crop, due to the high losses of 36, 43 to 47%. In this work the nematoxic action of aqueous extracts of albahaca, higuerilla, paico and hidroetanólicos extracts of fruits of higuerilla in different concentrations in front to *Meloidogyne incognita* were evaluated.

The trials in vitro were conducted under a design fully randomized with 20 treatments more a control and 4 replicas (boxes with 50 larvae J2) using concentrations of 0.01, 0.03, 0.06, 0.08 and 0.10 g of extract / 100mL of sterile distilled water, the mortality was observed until 72 h. The greenhouse trial was carried out using seedlings of tomato var Caribbean of 4 weeks in polyethylene bags containing a substrate 1:1:1 (soil, sand, humus), under a design fully randomized with 13 treatments included a control, with 15 replications (plants). The Inoculation was performed a week after transplantation with 2000 J2/plant extracts were applied to 48 h and 28 days later using concentrations of 0.06, 0.08 and 0.10 g in 100 mL.

The evaluation was made 60 days after the transplant and was determined the plant height, leaf biomass, radical biomass, damping rate, population of J2 in 10 g of roots and 100 cc of soil. Through analysis of simple classification ANOVA and Tukey multiple range tests 5% was determined that the best extracts *in vitro* conditions were albahaca 0.10 g, leaves of higuerilla 0.10 g, fruits of higuerilla 0.10 g and paico 0.10 g of extract / 100 mL of water, with mortality rates above 50%, while in greenhouse extracts of fruits of higuerilla 0.10 g paico 0.08 and 0.10 g gave the best results in all of the variables evaluated.

Key words: tomato, Meloidogyne incognita, botanical extracts.

I. INTRODUCCIÓN

Según el Fondo para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO, 2014) el tomate es uno de los cultivos con mayor área cultivada y producción global, China es el mayor productor con 31,6 $t.ha^{-1}$ seguido de Estados Unidos con 12,7 millones de toneladas.

Las zonas con mayores áreas de producción de tomate riñón en el Ecuador, según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC, 2004) son Guayas con 1453 ha, luego le siguen las provincias de Carchi con 917 ha y Loja con 710 ha. Se considerada además que a nivel país el promedio nacional está alrededor de 28,8 $t.ha^{-1}$

El cultivo de tomate es hospedero de una gran cantidad de plagas y enfermedades de importancia económica, una de las cuales por los daños que ocasiona, es el nematodo agallador de las raíces *Meloidogyne incognita*, que presenta un amplio rango de hospederos y distribución a nivel mundial con alrededor de 3000 especies de plantas hospedantes en climas templados, tropicales, subtropicales y mediterráneos (Solano, 2014).

Este nematodo daña a las plantas al debilitar las puntas de las raíces y al inhibir su desarrollo o estimular una formación radicular excesiva, pero principalmente destruye el sistema radicular debido a que forma agallas, las cuales privan a las plantas de sus nutrientes y agua, reduciendo la producción de los cultivos. Cuando las plantas susceptibles son afectadas en la etapa de plántula, las pérdidas son considerables y pueden dar lugar a la destrucción total del cultivo (Agrios, 2005).

Hasta ahora, el manejo de nematodos se realiza con nematicidas o fumigantes de suelo que por su composición química son tóxicos para los animales y plantas, e interfieren en su ciclo de vida, con efectos nocivos sobre el medio ambiente, la salud humana, los peces, los mamíferos y los organismos benéficos, lo que ha motivado la búsqueda de nuevas alternativas de control. La inadecuada gestión del uso de plaguicidas ha inducido resistencia de plagas y enfermedades por su capacidad de mutación, generando un problema de grandes proporciones. (Coast, 2008; Mendoza, 2010; Carrillo, 2013).

En la actualidad, nuevas estrategias amigables con el ambiente se están utilizando para el manejo de los nematodos agalladores de las raíces tales como: extractos botánicos (Álvarez y Paccha, 2011; Solano y Quezada, 2013), cultivos trampa (Andreu y Gómez, 2008), control biológico con microorganismos antagonistas como P*asteuria penetrans, Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Hirsutella rhossiliensis*, *Catenaria* spp. *Arthrobotrys*, *Monacrosporium* (Talavera y Verdejo, 2015); biofumigación y biosolarización (Kirkegaard et al., 2008; Talavera y Verdejo, 2015) y uso de plantas alelopáticas y materiales orgánicos frescos (Castro, *et al*., 2011).

El uso de los extractos botánicos presentan algunas ventajas sobre las moléculas sintéticas, debido a que son menos concentrados, menos tóxicos y sufren biodegradación rápida; pueden poseer múltiples modos de acción, lo que hace posible un amplio uso, además tienen una acción selectiva (Regnault, *et al.*, 2004; Quevedo *et al.,* 2010; Vilchis, 2011)

En este trabajo se probaron 4 tipos de extractos de tres plantas (Paico, Albahaca e Higuerilla) bajo 5 concentraciones en condiciones *in vitro* (0.01 %, 0.03%, 0.06%, 0.08% y 10% y se llegó a determinar que los extractos de paico con las concentraciones 0.08 %, 0.10 %, Albahaca 0.10 %, Hojas de Higuerilla con 0.10 % y Frutos de Higuerilla 0.10 %, ejercieron la mayor mortalidad de larvas J_2 en condiciones *in vitro*, mientras que en invernadero se utilizó los cuatro extractos con concentraciones 0.06%, 0.08% y 0.10 %, encontrándose los mejores resultados en los extractos de Paico 0.06, 0.10 %, Albahaca 0.06% y 0.08 %, Hojas de Higuerilla 0.08%y 0.10% y Frutos de Higuerilla 0.08% y 0.10%, estos resultados obtenidos permiten confirmar la efectividad de los extractos botánicos sobre la reducción de las poblaciones de larvas J_2 e índices de agallamiento con respecto al Testigo.

Los objetivos planteados fueron:

- Evaluar el efecto de extractos estandarizados de tres plantas nativas con propiedades nematicidas con diferentes concentraciones en el control del nematodo agallador del tomate *Meloidogyne incognita*, en condiciones *in vitro.*

- Validar el efecto de los extractos de tres plantas nativas con propiedades nematicidas en el control del nematodo agallador del tomate Meloidogyne incognita, en condiciones de cultivo en invernadero.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SOCIAL DEL CULTIVO DE TOMATE *Solanum Lycopersicum Mill*

El tomate *Solanum lycopersicum* L. las especies silvestres emparentadas tienen como centro de origen una amplia zona situada a lo largo de la cordillera de los Andes bajos entre Ecuador y Perú, desde donde fue llevado a México (CAB International, 2007). Los españoles y portugueses lo introdujeron en Oriente Medio y Europa y desde ahí pasó a África, Estados Unidos y Canadá (Jano, 2006; Bergougnoux, 2014).

Es la hortaliza más cultivada en el mundo, por su alta demanda en la industria y consumo debido a sus propiedades nutraséuticas, estimulante del aparato digestivo, desinfectante y antiescorbútico (Jano, 2006; Bergougnoux, 2014); es una importante fuente de minerales como potasio y magnesio, vitaminas B_1, B_2, B_5 y C; carotenoides como el licopeno del cual contiene hasta un 83% en frutos maduros y β-caroteno, entre 3-7%, y γ-caroteno, ambos con actividad provitamínica A. La vitamina C y el licopeno son antioxidantes con función protectora del organismo humano (Gebhardt y Thomas, 2012).

La producción mundial sobrepasa los 160 millones de toneladas, en una superficie de alrededor de 4 500 000 ha, y China es el mayor productor, con el 85% del volumen de las exportaciones (FAO, 2014). En cuanto a los rendimientos, el promedio mundial está en 33, 68 TM/ha, mientras que para Ecuador se registra un promedio de 20,46 $t.ha^{-1}$, con un volumen nacional de 62 956 t anuales, en una superficie aproximada de 3 000 ha. De la producción potencial nacional, se pierden alrededor de 301 ha por varios factores, entre ellos el complejo de organismos nocivos, incluidos los nematodos agalladores del género *Meloidogyne*, los cuales son manejados de forma convencional (INEC, 2004; FAO, 2014).

En Ecuador, las áreas de producción están ubicadas en la región litoral y en pequeños valles interandinos de clima subtropical con temperaturas de 20 a 25°C,

entre 300 a 1 300 msnm, en pequeñas unidades productivas de 0,5 a 3,0 ha, suelos poco profundos, franco arcillosos o arenosos, relativamente ácidos de 5,0 a 7,0 y pobres en materia orgánica (INEC, 2004; SENPLADES, 2012).

2.2. NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DEL TOMATE *Meloidogyne incognita.*

Es cosmopolita y parásito de muchas especies de plantas; tiene un rápido desarrollo y reproducción durante el ciclo del cultivo, lo que lo hace un nematodo que provoca graves daños. La hembra al alimentarse induce deformaciones típicas en la raíz llamadas agallas o nódulos debido a la modificación y crecimiento anormal de las células radicales (células gigantes), provocando diferentes grados de retraso en el crecimiento, perdida del vigor de la planta, además el tejido infectado es más susceptible de infección por otros patógenos (Perry *et al*., 2009).

2.2.1. Clasificación Taxonómica de *Meloidogyne incognita.*

Agrios (2005), clasifica a *Meloidogyne spp.,* de la siguiente manera:

Phylum: NEMATODA
Orden: Tylenchida
Suborden: Tylenchina
Superfamilia: Tylenchoidea
Familia: Heteroderidae
Género: *Meloidogyne*
Especie: *M. incognita* (Kofoit and White, 1919) Chitwood, 1949

2.2.2. Características Morfológicas de *Meloidogyne incognita*

Agrios (2005), menciona que los machos de *Meloidogyne incognita*., son vermiformes y miden aproximadamente de 1,2 a 1,5 mm de largo por 0.30 a 0.36 mm de diámetro. Las hembras tienen forma de pera y un tamaño aproximado de 0,40 a 1,30 mm de largo por un ancho de 0,27 a 0,75 mm, cada hembra deposita aproximadamente 500 huevecillos en una sustancia gelatinosa que ella misma produce. Kenneth (2008) señala que las hembras son de color blanco, con cuellos

alargados y delgados, estiletes bien desarrollados, perillas basales y los machos son delgados, semejantes a gusanos.

2.2.3. Ciclo biológico y patológico.

El ciclo biológico de estos nematodos comienza en la fase de huevos, depositados por la hembra en una matriz gelatinosa compuesta por glicoproteínas, secretadas por glándulas rectales de la hembra; las masas de huevos se ubican en la superficie de las agallas pudiendo estar entre los tejidos y tiene propiedades antimicrobiales de protección contra el medio externo (Moens *et al.,* 2009). La primera etapa larvaria (J1) se desarrolla en el huevecillo, sufre la primera muda y en la segunda etapa larvaria (J2) emerge del huevecillo.

El segundo estadio juvenil (J2) es la fase infectivo; si está dentro de los tejidos, puede penetrar en los tejidos circundantes de la raíz, o por el contrario, migran al suelo en busca del hospedante, atraídos por emanaciones de CO2 y aminoácidos provenientes de la zona de elongación de las raíces, captadas por órganos sensoriales denominados anfidias (Karssen y Moens, 2006) citados por Solano, (2014).

Los juveniles, una vez inmovilizados, pasan por una segunda, tercera y cuarta muda hasta alcanzar la fase adulta y madurez sexual en la cual se distingue como macho o hembra; durante la última muda los machos cambian su forma y abandonan la raíz; las hembras engrosan su cuerpo y provocan ruptura de tejidos quedando conectadas con su estilete al sitio de alimentación (Hunt et al., 2005; Karssen y Moens, 2006), citados por Solano (2014).

2.2.4. Distribución y Diseminación.

El nematodo agallador *Meloidogyne incognita* está distribuido en todo el mundo, aunque ocurre con mayor frecuencia y abundancia en regiones con clima cálido y tórrido e inviernos cortos y moderados. Con respecto a sus requerimientos climáticos estos nematodos pueden ser agrupados en dos grupos: termófilos y criófilos dependiendo de su capacidad para sobrevivir y desarrollarse, considerando su temperatura mínima de 10°C y a partir de la cual pueden completar su ciclo biológico *Meloidogyne hapla* es criófila y tiene la capacidad de

sobrevivir a temperaturas por debajo a los 10°C, a diferencia de *M. arenaria* y *M. javanica* que son termófilas y no sobreviven a temperaturas por debajo de los 10°C además de ser especies cuya eclosión es determinada principalmente por la temperatura (Curtis *et al*., 2009).

La mayoría de los trabajos del género *Meloidogyne* se centra en cuatro especies, tres que son consideradas de clima tropical: *M. arenaria*, *M. incognita,* y *M. javanica* y una cuarta, *M. hapla*, de clima templado. La gran gama de hospederos de cada una de las especies y su amplia distribución contribuyen al reconocimiento de su importancia (Moens *et al.,* 2009).

2.2.5. Síntomas y Rango de Hospederos.

El síntoma más visible y de diagnóstico del nódulo de la raíz, es la formación de agallas en las raíces secundarias, que da nombre a la enfermedad. Masas de huevos (aproximadamente 0,5 a 1 mm de diámetro) se encuentran en la superficie de las raíces con agallas. Cuando se cortan las agallas abiertas y maduras, las hembras aparecen como perlas blancas que a menudo son visibles en el tejido de la raíz. Las raíces infectadas son generalmente cortas y tienen pocas raíces laterales y pelos radicales (Ciancio, 2007).

Agrios (2005), afirma que los síntomas de los órganos aéreos son similares a los que producen muchas otras enfermedades de la raíz o factores del medio ambiente, los cuales disminuyen el volumen de agua disponible para la planta. Las plantas infectadas muestran un desarrollo deficiente y una menor cantidad de hojas. Las inflorescencias y frutos no se forman o se atrofian y son de baja calidad. Los síntomas más característicos de la enfermedad son los que aparecen sobre los órganos subterráneos de las plantas. Las raíces infectadas se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas del nódulo de la raíz.

M. incognita, produce varios síntomas: la parte aérea de las plantas muestra una reducción de crecimiento y síntomas similares a la falta de nutrientes y agua. En la raíz produce agallas o nudos, de los cuales emergen muchas raíces laterales, lo que da lugar a un sistema radical compacto anormalmente abundante y

entrelazado y por consiguiente el follaje se presenta vigoroso y abundante (Revelo, 2002).

2.2.6. Importancia Económica del nematodo agallador.

Los daños y pérdidas ocasionados por *Meloidogyne incognita*., al igual que la mayoría de los nematodo fitoparásitos se incrementa en regiones con clima tropical debido a que se incrementa la diversidad de los patógenos; las condiciones para la colonización, desarrollo, reproducción y dispersión se ven favorecidas, además la falta de recursos humanos y financieros para el manejo de los cultivos incrementa el problema (De Weale y Elsen, 2007).

La severidad de los daños por este nematodo pueden variar con su especificidad hospedatoria, la rotación de los cultivos y el tipo de suelo (Moens *et al.,* 2009). El umbral económico ha sido determinado en algunos cultivos y puede variar desde aproximadamente 0.5-2 juveniles de segundo estadio g-1 de suelo o 1000 individuos por 500 cm^3 (Greco y Di Vito, 2009).

Revelo *et al*. (2009) reportan que, bajo condiciones de invernadero en Imbabura, determinaron pérdidas de 36, 43 y 47% en las variedades de tomate de mesa Sheila, Sahel y Charleston respectivamente, lo que demuestra que este parásito es un factor limitante de la producción de esta hortaliza. Por su parte, Solano (2013) y (Solano *et al*., 2014), manifiestan que la producción de tomate de mesa en los valles andinos de Catamayo, Malacatos, Quinara y otros, en la provincia de Loja, se ve afectada por la presencia de *Meloidogyne incognita,* que alcanza índices de agallamiento promedio de 8.72 según la escala de Bridge y Page (1980), pudiendo producir hasta el 40 % de pérdidas en el cultivo.

2.3. MÉTODOS DE CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR *Meloidogyne incognita.*

2.3.1. Estrategias más conocidas.

Solano (2012; 2014) menciona que en los últimos años se ha utilizado **el control químico** con sustancias activas como el Carbofurán (Furadán), Fenamiphos (Nemacur), Oxamyl (carbamato), Terbufos (organofosforado), Ethoprohos

(organofosforado), Dazomet (Basamid), Azadirachtina, Bromuro de metilo (BM). Productos que causan daños medioambientales, por el uso inadecuado además de ser muy costosos, lo cual incide en muchos casos para que el retorno de la inversión sea igual o menor a lo producido, siendo así en los últimos años en el ecuador los volúmenes de ventas de los plaguicidas principalmente nematicidas registró 3,700.204 $t.ha^{-1}$ en el año 2012.

La utilización de **cultivos trampa** especialmente para nematodos agalladores de cultivos de ciclo corto, los métodos de control físico como los tratamientos térmicos con agua caliente de bulbos, rizomas o estacas infestadas con nematodos endoparásitos, son técnicas efectivas y menos costosas (Andreu y Gómez, 2008). **La solarización del suelo** permite desinfectar y suprimir eficazmente la mayoría de las especies de nematodos patógenos, los barbechos limpios de malas hierbas hospederas, así como la rotación con cultivos no hospedadores son en muchas ocasiones medidas efectivas de control nematológico, pues cuando la fuente de alimento desaparece, las poblaciones declinan gradualmente debido a su muerte por inanición (Talavera y Verdejo, 2015).

El Control biológico con microorganismos antagonistas de nematodos pueden reducir directamente las poblaciones del suelo mediante depredación, parasitismo o antibiosis como la bacteria P*asteuria penetrans,* los hongos *Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Hirsutella rhossiliensis*, *Catenaria* spp. *Arthrobotrys*, *Monacrosporium;* así como el uso de microorganismos de protección biológica que dificultan la penetración, desarrollo y reproducción de los nematodos en las raíces como los hongos formadores de micorrizas arbusculares o algunas bacterias inductoras de resistencia sistémica como *Bacillus*, *Pseudomonas* (Talavera y Verdejo, 2015).

La biofumigación es otra alternativa a utilizar y consiste en la incorporación de materiales orgánicos al suelo, los cuales liberan compuestos químicos con acción desinfectante contra patógenos, insectos y nematodos, lo que parece deberse al incremento en las poblaciones de microorganismos antagonistas de y a los gases

que se liberan durante el proceso de descomposición de la materia orgánica (Kirkegaard *et al.,* 2008; Talavera y Verdejo, 2015).

El uso de Plantas Alelopáticas, permite que estas liberen productos nematicidas al suelo, bien durante su crecimiento o bien como resultado de la descomposición de sus residuos, productos conocidos como aleloquímicos. Algunos ejemplos a citarse son: el sorgo cuyas raíces contienen un compuesto químico llamado dhurrin, que se degrada en cianuro de hidrógeno un nematicida poderoso; las brasicas, liberan en su proceso de descomposición los glucosinatos e isotiocianatos que elimina y disminuye la población de nematodos fitoparásitos presentes en suelo (Castro, *et al.,* 2011).

2.3.2. Plantas con propiedades nematicidas.

Una de las alternativas para el control de nematodos es el uso de extractos vegetales con importantes niveles de efectividad en la reducción de las poblaciones de nematodos fitoparásitos (Montes y Flores, 2011). En la base de datos de (Duke, 2008) se menciona la estructura química de 2,396 especies de plantas con propiedades antimicrobianas, de las cuales **833 actúan contra nematodos** que representan un 33% del total de plantas estudiadas. Según este autor, las plantas antagónicas a los nematodos hasta ahora conocidas, se encuentran agrupadas dentro de 25 familias de plantas superiores y también algas marinas (Chitwood, 2002). Por otro lado, varios autores mencionan una gran diversidad de especies vegetales con propiedades nematicidas con excelentes resultados para el control de *Meloidogyne* spp. Como ejemplos mencionaremos las siguientes especies:

L**as brasicaceas** mencionadas por **(**Lazzeri *et al.,* 2004) citado por Díez, (2010), efectivas por su alto contenido de glucosinolatos los cuales por acción de los microorganismos se transforman en compuestos biocidas, principalmente los isotiocianatos y los nitrilos.

Melia azederach también llamada "Paraíso" o “jazmin”, sus frutos maduros y sus hojas amarillas son usados como insecticida-nematicida y antialimentario sobre diferentes tipos de plagas. Estudios realizados con distintas concentraciones del

extracto de Paraíso demuestran que éste inhibe la alimentación y afecta negativamente el desarrollo y supervivencia de distintas especies de insectos-plaga que atacan diversos cultivos (Valladares *et al.,* 1997,) citado por (Maggi, 2004).

El Neen *Azadirachta indica A. Juss* (Singh *et al.,*1996) y (Johnson *et al.*, 1996) citados por (Pino, 2010), informan que el árbol de neem es una fuente de pesticidas naturales, utilizado para reducir poblaciones severas de nematodos de la soya (Vyas, 1993). En el extracto se han identificado alrededor de 18 compuestos entre los que destacan solanina, meliantrol, terpenos como: nimbina, tionemona y azadiractina que es el compuesto que se encuentra en mayor concentración, y se localiza en la corteza, hojas y frutos de este árbol pero la mayor concentración se ubica en la semilla; este compuesto muestra acción antialimentaria, reguladora del crecimiento, inhibidora de la oviposición y esterilizante para diversos nematodos fitoparásitos; además reduce la movilidad de *M. incognita* (Silva *et al.,* 2002; Regnault *et al.*, 2004).

Ají *Capsicum frutescens L.* Sus principios activos son: capsaicina y alcaloides. Actúa como un insecticida por contacto y por ingestión. Es muy eficaz en el control de larvas. Contiene metabolitos secundarios, entre los que se encuentran: Aceites volátiles como: limoneno, linalol, lupeol. Ácidos orgánicos: ascórbico, caféico, cítrico, clorogénico, oleico, linoleico y ácido p-cumárico. Alcaloides: solanina, solanidina, solasodina, escopoletina. β-caroteno, β-sitosterol, capsaicina, cariofileno, dihidrocapsaicina, eugenol. Carotenoides con terminación ciclopentánica (capsantina, capsorubina, capsantinona). Heterósidos diterpénicos (capsianósidos) y un heterósido del furostanol (capsicósido). Luteína, tocoferol, trifonelina y zelaxantina Bruneton (2001).

Tagetes: T. erecta es una planta antagónica o planta repelente de nematodos, y se recomienda como medida para controlar algunos nematodos fitoparásitos (Murga, 1986), citado por (Quezada *et al.,* 2012).

Díaz *et al. (*2012), menciona que al comparar la composición del aceite esencial de varias especies de tagetes se concluye que algunos metabolitos son diferentes y otros son comunes. El aceite de Tagetes tiene actividad biológica sobre varios

organismos patógenos de plantas y animales por lo que este género representa una opción en agricultura y medicina como insumo natural. Marles *et al.,* (1992), citado por (Barajas, 2009) reportan que T. erecta posee en la raíz, compuestos sulfurosos denominados tiofenos y mencionan que el α-tertienil es el compuesto con mayor actividad biológica, primordialmente contra nematodos.

Los barbascos Lonchocarpus nicou (Aubl) Dc entre los principales principios activos tenemos retonona, deguelina, trefosina, toxicarol que es encuentran en la raíz. (Álvarez *et al.,* 2011).La rotenona se utiliza en el control de áfidos, empleando el polvo de la raíz finamente molida y diluido en concentraciones bajas de agua o mezcla con aceite en dosis de 6,25;3,1;2,1;1,0; y 0,15 g/litro de agua controla bien trips, mosca blanca, larvas de lepidópteros, arañita roja; Tetranychus.

2.3.3. Plantas evaluadas por sus extractos en esta investigación.

2.3.3.1. La albahaca (*Ocimun basilicum L*). Es una planta aromática y medicinal, herbácea, anual, de tallos erectos y ramificados, frondosa. Las hojas de 2 a 5 cm, suaves, oblongas, opuestas, pecioladas, aovadas, lanceoladas y ligeramente dentadas. Las flores son blancas, dispuestas en espigas alargadas, asilares, en la parte superior del tallo o en los extremos de las ramas (Briceño *et al.,* 2013).

Clasificación taxonómica

Trópicos (2015) clasifica a la planta de albahaca de la siguiente manera:

Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae Novák
Super orden: Asteranae takht
Orden: Lamiales Bromhead
Familia: Lamiaceae Martinov
Género: Ocimum
Especie: Ocimum basilicum L.

Compuestos químicos de albahaca asociados al control de nematodos.

Rojas *et al.* (2012), efectuaron un estudio en el cual identificaron la composición química del aceite esencial de *Ocimum basilicum*, en el que se identificaron 38 compuestos, con predominancia de los compuestos oxigenados (77.79 %), entre ellos el componente mayoritario linalol (37.17 %), seguido por el eugenol (16,06 %), safrol (9,46 %), el 1,8-cineol (7,68 %) y en menor proporción β-cubebeno, mirceno, alcanfor, geraniol, metil eugenol. β-pimeno, isoborneol, piperitona entre otros (ICA, 2014). Por su parte, (Regnault, *et al*., 2004), señala que plantas de albahaca poseen moléculas de Citral, Citronelol, linalol, con actividad sobre *Meloidogyne spp. Heterodera spp*., *Anguina tritici, Tylenchulus semipenetrans* y larvicida para *Rotylenchulus reniformis*. *Ocimum spp.* son plantas bien conocidas por producir aceites esenciales con actividad antimicrobiana (Ajayi *et al*., 2008).

2.3.3.2. Higuerilla (*Ricinus communis* L).

Es conocida desde la antigüedad, no sólo por la alta toxicidad de sus semillas sino, además, porque su aceite ha sido siempre muy valorado para distintas funciones. El ricino es una planta herbácea en los países de clima templado, arborescente, y hasta de 8-10 m de altura en los intertropicales y subtropicales. En condiciones climáticas favorables, con un alto grado de humedad ambiental y calor adecuado (en el trópico), puede alcanzar varios metros de altura, así en estado silvestre es un árbol que alcanza los 10 metros de altura Leal, (2009).

Clasificación taxonómica.

Trópicos (2015) clasifica a la planta de higuerilla de la siguiente manera:

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Super orden: Rosanae

Orden: Malpighiales.

Familia: Euphorbiaceae

Género: Ricinus L.

Especie: Ricinus communis L

Compuestos asociados al control de nematodos.

La higuerilla o castor (*Ricinus communis L*.) produce metabolitos secundarios como albúminas (ricina) y alcaloides (ricinina) (Arboleda *et al.,* 2010). Los tejidos de higuerilla liberan compuestos tóxicos y dos lectinas, la ricina y la ricinus-aglutinina, ambas con capacidad para adherirse fuertemente a los anfidios de los nematodos fitoparásitos como los formadores de nudos o agallas en el sistema radical (Meloidogyne spp. Goeldi) y modificar así su comportamiento quimiotáctico (Arboleda *et al*., 2010). Las semillas y cáscaras de higuerilla contienen elementos tóxicos. El principal elemento tóxico es la ricina en el cual se encuentra un triglicérido timirstina, que es una proteína, pero también está presente un potente alérgeno, que es más difícil de inactivar que la ricina (Carrillo-Rodríguez *et al*., 2007).

2.3.3.3. Paico (*Chenopodium ambrosioides*). Es una planta perteneciente a la familia Chenopodiaceae y conocida comúnmente como paico, hierba santa, hierba de Santa María, hierba hedionda, paico macho, paico oloroso, pichín y té de los jesuitas, es una planta aromática, perenne, más o menos pubescente, con el tallo usualmente postrado, crece en suelos húmedos y bajos, olor fuerte, con alrededor de 40 cm de altura; las hojas son oblongo-lanceoladas y serradas, de entre 4 cm de longitud y 1 cm de ancho, con pequeñas flores verdes en panículos terminales densos, cada uno con 5 sépalos; el cáliz persistente circunda al fruto, y las semillas son negras y no mayores que 0,8 mm de longitud (Gadano *et al.,* 2006; Jamali *et al.,* 2006).

Clasificación taxonómica.

Trópicos (2015) clasifica a la planta de paico de la siguiente manera:

Clase	Equisetopsida C
Subclase:	Magnoliidae
Super orden	Caryophyllanae Takht.
Orden	Caryophyllales Juss.
Familia	Amaranthaceae Juss
Género	Chenopodium
Especie	Chenopodium ambrosioides.

Compuestos asociados al control de nematodos.

Entre los componentes activos con propiedades nematicidas identificados en el paico (*Ch. ambrosioides*) se pueden nombrar a: saponinas, flavonoides, esteroides y aceites esenciales (Karr *et al.,* 1990) citado por (Fierro, 2009), siendo los más activos los aceites esenciales, conformados por el ascaridol en un 86% (Quarles, 1992) citado por (Fierro, 2009). El aceite esencial componente principal es el monoterpeno ascaridol o 1,4 – peróxido de p-menta-2-eno, tiene además otros componentes como saponinas, ácido cítrico, ácido salícilico, ácido tartárico, ácido succínico, acetol, santonina, ambrósido, betaina, limoneno, alcanfor (Alonso C, 2009).

2.3.3. Trabajos realizados con extractos vegetales.

Actualmente se está desarrollando líneas de investigación que analizan la efectividad de extractos de plantas para el control de distintos organismos tanto en laboratorio como en campo. Pues el uso de extractos naturales para el control de plagas de importancia agrícola es cada vez más aceptado debido al necesidad de emplear compuestos eficaces que no provoquen efectos degenerativos para la salud y el ambiente (Álvarez *et al*., 2011).

Regnault, *et al.* (2004), señala que plantas de albahaca (Ocimun basilicum, Lamiaceae) poseen moléculas de Citral, Citronelol, linalol, con actividad sobre Meloidogyne spp. Heterodera spp., Anguina tritici, Tylenchulus semipenetrans y larvicida para *Rotylenchulus reniformis.*

Vilchis, (2011), al evaluar la posibilidad de combinar la aplicación del hongo *Pochonia chlamydosporia* y extractos vegetales de 22 plantas con principios nematicidas para el manejo integrado del *Meloidogyne* sp. en el cultivo de frijol, determinó en laboratorio el efecto de extractos acuosos de cada una de las plantas sobre la movilidad de juveniles de segundo estadio (J_2). Los resultados mostraron el efecto nematicida constante de *Chenopodium ambrosioides, Ch. album, Thymus vulgaris, Raphanus raphanistrum y Calendula oficinalis*.

Quevedo *et al.* (2010), evaluaron 6 extractos acuosos (EA) y 6 etanólicos (EE) de hojas de *Anacardium occidentale*, *Calotropis procera*, *Chenopodium ambrosioides*,

Coffea arábica, *Eryngium foetidum* y *Ruta graveolens* para el control de juveniles de segundo estadio (J_2) de *Meloidogyne enterolobii*. Con concentraciones de 12,5; 25; 50 y 100% para EA y 0,05; 0,10 y 1% para EE. Los resultados mostraron que *C. ambrosioides* indujo 100% de mortalidad en todas las concentraciones (0,05; 0,10 y 0,1%) y desde el menor tiempo de exposición (24 h). Los EA de *C. arabica* y *C. ambrosioides* en 100% de concentración, indujeron 100% de mortalidad de los J2 de *M. enterolobii*. *A. occidentale* y *R. graveolens* a una concentración de 100% (48 y 72 h) y *C. ambrosioides* a una concentración de 100% (24 h), lograron porcentajes de mortalidad que oscilaron entre 51,25 y 87,5%.

Fierro *et al.* (2009), Realizaron tres tratamientos con extractos acuosos de las distintas especies de menta, paico y ruda por dos tiempos (24 h y 48 h), en el que 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 en consecuencia, una mayor inactividad del inóculo (huevos y juveniles) que de ello se genere. Similar efecto presenció (Sánchez, 2002), quien observó que al exponer in vitro el nematodo *Radopholus similis* por 48 h al 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%), siendo el menor control a las 2 h de exposición con un 2,02 % de inactividad.

Pino (2010), al probar 21 plantas con efectos nematicidas sobre *Meloidogyne incognita* en tomate de mesa dentro de las que se encontraban Paico, Higuerilla y Albahaca encontró en condiciones in vitro que el extracto de paico a base de hojas y tallos produjo una mortalidad del 100% de larvas J2, de la misma manera los extractos de Higuerilla con hojas y frutos verdes produjeron la mortalidad del 100%, a diferencia de la albaca que produjo el 20% de mortalidad, en condiciones de invernadero con extractos de paico obtuvo los siguientes índices de agallamiento: con 6mL/planta grado 4, con 10mL/planta grado 3, con 14mL/planta grado 2; mientras que el extracto higuerilla con 6mL/planta obtuvo tuvo un grado 4,

con 10mL/planta grado 3 y con 14mL/planta grado 3. En la población J2 en 10 g de raíces el extracto de paico fue el de mayor población a diferencia del extracto de higuerilla que disminuyó la población.

Vinueza *et al.* (2006), evaluaron 15 extractos vegetales para el control de juveniles de segundo estadio (J_2) de *M. incognita*. Estos extractos fueron obtenidos de hojas, inflorescencias, espigas, bulbos, semillas y frutos de nueve especies: *Ricinus communis*, *Schoenocaulon officinale*, *Cyperus rotundus*, *Nerium oleander*, *Petiveria alliacea*, *Rauwolfia pachyfollia*, *Piper marginatum*, *Hyptis suaveolens* y *Lantana camara*. a concentraciones de 2, 4, 8, 16, 32, 64 y 100%. Los resultados obtenidos mostraron que los frutos verdes de *R. communis*, a concentraciones de 32, 64 y 100% inducen 98,9, 98,9 y 100% de mortalidad, respectivamente, después de 72 h. Los extractos de inflorescencia de *S. officinale* a concentraciones de 32, 64 y 100% indujeron 80,5, 84,1 y 100% de mortalidad, respectivamente, después de 72 h. Las espigas y hojas de *S. officinale* a una concentración de 100% indujeron una mortalidad de 65,9 y 98,8%, respectivamente, después de 72 h; asimismo, el extracto acuoso de inflorescencia a una concentración de 100% indujo una mortalidad de 100% después de 48 h.

Navarro *et al.* (2002), probó el efecto de la incorporación al suelo de residuos de col (*Brassica oleracea L. cv. Capitata*) o de higuerilla (*Ricinus communis L*.) para el manejo de *Nacobbus aberrans* bajo condiciones de invernadero. La incorporación de residuos de col 10 días antes del trasplante de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*.) redujo significativamente (α= 0,01) el número de agallas; sin embargo, hubo muerte de algunas plantas y reducción del crecimiento debido a un efecto fitotóxico. En contraste, al incorporar las enmiendas al momento del trasplante, el agallamiento en las raíces se redujo en un 36% y 54%, y en un 21% y 46% con residuos de col e higuerilla incorporados al 1% y 2%, respectivamente. Al incorporar dosis de residuos de col de 5,20 kg/m2 al momento del trasplante del tomate, se redujo el número de agallas en raíces en un 72%, 53% y 29%, mientras que cuando se incorporaron 3,25 kg/m^2 una semana antes

del trasplante, la reducción del agallamiento fue del 66%, 50% y 24%, a los 20, 40 y 60 días posteriores al trasplante, respectivamente.

Al incorporar dosis de 5,20 y 3,25 kg/m^2 de residuos de col cerca de la fecha de trasplante, el peso seco de raíz se incrementó en un 24% y 21%, y el de follaje en un 41% y 32%, respectivamente. La producción total y comercial de tomate se incrementó significativamente (α = 0,01) en un 62% y 61% al incorporar 5,20 kg/m^2 de col al trasplante, y en un 51% y 53% al incorporar 3,25 kg/m^2 de col una semana antes del trasplante, respectivamente, en comparación con el tratamiento testigo.

Nelson *et al.* (2003), Manifiestan que evaluaciones realizadas sobre el efecto de diez plantas sobre la actividad de juveniles de *M. incognita* raza 2 en condiciones de laboratorio muestran que, los extractos de plantas que produjeron inactividad de juveniles mayor al 50 % durante todos los períodos de evaluación fueron ají (*Capsicum annum*), ajo (*Allium sativum*), mostaza (*Brassica campestres*), neem (*Azadirachta indica*) y tagetes (*Tagetes erecta*). La higuerilla (*Ricinus comunis*) causó inactividad de juveniles superior a 50 % a partir de las 48 horas, mientras que la ruda (*Ruta graveolens*) sólo funcionó en las dos primeras evaluaciones. Falso diente de león (*Hypochaeris radicata*), margaritón (*Tithonia diversifolia*) y repollo (*Brassica oleracea* v. capitata) presentaron los más bajos porcentajes de inactividad de J_2, inferiores a 50 % en todas las evaluaciones.

Arboleda *et al.* (2010) demostraron el efecto nematicida de los extractos acuosos de frutos, raíces y hojas de higuerilla. Los extractos acuosos de todos los tejidos en las concentraciones del 25 y 50% causaron una mortalidad intermedia de R. similis, con valores entre 22 y 46%, siendo estadísticamente diferentes a los tratamientos antes mencionados. Así, el extracto acuoso de tallos de higuerilla presentó el efecto nematicida menor en las tres concentraciones evaluadas con valores entre 38 y 46%, los cuales fueron estadísticamente diferentes a los extractos de los otros tejidos, y a los testigos agua y químico que tuvieron los menores (3%) y mayores efectos nematicidas (98%), respectivamente.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en dos fases, *in vitro* e invernadero, la primera se realizó en el Laboratorio de Fotoquímica del CISAQ donde se obtuvieron los extractos vegetales, Laboratorio de Sanidad Vegetal, donde se realizó el ensayo *in vitro*; la segunda fase se desarrolló en el invernadero perteneciente al Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, donde se evaluó la eficacia de los 12 mejores concentraciones de los extractos, en plantas inoculadas cultivadas por 60 días después de trasplante

3.1. UBICACIÓN DE ENSAYOS.

3.1.1. Fase de Laboratorio e Invernadero.

El laboratorio de Sanidad Vegetal y el invernadero del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, se ubican entre las siguientes coordenadas planas.

Coordenadas x: 699250 UTM – 699300 UTM
Coordenadas y: 9 553 600 UTM – 9 553 650 UTM
Altitud: 2140 msnm.
Temperatura promedio en invernadero: 24.6 ^{o}C
Humedad relativa (HR%): 52.5%

3.2. MATERIALES

3.2.1. Material Vegetal para los extractos.

Hojas de paico (*Chenopodium ambrosoides* L), albahaca (*Ocimun basilicum* L.), hojas y frutos de Higuerilla (*Ricinus communis* L.).

3.2.2. Materiales de laboratorio utilizados para la obtención de extractos.

Matraz Erlenmeyer, licuadora, pipeta de 5 mL, probetas de 100 mL, vaso de precipitación 1000 mL, baquetas, termómetro, frascos Gerber, tijera de podar, cuchillo, pinzas, malla metálica,, embudos de plástico y de vidrio, franela, fundas plásticas, algodón, papel filtro número 1, tela melanine, alcohómetro, potenciómetro, Estufas, Rotavapor, Liofilizador, plato caliente con agitador magnético, balanza de precisión, Refrigerador.

3.2.3. Materiales utilizados para la valoración de extractos *In vitro.*

Agallas de tomate con presencia de agallamiento severo (grado 7 y 8), cajas de Petri, agujas hipodérmicas, agujas quirúrgicas, pinzas, bisturí, bandejas plásticas, puntas de micropipeta, alcohol potable e industrial, alcohol al 96%, lauryl éter sulfato de sodio, hipoclorito de sodio 1%, microtamices, Agua destilada estéril. Agua agarizada al 0.05%, mechero bunsen, varilla de agitación, vasos de precipitación de 100, envases de plástico, algodón, franela, micropipeta de 100-1000 µl, micropipeta de 10-100 µl, Autoclaves, balanza electrónica de precisión, contadores manuales, cámara de flujo laminar, cámara digital, estéreo microscopios, refrigeradores, microscopios, mechero bunsen, Sistema de purificación de agua.

3.2.4. Materiales utilizados para la valoración de los extractos en invernadero.

Sustrato 1:1:1 (tierra, arena, humus) Fundas plásticas, Baldes, pala, Guantes, Podadora, Licuadora, tamices (Nº 60, 120 y 400), platos calados, pañuelos faciales, Vasos plásticos, jeringas de 1, 5 y 10 mL, franela, Fluxómetro, materiales de escritorio, balanza de platillos, balanza de precisión, picetas, Probeta 250 mL, estéreo microscopios, esterilizadora de sustrato 1:1:1 (suelo, humus y arena) semillas de tomate var. Caribe.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. Metodología Para el Primer Objetivo.

"Evaluar el efecto de extractos estandarizados de tres plantas nativas con propiedades nematicidas con diferentes concentraciones en el control del nematodo agallador del tomate *Meloidogyne incognita*, en condiciones *in vitro".*

3.3.1.1. Recolección de muestras vegetales.

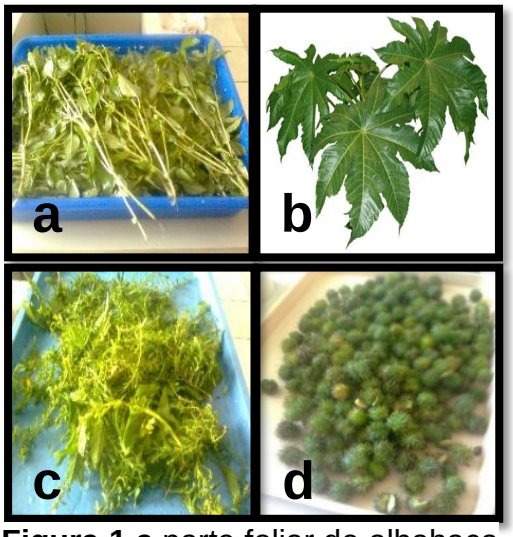


Figura 1.**a**.parte foliar de albahaca .**b**. hojas de higuerilla**. c.** parte foliar de paico. **d.** frutos de higuerilla. Loja 2015.

Se recolectaron muestras vegetales de tres plantas (paico, albahaca e higuerilla) con principios nematicidas de diferentes sectores del cantón Loja, Ecuador, según las probabilidades de componentes químicos de las plantas a evaluarse. Los órganos vegetales recolectados fueron hojas de paico, albahaca, hojas y frutos de higuerilla. Las muestras una vez colectadas se colocaran en fundas de papel para luego ser llevadas a un lugar aireado y bajo sombra. Las hojas y frutos colectados se sometieron a lavado y desinfectado con agua de grifo e hipoclorito de sodio al 1% por un lapso de 5 minutos.

3.3.1.2. Obtención de extractos acuosos e hidroetanólicos

3.3.1.2.1. Extractos acuosos. Se obtuvieron con muestras foliares de albahaca, paico e higuerilla. Se tomaron 900 g de hojas verdes, se cortaron en trozos de 0,5 cm y se depositaron en un vaso de precipitado, luego se mezclaron con 200 mL de agua destilada y se trituraron en una licuadora a velocidad media durante 30 seg, la solución se dividió en tres partes iguales y se colocó en matraces erlenmeyer, para llevar a cocción sobre un plato caliente con agitador magnético a temperatura de 60ºC por 20 minutos. Luego se realizó el filtrado de la mezcla primero por una malla metálica (5 cm) después por una tela de melanine,

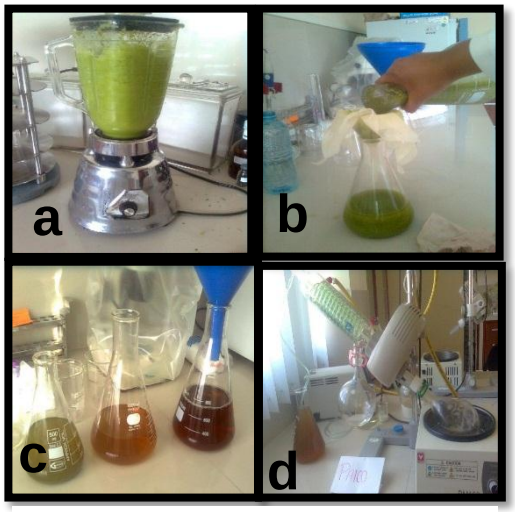


Figura 2. a. Licuado. **b.** filtrado con malla metálica. **c**. filtrado con papel filtro. **d**. Proceso de rotaevaporación. Loja 2015.

luego se filtró en embudo plástico con un tapón de algodón, finalmente se filtró por papel filtro Nº 1.

La solución obtenida fue considerada como estándar (100%); se sometió a un proceso de rotoevaporación al vacío, para su respectiva concentración a una temperatura de 50ºC, para finalmente liofilizar el extracto concentrado, con ayuda de un equipo liofilizador.

En los extractos liofilizados, se determinó los siguientes valores de pH: paico= 6.04, albahaca = 6.31, higuerilla = 4.84, fruto higuerilla = 5.9. Los extractos se conservaron en refrigeración a 4° C en frascos color ámbar para impedir que la luz afectara los compuestos de los extractos.

3.3.1.2.2. Extractos hidroetanólicos. En muestras de frutos verdes maduros de higuerilla, lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio al 1% durante 5 min, posteriormente se trituraron 636 g en una licuadora que contenía 350 mL de solución de etanol absoluto de 96% de pureza (pa) diluida al 70% durante 2 min a velocidad media. El material licuado se dividió en tres partes iguales para ser incorporados a los matraces erlenmeyer, se colocó en un agitador magnético, cada matraz está cubierto con papel filtro, en un lugar fresco por el lapso de 3 días. Para la eliminación de los residuos sólidos, se realizó el filtrado pasando la mezcla primero por una malla metálica, después por una tela de melanine, luego en embudo plástico con un tapón de algodón y finalmente por papel filtro Nº 1. Para la separación del alcohol, el filtrado se

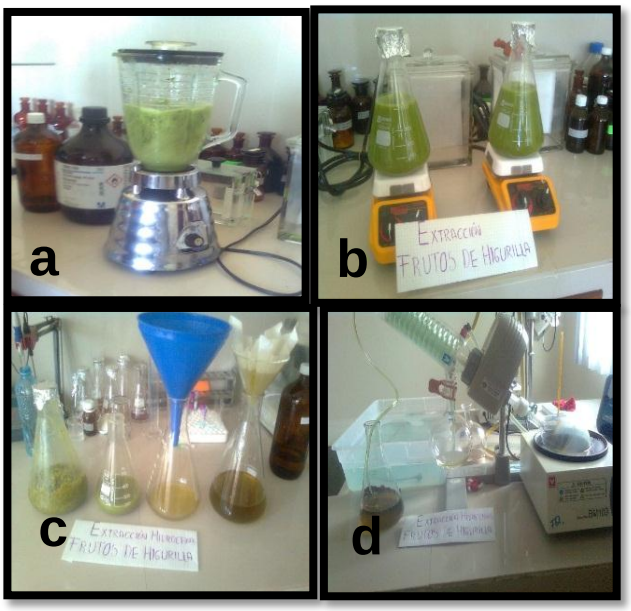


Figura 3. a. Licuado. **b**. Extracto en agitador magnético. **c**. Filtrado. **d.** Proceso de rotaevaporación. Loja 2015.

sometió a rotoevaporación al vacío, para su respectiva concentración a una temperatura de 45 ^{O}C.

3.3.1.3. Obtención de nematodos

Figura 4 . Cultivo de tomate muestreado en el sector Chichaca. Loja 2015

Se realizó muestreos en varios cultivos de tomate en su fase final con síntomas de ataque de nematodos, de varios sectores del cantón Catamayo, en las cuales se extrajo plantas con raíces agalladas y seleccionando las de mayor tamaño sin síntomas de pudrición.

Figura 5. Raíz de tomate con presencia de agallas.

Las raíces con grado de agallamiento 7 y 8, fueron procesadas siguiendo la metodología de Taylor y Sasser, (1983), que consiste en lavado y desinfectado con hipoclorito de sodio al 1% por sumersión de 2 a 3 minutos, se realizó tres enjuagues con agua destilada estéril. Se extrajeron 600 masas de huevos bajo un estéreo microscopio, para su eclosión a temperatura ambiente fueron distribuidas en una relación de 40 masas de huevos por cada micro tamiz dentro de cajas Petri con 20 ml de agua agarizada al 0.05%,. La cuantificación, se hizo del volumen total de la suspensión agua nematodo recogida a las 72 h, tomando 10 alícuotas de 1 mL; el promedio se relacionó al volumen de agua recogido 52 mL mediante regla de tres simple.

3.3.1.4. Evaluación de los extractos sobre *Meloidogyne incognita* en condiciones *in vitro.*

3.3.1.4.1. Evaluación de los extractos

- **Preparación de los extractos**. Los extractos acuosos, se prepararon en 5 concentraciones: 0.01, 0.03, 0.06, 0.08, y 0.10 gr/100 mL de agua, que consistió en pesar en vasos de precipitación, las cantidades requeridas de los extractos en una balanza analítica (precisión=0,0001,) se agregó 0.5 mL de etanol al 96%, Lauryl éter sulfato de sodio como emulsionante, y agua destilada estéril, mientras se agita suavemente, hasta enrasar a 100 mL. La preparación de los extractos hidroetanolicos se partió del extracto liofilizado, al cual se le agregó agua destilada en cantidades adecuadas, se prepararon las siguientes concentraciones: 0.01 0.03, 0.06, 0.08, y 0.10 gr/100 mL adicionalmente se incluyó dos testigos uno con agua destilada y el otro con agua destilada + etanol del 96% a la máxima concentración (0.1)+ lauryl éter sulfato de sodio.

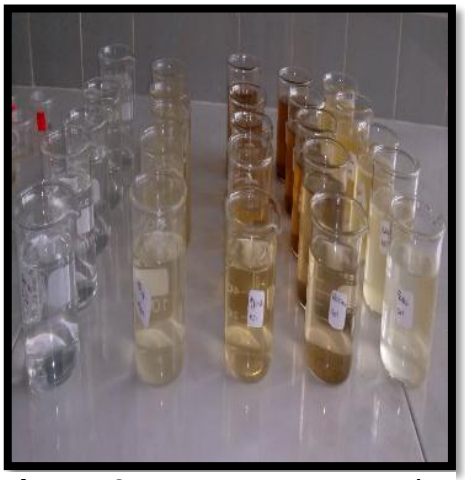


Figura 6. Extractos preparados para montar bioensayo Loja 2015.

- **Montaje del bioensayo en condiciones *in vitro***

Para la evaluación se implementó un bioensayo que consistió en colocar 2 mL de cada concentración en cápsulas de plástico de 3.2 cm de diámetro. En cada capsula se agregaron 50 J_2. Cada concentración fue replicada 4 veces para un total de 200 J_2 por cada concentración evaluada. Las capsulas fueron colocadas de forma completamente aleatoria en el Laboratorio de Sanidad Vegetal a temperatura ambiente

Figura 7. Montaje de ensayo *in vitro,* Laboratorio de Sanidad Vegetal. Loja 2015.

Diseño experimental

Se utilizó un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA), con 20 tratamientos, 1 testigo y 4 repeticiones, como se describen en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos (extractos) evaluados en ensayo *in vitro*. Loja. 2015.

Tratamiento	***Extracto***	***Concentración***
1	Paico	0.01 g
2	Paico	0.03 g
3	Paico	0.06 g
4	Paico	0.08 g
5	Paico	0.10 g
6	Albahaca	0.01 g
7	Albahaca	0.03 g
8	Albahaca	0.06 g
9	Albahaca	0.08 g
10	Albahaca	0.10 g
11	Hojas de Higuerilla	0.01 g
12	Hojas de Higuerilla	0.03 g
13	Hojas de Higuerilla	0.06 g
14	Hojas de Higuerilla	0.08 g
15	Hojas de Higuerilla	0.10 g
16	Frutos de Higuerilla	0.01 g
17	Frutos de Higuerilla	0.03 g
18	Frutos de Higuerilla	0.06 g
19	Frutos de Higuerilla	0.08 g
20	Frutos de Higuerilla	0.10 g
21	Testigo 1	nematodos, emulsionante, etanol.
22	Testigo 2	nematodos, emulsionante, etanol.
23	Testigo 3	nematodos, emulsionante, etanol.
24	Testigo 4	nematodos, emulsionante, etanol.
25	Testigo 5	Nematodos, emulsionante, etanol.
26	Control	Sin extracto solo nematodos

- **Evaluación del Bioensayo.** se observó a mortalidad a las 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64 y 72 horas, se cuantificó nematodos muertos y vivos, Para determinar la mortalidad de los nematodos, a aquellos que presentaban inmovilidad fueron estimulados con una seta de cerdo en la región cefálica y los que luego del estímulo no se movieron, fueron considerados muertos.

Figura 8. Evaluación de ensayo *in vitro*, Laboratorio de Sanidad Vegetal. Loja 2015.

3.3.2. Metodología para el segundo objetivo

"Validar el efecto de los extractos de tres plantas nativas con propiedades nematicidas en el control del nematodo agallador del tomate *Meloidogyne incognita,* en condiciones de cultivo en invernadero".

3.3.2.1. Preparación de semillero

El semillero se preparó en bandejas germinadoras de alveolos con turba estéril como sustrato en las que se depositaron semillas de tomate *var.* Caribe. Las plántulas de cuatro semanas se trasplantaron a fundas de polietileno de 12 x 16 cm que contenían un sustrato 1:1:1 (suelo, humus y arena) desinfectado con vapor de agua a 120° C por dos horas.

Figura 9. Semillero de tomate *var.* Caribe Loja 2015.

3.3.2.2. Obtención del inóculo de nematodos.

Figura 10. Picado de raíces para la obtención de nematodos. Loja 2015

Previamente se obtuvo raíces agalladas, las cuales se lavaron y desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1 % por 3 minutos, se picó en fragmentos de 1 cm, luego se licuó y se tamizó; recogiéndose el filtrado del tamiz No. 100 en un volumen de agua de 30 litros del cual se tomaron 30 alícuotas de 2 mL para cuantificar la población promedia por mL, con cuyos datos se estimó una concentración de 2000 larvas J_2/planta, contenida en un volumen de 60mL.

Los tratamientos del ensayo en invernadero fueron las concentraciones: 0.06, 0.08, 0.10 las cuales obtuvieron mayor efectividad en los ensayos *in vitro.* La inoculación de los nematodos se realizó una semana después del trasplante con una población aproximada de 2000 larvas J_2 /planta, utilizando un volumen de 60 mL por planta. Los extractos fueron aplicados a los tres días y a los 28 después de la inoculación de los nematodos con un volumen de 100 mL de cada concentración colocado en la zona de la rhizosfera.

Figura 11. a. Inoculación de nematodos. **b**. Aplicación de extracto. Loja 2015.

Se garantizó el manejo agronómico del cultivo: riegos, podas, tutorado, enmiendas orgánicas a base humus, controles fitosanitarios manuales y químicos utilizando Cypermetrina para el control de mosca blanca. El desmontaje del ensayo se realizó a las 8 semanas de establecido el cultivo, en la etapa de floración.

3.3.2.3. Diseño experimental

El ensayo se desarrolló en un DCA, con 13 tratamientos 15 repeticiones (plantas). Los tratamientos evaluados se describen en el siguiente cuadro.

Cuadro 2. Tratamientos utilizados en el control del nematodo agallador, en condiciones de invernadero. Loja. 2015.

Tratamiento	*Extracto*	*Concentración*
1	Paico	0.06 g
2	Paico	0.08 g
3	Paico	0.10 g
4	Albahaca	0.06 g
5	Albahaca	0.08 g
6	Albahaca	0.10 g
7	Hojas de Higuerilla	0.06 g
8	Hojas de Higuerilla	0.08 g
9	Hojas de Higuerilla	0.10 g
10	Frutos de Higuerilla	0.06 g
11	Frutos de Higuerilla	0.08 g
12	Frutos de Higuerilla	0.10 g
13	Testigo	Solo nematodos

3.3.2.4. Variables evaluadas

La evaluación se llevó acabo después de dos meses de establecido el cultivo, se tomaron las siguientes variables: altura de planta, peso de biomasa foliar, peso del área radical, índice de agallamiento, población de J_2 por 10 g de raíz y 100 cm^3 de suelo, según metodologías descritas por Solano *et al.* (2014).

- **Biomasa radical (g).** Se tomó el peso en 15 plantas por tratamiento, pesando la biomasa radical fresca en balanza digital.
- **Biomasa foliar (g).** Se tomó el peso en 15 plantas por tratamiento, pesando la biomasa foliar fresca en balanza digital.
- **Altura de plata (cm).** Se tomó las medidas de 15 plantas por tratamiento etapa de floración.
- **Índice de agallamiento**. Mediante la comparación visual de las raíces agalladas de 15 plantas por tratamiento, utilizando la clave cualicuantitativa de 10 grados de Brigde y Page (198), ver (Anexo 1-14).

- **Población de J_2/100 cc de suelo**. Se recogió 100 cc de suelo de las rizosfera de las plantas evaluadas, se homogenizó en una sola muestra, de la cual se tomó 100 cc para la recuperación de nematodos por el método del plato calado, tres platos por cada tratamiento, incubadas al ambiente por 96 horas, humedeciendo cada 24 horas el suelo para evitar el desecamiento, de los cuales se obtuvo un promedio para determinar la población final.

- **Población de J_2/10 g de raíces.** De las plantas evaluadas, se cortaron segmentos de raíces entre 1 y 2 cm; se homogenizó el material y se pesó al azar 10 g de raíces. Se licuó con 200 mL de agua en dos intervalos de 5 segundos. El material licuado se pasó por los tamices No. 60, No. 120 y No. 400; en los tamices No. 60 y No. 120 se realizó un enjuague con agua corriente en chorros de ducha durante 1 minuto; en el tamiz No. 400 se arrastró el material contenido con agua utilizando una piceta y se recogió en un vaso de precipitación entre 40 y 60 mL de la suspensión agua nematodos; de esta suspensión se tomaron 10 alícuotas de 2 ml para la cuantificación de J_2; se relacionó esta cuantificación mediante regla de tres simple al volumen total obtenido de líquido del tamiz No. 400 para determinar la población de J_2 final en raíces por cada tratamiento

- **Análisis estadístico para ensayo in vitro e invernadero.**
  Se ordenaron los datos en el programa Mocrosoft Excel 2010 de cada una de las variable evaluadas en las dos fases, para ser introducidas al Minitab 16, con los datos en el programa se realizó un análisis de varianza simple y comparaciones entre tratamientos con Tukey al 5% proporcionando como respuesta los resultados que se muestran en los cuadros 3,4y 5.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. EVALUACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES EN EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita IN VITRO.*

En el cuadro 3, se presenta una agrupación de las medias de los análisis de varianza realizados para cada uno de los ocho momentos de evaluación, en los cuales se puede apreciar diferencias significativas entre los tratamientos en relación a sus respectivos testigos. Desde las 8 h, todos los tratamientos provocaron un porcentaje de mortalidad progresivo proporcional al número de horas transcurridas hasta las 60 horas, a partir de las cuales este porcentaje de mortalidad se estabilizó y en las posteriores lecturas hasta los 7 días no se observó reactivación biológica de los nematodos muertos. Se evidenció, además, un marcado efecto de la concentración a la que fue utilizado cada extracto, obteniéndose mayores porcentajes de mortalidad en la medida que se incrementó dicha concentración.

De manera general, a las 60 h se presentaron los mayores porcentajes de mortalidad con los extractos de paico en un rango de 19.4% al 59.4% con las concentraciones 0,03% y 0.1% respectivamente. Los extractos de albahaca presentaron un rango de efectividad entre 42 % a 52.6% con las concentraciones 0.01% y 0.1% respectivamente. Los extractos de hojas de higuerilla alcanzaron una efectividad de 36.2% a 56.6% con las concentraciones 0.01% a 0.1% respectivamente, mientras que los extractos de higuerilla fruto obtuvieron una efectividad entre 24.2% a 54.1% con las concentraciones 0.01% a 0,1% respectivamente.

Cuadro 3. Mortalidad de larvas J_2 de M. incognita, por extractos botánicos, in vitro. Loja. 2015.

Tratamientos		*Mortalidad (%)*															
Extra	**Conc**	***8 h***		***16 h***		***24 h***		***32 h***		***40 h***		***48 h***		***60 h***		***72 h***	
	(g)	***Media***		***Media***		***Media***		***Media***		***Media***		***Media***		***Media***		***Media***	
Paico	0.01	3,7	bc	4,1	cd	6,4	cd	7,3	defg	9,3	efghi	14,2	efghi	20,4	cdef	20,4	cdef
	0.03	4	bc	5	cd	6,4	cd	8,4	defg	11,9	defghi	13,9	fghi	19,4	cdef	19,4	cdef
	0.06	3,9	abc	16,3	abc	20	abc	29	abcd	42,3	abc	41,2	abcde	47,8	abc	47,8	abc
	0.08	6	bc	25,6	a	30,1	a	48,1	a	53	a	54,9	ab	58,9	ab	58,9	ab
	0.10	5,8	abc	20,7	ab	29	ab	39,9	abc	45,8	ab	53,7	a	59,4	A	59,4	a
Alba	0.01	4,5	abc	8,6	cd	11,6	cd	22	bcdefg	28	abcdefghi	35	abcdef	42	abc	42	abc
	0.03	4,4	C	7,4	cd	13,7	cd	27,9	abcd	33,5	abcde	36,5	abcdef	35,8	abcdef	35,8	abcdef
	0.06	3,2	bc	9,4	cd	16,6	bcd	26,1	bgcdef	32,6	abcdefg	36,7	abcdef	43	abc	43	abc
	0.08	4,6	bc	8	cd	15,3	cd	29,5	abcd	35,8	abcde	38,1	abcdef	44,8	abc	44,8	abc
	0.10	5,4	abc	11,3	bcd	19,6	bcd	34,9	abc	42,9	abc	46,7	abcd	52,6	abc	52,6	abc
H.Hig	0.01	4,2	bc	6,3	cd	11	cd	22,8	bcdefg	25,5	cdefghi	26,9	cdefghi	36,2	abcde	38	abcde
	0.03	4	bc	6,5	cd	12,5	cd	26,4	abcde	30,2	abcdefgh	36,2	abcdef	38	abcdef	38,1	abcdef
	0.06	6	abc	7,8	cd	12,8	cd	27,5	abc	31,8	abcde	36,8	abcdef	38,1	abcde	36,2	abcde
	0.08	2,7	C	10,8	bcd	16,9	bcd	35,9	abc	42,6	abc	42,7	abcd	47,8	abc	47,8	abc
	0.10	3,7	C	9	cd	15,2	cd	36,6	abc	42,3	abcd	53	abc	56,6	abc	56,6	abc
F.Hig	0.01	5,3	abc	13,2	abcd	16,3	bcd	18,8	cdefg	25,9	bcdefghi	20,5	defhhi	24,2	cdef	24,2	cdef
	0.03	4,1	bc	15,6	abcd	19,2	abcd	34,1	abc	30,9	abcdefghi	34,4	bcdefgh	34,9	bcdef	34,9	bcdef
	0.06	4,9	abc	12	bcd	15,7	bcd	24,9	bcdefg	32,3	abcdef	34,9	abcdef	40,2	abcd	40,2	abcd
	0.08	10,5	ab	16	abcd	19,6	bcd	30,2	abcd	35,5	abcde	37	abcdefg	47,1	abc	47,1	abc
	0.10	12,9	A	15,9	abcd	17,8	cd	32	bcdefg	40,5	abcdef	48	abcdef	54,1	abc	54,1	abc
Test1	0.00	6,4	abc	6,4	cd	6,4	cd	5,8	fg	5,7	i	5,2	i	5,8	f	4,8	f
Test2	0.00	9,1	C	9,1	cd	9,1	d	7,6	g	4,8	zghi	4,5	ghi	4,8	def	3	def
Test3	0.00	9,8	C	9,8	cd	9,8	cd	8,8	fg	7,6	ghi	6,5	hi	5,9	ef	3,5	ef
Test4	0.00	9	C	9	cd	9	d	7,5	fg	7,3	hi	5,2	hi	5,1	ef	2,5	ef
Test5	0.00	7,9	C	7,9	d	7,9	d	6,3	efg	7,2	hi	4,1	i	3,6	ef	3,1	ef
Test absol	0.00	10,1	abc	10,1	cd	7,5	cd	8,8	fg	6,4	fghi	6,1	i	5,7	ef	5,7	ef

Medias con letras iguales, dentro de cada columna, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$).

Como se observa en el cuadro 3, los extractos que ejercieron mortalidades en larvas J_2 de *Meloidogyne incognita* sobre el 50% fueron paico, albahaca, hojas y frutos de higuerilla con la concentración del 0.10 g de extracto/100 mL de agua, estos datos se relacionan con los presentados por Vilchis, (2011), quien probó extractos acuosos de paico sobre la movilidad de larvas J_2 de *Meloidogyne sp.,* con acción nematicida; de igual forma, Quevedo *et al.* (2010) evaluó el efecto nematicida de extractos acuosos (EA) y etanólicos (EE) de paico en concentraciones de 25, 50 y 100% para EA y 0.05, 0.1, 1.0% para EE y demostró la efectividad del extracto acuoso al 100% con una mortalidad del 100%. Por su parte, Pino, (2010) probó el efecto nematicida de extractos de paico, albahaca e higuerilla en el control de *Meloidogyne incognita* y determinó que los extractos a base de hojas y tallos de paico produjeron una mortalidad del 100%, de igual forma los extractos de hojas y frutos de higuerilla produjeron iguales mortalidades en larvas J_2. Vinueza *et al.* (2006), evaluaron extractos de frutos verdes y hojas de higuerilla en concentraciones de 2%, 4%, 8%, 16%, 32% y 64% y demostraron que los frutos verdes de higuerilla a concentraciones de 32, 64 y 100% indujeron 98.9, 98.9 y 100% de mortalidad, respectivamente después de 72 h de evaluación. Al respecto, Regnault, *et al.* (2004) atribuyen a las moléculas de Citral, Citrinelol, y linalol, niveles significativos de efectividad nematicida.

Sin embargo, en el caso de la albahaca, se observan diferencias de efectividad nematicida obtenidos en este ensayo con extractos liofilizados con los que se obtuvieron altos porcentajes de mortalidad, los cuales no concuerdan con los resultados obtenidos por Pino, (2010) quien con extractos crudos de albahaca evaluó un efecto nematostático sobre *Meloidogyne* spp, *Radopholus similis* y *Pratylenchus*; lo cual evidencia que los extractos concentrados en dosis inferiores a 0.1% tienen acción nematóxica sobre *M. incognita.*

Los resultados del cuadro 3 sobre los extractos de las tres especies evaluadas tienen relación con lo que manifiesta Solano, (2014) quien afirma que el efecto de la mortalidad de varios extractos evaluados sobre *Meloidogyne incognita*, está directamente relacionado con las mayores concentración utilizadas en sus ensayos.

4.2. EVALUACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES EN EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita* EN INVERNADERO.

4.2.1. Altura de planta, biomasa foliar, biomasa radical.

En el cuadro 4 se presenta una agrupación de columnas que contienen las medias de los análisis de varianza realizados para las variables altura, biomasa foliar y biomasa radical, los cuales muestran diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al testigo.

Los extractos que más incidieron en la variable altura fueron paico, higuerilla frutos e higuerilla hojas en las mayores concentraciones del 0,06% al 0,1% en un rango de 118.3 cm a 105,5 cm con diferencias estadísticas entre ellas, con los demás extractos se observaron alturas inferiores próximas al testigo.

Los extractos con mayor incidencia en la variable biomasa foliar fueron higuerilla fruto e higuerilla hojas con sus mayores concentraciones del 0.1% con un rango de 112,8 g y 109,5 con diferencias estadísticas entre ellas, en los demás extractos se observaron valores inferiores. De igual forma, en la biomasa radical se observa un comportamiento similar de los extractos paico, higuerilla hojas e higuerilla frutos, con los cuales se determinaron los mayores pesos.

De manera general se puede concluir que los extractos de paico y de higuerilla (hoja y fruto) incidieron en un mayor desarrollo de las variables agronómicas con respecto a los demás extractos y el testigo.

Cuadro 4. Efecto de los extractos sobre variables agronómicas en plantas de tomate en invernadero, Loja, 2015.

Tratamiento	*Extracto*	*Altura de planta*	*Biomasa foliar (g)*	*Biomasa radical (g)*
1	Paico 0.06 g	118.3 a	89.8 bc	28.9 ab
12	Frutos Higuerilla 0.10 g	115.3 ab	109.5 a	9.6 g
9	Hojas Higuerilla 0.10 g	109 abc	112.8 a	27.9 abc
10	Frutos Higuerilla 0.06 g	107.5 bcd	80.3 bcde	30 ab
11	Frutos Higuerilla 0.08 g	106.7 bcd	74.1 e	17.5 ef
7	Hojas Higuerilla 0.06 g	105.5 bcd	78.1 cde	27.7 abc
5	Albahaca 0.08 g	104.7 cd	90.4 b	30.3 ab
8	Hojas Higuerilla 0.08 g	104.5 cd	80.4 bcde	16.6 f
4	Albahaca 0.06 g	100.9 cde	78.1 cde	31.3 a
2	Paico 0.08 g	99.6 cde	88.2 bcd	22.9 cde
3	Paico 0.10 g	98.3 de	77.0 de	18 ef
6	Albahaca 0.10 g	97.7 de	87.8 bcd	25.6 bcd
13	Testigo	93.7 e	86.8 bcd	20.8 def

Las Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$)

Como se observa en el cuadro 4 los extractos que mejor incidencia obtuvieron para la variable altura de planta fue paico con 0.06 g, frutos de higuerilla con 0.10g, de igual forma en la variable biomasa foliar estos extractos fueron los mejores adicionando al extracto de hojas de higuerilla 0.10 g, para la variable biomasa radical los mejores extractos fueron paico 0.06 g y albahaca 0.06 g.

No obstante, se demuestra un efecto alelopático negativo del extracto fruto de higuerilla a la mayor concentración (0.1%) que se evidenció en la disminución del tamaño y peso de raíces de las plantas frente a las de los demás tratamientos, posiblemente debido a la influencia de la composición química del extracto indicado. Estos resultados se corresponden con los obtenidos por Guayllas (2014) quien menciona que los tratamientos con *Ricinus communis*, presentaron diferencias estadísticas con el testigo, con valores promedios de las variables agronómicas inferiores al mismo; al respecto De Souza *et al.* (2007), comprobaron que los extractos de hojas secas de *R. communis* en diferentes concentraciones tienen efecto alelopático negativo en el crecimiento de plántulas de lechuga, efecto que lo atribuyen posiblemente a la presencia de la ricina.

En relación con estos resultados, la Sociedad Internacional de Alelopatía (1996) define a la alelopatía como cualquier proceso que involucre metabolitos secundarios producidos por plantas, algas, bacterias y hongos, que influyan en el crecimiento y desarrollo de sistemas biológicos y agrícolas. Sampietro (2003), manifiesta que en todo fenómeno alelopático existe una planta (donadora) que libera al medio ambiente por una determinada vía (volatilización, lixiviación, exudados radiculares, descomposición de residuos) compuestos químicos denominados sustancias alelopáticas, las cuales al ser asimiladas por otra planta (receptora) provocan un efecto perjudicial o benéfico sobre la germinación, crecimiento o desarrollo de esta última. Además, muchas sustancias con actividad alelopática tienen efectos benéficos a muy bajas concentraciones y, superado un determinado umbral, actúan negativamente sobre la planta receptora.

En cuanto al extracto de albahaca en su máxima concentración 0.1% se evidencia una mayor incidencia en las variables agronómicas evaluadas con respecto a las concentraciones bajas 0.06% y 0.08%, resultados que se ubican en la misma tendencia de valores obtenidos por Guayllas, (2014) en su trabajo con *Ocimum basilicum*, lo cual podría asociarse a un efecto alelopático negativo provocado por los compuestos monoterpenoides como el cineol, alcanfor y β-pimeno; lo cual confirma el efecto alelopático negativo de los compuestos de la especie en mención, conforme lo plantea Sampietro, (2003).

4.2.2. Índice de agallamiento, población de J_2 en raíces y en suelo.

En el cuadro 5, se presentan los análisis de varianza para cada una de las variables, las cuales muestran diferencias estadísticas entre los tratamientos con respecto al testigo.

En la variable índice de agallamiento, se puede apreciar que los extractos de higuerilla fruto al 0.08% y 0.1% presentaron los mayores niveles de efectividad con un índice de agallamiento de 4.5 lo cual representa una reducción de aproximadamente 50% respecto al testigo (8,3).

Los datos analizados para la variable población de J_2 en 10 g de raíces, permiten determinar la efectividad de los extractos de higuerilla fruto con la concentración de 0,1% en la reducción de la población de juveniles a 152 J_2 por 10 g, con una diferencia altamente significativa respecto al testigo (2087.9). La misma tendencia de efectividad de los extractos higuerilla fruto al 0,08% e higuerilla hoja al 0,08% se observaron en la reducción de la población de nematodos del suelo hasta 440,7 J_2/ 100 cc y 484.1, respectivamente.

De manera general se puede determinar que los extractos de higuerilla (hoja y fruto) demostraron los mayores niveles de efectividad en la reducción del índice de agallamiento y las poblaciones juveniles J_2 tanto en raíces como en suelo, con diferencias significativas en relación a los demás tratamientos y el testigo. En segundo lugar de efectividad se ubicaron los extractos de paico y albahaca, específicamente en la reducción de poblaciones J_2.

Cuadro 5. Efecto de los extractos en la formación de agallas por *M. incognita* en raíces, población J_2 en raíces y suelo en condiciones de invernadero. Loja. 2015.

Tratamiento	***Extracto***	***Índice de agallamiento***	***Población de J_2 en 10g de raíces***	***Población de J_2 en 100 cc de suelo***
13	Testigo	8.3 a	2087.9 a	2558.7 a
1	Paico 0.06 g	5.9 c	1719.7 b	777.9 de
5	Albahaca 0.08 g	6.5 bc	1303.6 c	824.9 d
4	Albahaca 0.06 g	7.1 ab	1179.6 c	1778.7 b
8	Hojas Higuerilla 0.08 g	6.1 bc	1034.7 d	484.1 ef
10	Frutos Higuerilla 0.06 g	6.7 bc	787.6 e	583.4 def
11	Frutos Higuerilla 0.08 g	4.5 d	515.5 f	440.7 f
2	Paico 0.08 g	6.3 bc	507.4 f	753.1 de
6	Albahaca 0.10 g	6.3 bc	467.9 f	726.1 def
9	Hojas Higuerilla 0.10 g	6.2 bc	452 f	596 def
7	Hojas Higuerilla 0.06 g	6.6 bc	402.4 f	1348.7 c
3	Paico 0.10 g	6.6 bc	263.3 g	710 def
12	Frutos Higuerilla 0.10 g	4.5 d	152 g	654 ef

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, según Tukey ($p \leq 0.05$).

Como podemos observar en el cuadro 5, los extractos que tuvieron el menor índice de agallamiento fueron; frutos de higuerilla con 0.10 g, 0.08 g y paico con 0.10 g, mientras que en la variable población de J_2 en 10 g de raíces las menores

poblaciones se evidenciaron en los tratamientos con frutos de higuerilla 0.10 g. y paico 0.10 g, mientras que en la población de J_2 en 100cc de suelo las menores poblaciones se mostraron al utilizar los extractos de hojas de higuerilla con 0.08 g, frutos de higuerilla con 0.08 g y 0.10 g. Estos resultados se asemejan con los presentados por Pino, (2009), quien probó extractos a base de paico e higuerilla, en dosis de 6mL/planta, 10mL/planta y 14mL/planta, en el control de *M. incognita* en el cultivo de tomate de mesa, con reducción de los índices de agallamiento de 4.0, 3.0 y 2.0 grados, respectivamente, mientras que con el extracto de higuerilla en las mismas concentraciones obtuvo índices de agallamiento de 4.0 y 3.0 con las mayores concentraciones indicadas, mientras que en la variable población de J_2 en raíces, el extracto de higuerilla con los volúmenes más altos redujo considerablemente la población.

Los resultados obtenidos en esta investigación, evidencian una reducción considerable de los índices de agallamiento, población J_2 en suelo y en raíces, coincidente con los resultados de Guayllas, (2014) y Solano, (2014) quienes obtuvieron buenos niveles de efectividad nematicida sobre *M. incognita* utilizando material foliar fresco de *Ricinus communis,* actividad que se atribuye a varios elementos tóxicos en las semillas y cáscaras (Moshkin, 1986; Carrillo-Rodríguez *et al.,* 2007), principalmente dos lectinas: la ricina y la ricinus-aglutinina, que tienen capacidad para adherirse fuertemente a los anfidios de los nematodos fitoparásitos y modificar así su comportamiento quimiotáctico (Marbán *et al.,* 1987; Rich *et al.,* 1989).

V. CONCLUSIONES

- Las evaluaciones *in vitro*, permitieron determinar diferencias altamente significativas entre los 20 tratamientos y el testigo, destacando con altos porcentajes de mortalidad de larvas J_2 de *M. incognita*, los extractos de paico, hoja y fruto de higuerilla.

- En condiciones de invernadero, los mejores tratamientos por su efecto en la reducción de poblaciones de larvas J_2 de *M. incognita* tanto en raíces como en suelo fueron los extractos acuosos de las hojas de higuerilla y los extractos hidroetanólicos de frutos de higuerilla lo cual confirma la acción nematicida de esta planta.

- Se evidenció una correlación positiva entre la reducción de poblaciones J_2 en raíces y suelo y el comportamiento agronómico de altura de planta, biomasa foliar y biomasa radical con los extractos acuosos de paico e higuerilla.

- Los extractos hidroetanólicos de higuerilla demostraron una correlación positiva entre la reducción de poblaciones J_2 y la altura de planta y biomasa foliar, sin embargo se observó un efecto alelopático negativo expresado en una escasa producción de la biomasa radical.

- Los niveles de efectividad obtenidos en los ensayos in vitro como in vivo, con los extractos de paico e higuerilla hoja y fruto, permiten sugerir su utilización como alternativa de control del nematodo agallador *M. incognita*, en condiciones similares a las investigada.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones a nivel de campo con las concentraciones de los extractos que mejor resultado se obtuvo tanto en las pruebas *in vitro* e invernadero, con el fin de validar su eficacia en control del nematodo agallador, en zonas productoras de tomate.

- Realizar estudios químicos en los extractos de las plantas estudiadas para la separación de las moléculas que actúan como ingredientes activos nematicidas.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, G. 2005. Introducción a la fitopatología. Libro. LIMUSA. MÉXICO.

2. Ajayi, I.A; Jonathan, S.G; Adewuyi, A; Oderinde, R.A. 2008. Antimicrobial Screening of the Essential Oil of Some Herbal Plants from Western Nigeria. World Applied Sciences Journal 3(1):79-81.

3. Alonso, C. 2009. Plantas medicinales. Revista. Revista Ciencia y Tecnología. Callao. Perú. ISSN. 2070-089X.

4. Álvarez, P; Paccha, J. 2011.Control de mosca blanca y nematodo agallador mediante extractos estandarizados de plantas con propiedades insecticida-nematicida, en el cultivo de tomate de mesa *Solanum lycopersicum L.* Tesis de Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Loja –Ecuador.

5. Andreu Rodríguez, C., M; Gómez Sousa J., R. 2008. Sanidad vegetal. Cuba. 113-129 p.

6. Arboleda, F., Guzmán, O., Restrepo, J. 2010. Efecto in vitro de extractos acuosos de Higuerilla (*Ricinus communis* Linneo) sobre el nematodo barrenador [radopholus similis (cobb) thorne]. Tesis. Universidad de Caldas. Caldas. Colombia. ISSN. 0568-3076.

7. Arboleda, F., Guzmán, O., Restrepo, J., 2010, Efecto *in vitro* de extractos acuosos de higuerilla (*Ricinus communis* Linneo) sobre el nematodo barrenador [*Radopholus similis* (COBB) THORNE], Universidad de Caldas. Colombia.

8. Barajas. J. 2009. Propiedades Plaguicidas en cinco especies de género *tagetes.* Tesis para obtener el grado de Maestro en Manejo Agroecológico de plagas y enfermedades. Yautepec, Morelos.

9. Bergougnoux, V. 2014. The history of tomato: From domestication to biopharming. Biotechnology Advances 32(1): 170–189.

10. Briceño, S., Aguilar, M., Villegas, G 2013. Cultivo de albahaca Edición N° 1Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México. 33p.

11. Bridge, J. y Page, S.L.J. 1980. Estimation of root-knot nematodes infestation levels on roots using a rating chart. Tropical Pest Management 26: 296-298.

12. Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, Fitoquímica. Plantas Medicinales. España. Acribia, S. A.

13. CAB International. 2007. Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK.

14. Carrillo, J., García, R., Allende, R., Márquez, I., Cruz, J. 2013. Manejo del nematodo agallador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas, en Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 2(18).

15. Carrillo, R, J.C; Vásquez, O, R; Ríos,D, A; Jerez,S, M.P; Villegas, Y. 2007. Extractos vegetales para el control de plagas del follaje del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Oaxaca, México. Instituto tecnológico de los Valles de Oaxaca. Oaxaca, México. 5 p.

16. Castro, L, I; Diez, R, M.A; López, P, J.A; Díaz, V, L; Bello, A. 2011. Biodesinfección de suelos en producción ecológica. Dossier. Sociedad Española de Agricultura Ecológica. 1era edición. 56 p.

17. Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Annual Review of Phytopathology 40: 221–49.

18. Ciancio, A.; K. G. Mukerji. 2007. General Concepts in Integrated Pest and Disease Management. Canada, Springer. 181-184 p.

19. Coast, W. 2008. Los pesticidas y su salud. Environmental Law. Libro. 1^{era} Edición 2-3 p.

20. Curtis, M.C., Robinson, A.F. Perry, R.N. 2009. Chapter 6: Hatch and Host location. In Root- Knot Nematodes (Eds. Perry, R.N., Moens, M. Starr J.L.). CABI, U.K., pp. 139-163.

21. De Waele, D. Elsen, A. 2007. Challenges in tropical plant nematology. Annual review of Phytopatology 45:457-485.

22. De Souza, C; Copstein, C; Maculan, K; Da Silva, M; Bobrowski, V. 2007. Alelopatía do Extracto de Folhas Secas de Mamona (*Ricinus communis* L.). Nota científica. Revista Brasileira do Biociências. V. 5, supl. 2. Porto Alegre. 747-749 p.

23. Díaz, F; Serrato, M. 2012. Composición del Aceite Esencial de *Tagetes parryi* A. GRAY. Rev. Vol. 34 (2). México.

24. Díez, M.A; López, J.A; Urbano, P; Bello, A. 2010. Biodesinfección de suelos y manejo agronómico. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. España. 121p.

25. Duke, J. 2008. Phytochemical data base. http://www.ars-grin.gov/duke.

26. ESPAC, 2011. Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua Quito-Ecuador

27. FAO. 2014. FAOSTAT Statistical Database 2014. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.

28. Fierro, A. 2009, Efecto sobre Meloidogyne hapla Chitwood, 1949 de extractos acuosos de ruda (*Ruta graveolens L.).* menta (Mentha x piperita L.) y paico *(Chenopodium ambrosioides L.).* Tesis. Universidad Austral de Chile. Chile.

29. Gadano AB, Gurni AA, Carballo MA. 2006. Argentine folk medicine: Genotoxic effects of Chenopodiaceae family. J Ethnopharmacol. 103(3):246-51.

30. Gebhardt, P.; Thomas, R. 2012. Nutritive value of foods. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service: Home and Garden Bulletin, No. 72, Beltsville, Maryland.

31. Greco, N. Di Vito, M. 2009. Population dynamics and damage levels. In Root-Knot Nematodes (Eds. Perry, R.N., Moens, M. and Starr J.L.). CABI, U.K., pp. 46-69.

32. Guayllas, N. 2014. Evaluación de diferentes fuentes de materia orgánica para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Kofoit and White, 1919) Chitwood, 1949 en tomate de mesa.

33. ICA. 2014. Plantas aromáticas y medicinales, enfermedades de importancia y usos terapéuticos. Guía. Produmedios. Bogotá – Colombia. 48 p.

34. INEC. 2004. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. III Censo Nacional Agropecuario. Resultados Nacionales y Provinciales. Ecuador.

35. Hunt, D.J.; Luc, M.; Manzanilla, R. 2005. Identification, morphology and biology of plant parasitic nematodes. En: Luc, M.; Sikora, R. A.; Bridge, J. (Eds.). “Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, UK. pp. 11-52.

36. Jamali A, Kouhila M, Mohamed L, Jaouhari J, Idlimam A, Abdenouri N. 2006. Sorption isotherms of *Chenopodium ambrosioides* leaves at three temperatures. J Food Engineering. 72(1):77-84.

37. Jano, F. 2006. Cultivo y producción de tomate. Ediciones RIPALME, Lima, Perú. 136 p.

38. Johnson, S; Morgan, D.E; Peiris, C.N. 1996. Development of the major triterpeniods and oil in the fruit and seed of neem (Azadirachta indica). Annals of Botany 78: 383-388.

39. Karr, L.L., Drewes, C.D. y Coats, J.R. 1990. Toxic effects of d-limonene in theearthworm Eisenia foetida (Savigny). Pesticide Biochemistry and Physiology 36: 175 - 186.

40. Karssen, G.; Moens, M. 2006.Taxonomy and Principal Genera of Root-Knot Nematodes. En: Perry, R.; Moens, M. (Eds). “Plant Nematology” Part I. CAB International, Wallingford, UK. Pp. 60-90.

41. Kirkegaard, J.A; Akiew, S; Pattison, T; Young, A; Prior, L. 2008. Undestandin mechanism of plant pest suppression using Brassica green manures. Proceedings of 3th International Biofumigation Symposium. Canberra, Australia, 21-25 July 2008. 21 p.

42. Lazzeri, L; Leoni, O; Manici, L.M. 2004. Biocidal plant dried pellets for biofumigation. Industrial Crops and Products, 20: 59-65 p.

43. Leal, D. 2009 “Caracterización Morfométrica de cinco ecotipos de higuerilla *(Ricinus communis*) en la ESPOL “Campus Gustavo Galindo””.

44. Maggi, M. 2004. Insecticidas Naturales. Laboratorio de Química Fina y Productos Naturales. Agencia Córdoba Ciencia - Unidad CEPROCOR. Córdova-España. 8p.

45. Marbán, N; Jeyaprakash, A; Jansson, H.B; Damon, Jr. R.A; Zuckerman, B. 1987. “Control of root-knot nematodes on tomato by lectins”. Journal of Nematology, No. 19. 331-335 p.

46. Mendoza, D., 2010. Identificación y evaluación de agentes microbiales nativos como potenciales biocontroladores *de Meloidogyne spp, Rotylenchulus reniformis y Pratylenchus spp, en* tomate *(Lycopersicon esculentum Mill.)*Santa Ana –Manabí Ecuador.

47. Missouri Botanical Garden. 2015. “Trópicos”. Missouri Botanical Garden. Missouri-EEUU. Fecha de consulta 22 de septiembre 2015. Disponible:http:/www.trópicos.org/.

48. Moens, M., Perry, R.N. and Starr, J.L., 2009. *Meloidogyne* species- a Diverse Group of Novel and Important plant parasites. In: Root-Knot Nematodes (Eds. Perry, R.N., Moens, M. Starr, J. L.). CABI, U.K., pp. 8-9.

49. Montes, R. Flores, H. 2011. La alelopatía como base científica para el manejo de nematodos fitoparásitos. En: Rodríguez-Hernández, C., López-Olguín, J. F. y Aragón-García, A. (Eds.). Alternativas ecológicas contra plagas. Agricultura sostenible 7. Colegio de Postgraduados y Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, pp. 167-182.

50. Moshkin, V.A. 1986. “Economic importance and regions of cultivation of castor”. In: Moshkin, V.A. (ed.). Kolos. Moscow. Ed. Castor. 1-5 p.

51. Navarro, F., Vera, C., Zavaleta, E., Sánchez, P. 2002. Aplicación de enmiendas orgánicas para el manejo de *Nacobus aberrans* en tomate. Colegio de Postgraduados. Revista Nematrópica. 32(2). Montecillo – México. 12p.

52. Nelson, G., Múnera, G. 2003. Efecto de extractos de 10 plantas sobre la actividad de juveniles de *M. incognita* raza 2 en condiciones de laboratorio. Medellín Colombia. *Nematrópica* (33): 112- 113.

53. Perry, R. Moens, M. Starr, 2009. Root-Knot nematodes. CABI. Oxfordshide, U.K., 520 pp.

54. Pino, V. 2010. Efecto de extractos vegetales en la reducción poblacional de *Meloidogyne spp., Rotylenchulus reniformis y Pratylenchus spp*., en tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*.). Babahoyo-Ecuador. Tesis Ing. Agropecuaria. Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Ingeniería Agropecuaria. p 7- 16.

55. Quevedo, O., Crozzoli, R., Perichi, G. 2010. Uso de extractos acuosos y etanólicos de plantas para el control de *Meloidogyne enterolobii*. (Nematoda: Tylenchida). Fitopatol. Venez. Maracay – Venezuela. 23 (2). 9 p.

56. Quezada, C; Agurto, G. 2012. Efecto de extractos estandarizados de plantas nativas con propiedades insecticidas nematicidas para el control de cogollero y nematodo agallador en el cultivo de tomate de mesa. . Tesis de Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Loja –Ecuador.

57. Regnault, R.C; Bernard, J.R; Charles, V. 2004. Plantas nematicidas y plantas resistentes a los nematodos. Biopesticidas de origen vegetal. 191-234 p.

58. Revelo, J. 2002. Nematodos parásitos de las plantas. Apuntes de la Cátedra de Fitopatología.

59. Revelo, J; Cazco, C; Castillo, N; Sandoval, S; Sánchez, G; Lomas, L; Corrales, A. 2009. “Nematodo del rosario de la raíz” (*Nacobbus*

aberrans) y “nematodo del nudo de la raíz” (*Meloidogyne incognita*): epidemiología.

60. Rich, J.R; Rahi, G.S; Opperman, C.H; Davis, E.L. 1989. “Influence of the castor bean *(Ricinus communis*) lectin (ricin) on motility of Meloidogyne incognita”. Nematropica, No. 19. 99-103 p.

61. Rojas, M; Sánchez, Y; Abreu, Y; Espinosa, I; Correa, T; Pino, O. 2012. Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *Genovese* L. Revista Protección Vegetal, Vol. 27 (2): 130-134.

62. Romero M., Songor Y. 2003. Control biológico del nematodo agallador de las raíces *Meloidogyne* spp. con la bacteria *Pausteria penetrans* en Catamayo. Universidad Nacional de Loja. Tesis Ing. Agr. Carrera de Ingeniería Agronómica. 4-14 p.

63. Sampietro, D. 2003. Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importancia. Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán. Argentina. 1-25 p.

64. SENPLADES. 2012. Plan Nacional de Desarrollo 2012. Secretaria Nacional de Planificación y Desarrollo, Quito, Ecuador

65. Silva, G; Lagunes, A; Rodríguez, J.C; Rodríguez, D. 2002. Insecticidas vegetales: Una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. Costa Rica. Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología, Nº 66: 4-12.

66. Silva-Aguayo, G. 2002 Insecticidas vegetales. Universidad de la Concepción Chillan, Chile 11p.

67. Singh, R.P; Chari, M.S; Raheja, A.K; Kraus, W. (Eds). 1996. World Neem conference. In: Neem and environment Oxford and IBH Publising Co., New Delhi, India. 1226 p.

68. Solano, T.F. 2012. Los Plaguicidas agrícolas en Ecuador: Impactos en la producción, la salud y el ambiente. Universidad Agraria de la Habana. Monografía 16 p.

69. Solano T.F.; Agurto, G.B.; Quezada, C.R; Ruiz, J.V; Del Pozo E.M. 2013. Efecto de extractos de tres especies vegetales sobre el nematodo Meloidogyne incognita (Kofoid and White) Chitwood. Rev Centro Agrícola, 41(1): 83-88; octubre-diciembre.

70. Solano, T.F. 2014. Alternativas para el manejo ecológico de *Meloidogyne spp*. en agroecosistemas de tomate de la Provincia de Loja, Ecuador. Tesis Doctorado en Ciencias Agrícolas, Universidad Agraria de la Habana. Coauspicio SENESCYT/Universidad Nacional de Loja-Ecuador.

71. Solano, T: F; Castillo M.L, Medina, J.V; Del Pozo, E.M, 2014. Efectividad de hongos nematófagos sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en tomate en condiciones de campo, Loja, Ecuador. Rev. Protección Veg. Vol. 29 No. 3 (2014): 192-196.

72. Talavera, M., Verdejo, S. 20015. Gestión de nematodos fitoparásitos. Interempresas. Madrid - España.

73. Valladares, G; Defagó, M.T; Palacios, S.M; Carpinella, M.C. 1997. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol. 90: 747-750.

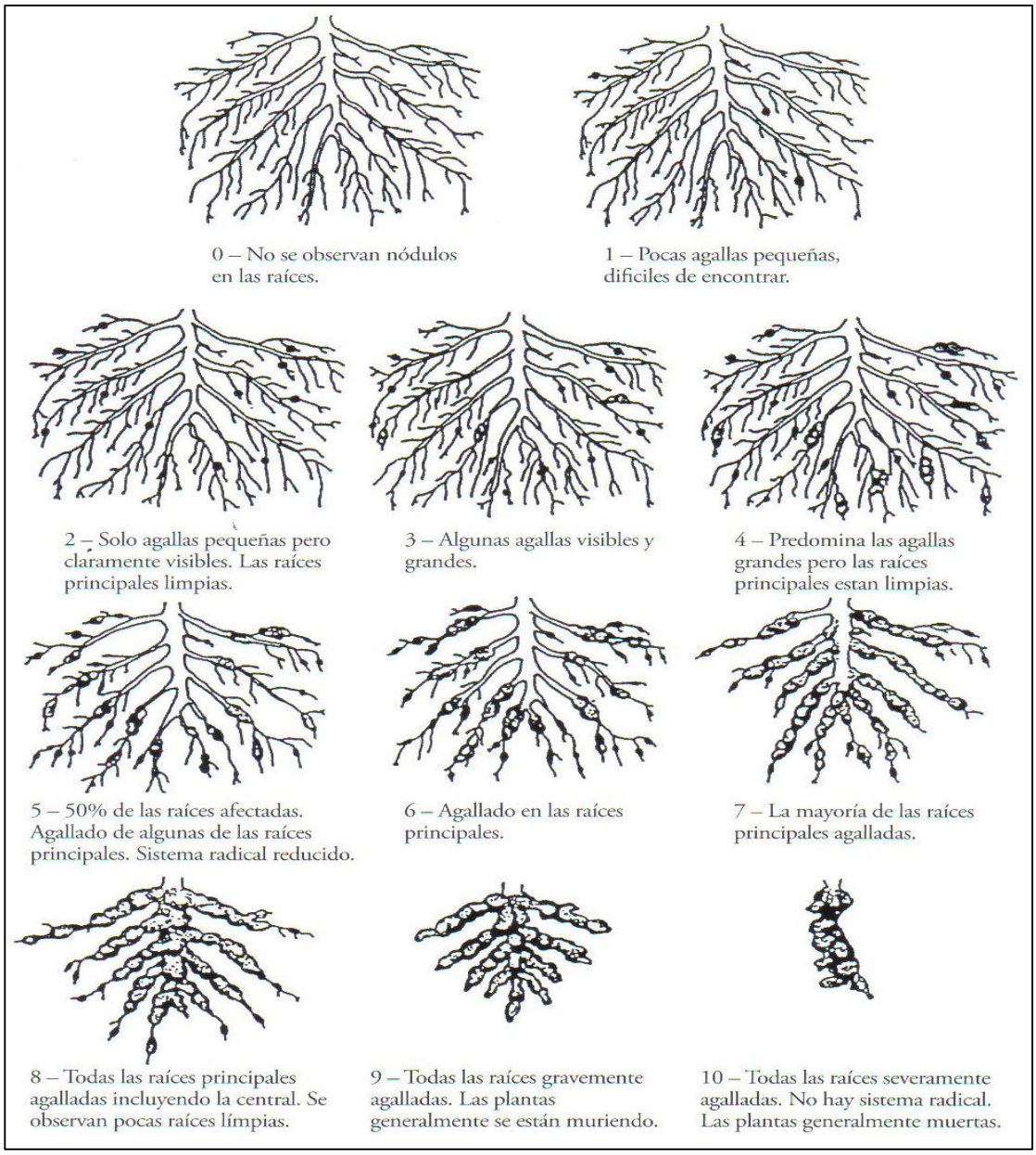
74. Vilchis, K. 2011. Compatibilidad del hongo *Pochonia chlamydosporia* y extractos vegetales para el manejo integrado de *Meloidogyne incognita* en frijol. Tesis. Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Yaupetec – Morelos. 102 p.

75. Vinueza, S., Crozzoli, R. Perichi, G. 2006. Evaluación *in vitro* de extractos acuosos de plantas para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita.* Fitopatol. Venez. Maracay – Venezuela. 26 (19) 6 p.

76. Vyas, S.S. 1993. Effect of Neem cake, neem oil, repelin and carbofuran on control of soybean nematodes. In: Neem and Environment. Singh R.P., Cari M.S., Raheja A. K y Graus W. (Eds). World Neem Conference. Oxford and IBH Publising Co. New Delhi, India, 1996. 663-667 p.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Escala de evaluación de índice de agallas para el nematodo agallador (Escala de Bridge y Page, 1980).



Fuente. Nematología práctica: una guía de campo y laboratorio D.L. Coyne, J.M. Nicol y B. Claudius-Cole 2007. International Institute of Tropical Agriculture

Anexo 2. Registros de mortalidad de *M. incognita.,* in vitro a las 24 h Loja 2015.

Extracto	Replica 1		Replica 2		Replica 3		Replica 4	
	M	V	M	V	M	V	M	V
Paico 0,01	4	46	4	46	3	58	3	54
Paico 0,03	3	43	3	53	3	50	4	43
Paico 0,06	12	33	10	35	21	28	13	41
Paico 0,08	9	34	6	41	8	42	14	31
Paico 0,10	15	34	12	29	24	21	11	36
Albahaca 0,01	5	52	7	36	6	44	5	44
Albahaca 0,03	2	46	6	35	8	40	10	43
Albahaca 0,06	7	36	7	37	8	38	5	43
Albahaca 0,08	6	39	8	37	5	36	8	38
Albahaca 0,10	8	38	6	29	11	31	8	37
Higuerilla 0,01	5	44	6	43	5	43	6	48
Higuerilla 0,03	4	45	8	38	6	44	6	41
Higuerilla 0,06	8	35	4	43	6	39	4	33
Higuerilla 0,08	7	40	8	34	8	42	8	36
Higuerilla 0,10	5	39	7	33	9	31	4	37
Fruto higuerilla 0,01	6	42	7	38	8	45	10	34
Fruto higuerilla 0,03	9	36	13	32	9	33	4	46
Fruto higuerilla 0,06	6	41	8	40	12	36	3	39
Fruto higuerilla 0,08	7	35	4	27	13	21	6	40
Fruto higuerilla 0,10	2	43	5	33	12	25	9	28
Testigo 0,01	2	43	3	41	3	55	2	43
Testigo 0,03	3	45	1	52	3	48	2	46
Testigo 0,06	2	37	3	35	4	48	2	39
Testigo 0,08	2	35	3	50	1	45	3	35
Testigo 0,10	1	48	2	47	2	50	3	43
Testigo	3	48	3	39	3	42	2	39

Anexo 3. Registro de mortalidad de *M. incognita.,* in vitro a las 48 h Loja. 2015.

Extracto	Replica 1		Replica 2		Replica 3		Replica 4	
	M	V	M	V	M	V	M	V
Paico 0,01	8	44	8	44	8	54	8	51
Paico 0,03	5	41	9	46	8	45	6	41
Paico 0,06	18	27	38	17	26	23	27	27
Paico 0,08	18	26	12	34	16	34	31	16
Paico 0,10	30	18	22	22	27	18	22	25
Albahaca 0,01	10	47	20	23	12	38	24	26
Albahaca 0,03	16	32	18	23	16	32	19	33
Albahaca 0,06	14	29	16	27	18	28	14	34
Albahaca 0,08	15	31	14	29	13	28	25	21
Albahaca 0,10	18	28	22	14	19	23	20	25
Higuerilla 0,01	8	35	14	33	14	33	14	35
Higuerilla 0,03	16	33	14	35	15	32	27	27
Higuerilla 0,06	14	37	18	28	24	26	15	31
Higuerilla 0,08	19	28	19	23	17	34	24	21
Higuerilla 0,10	23	20	19	21	18	22	27	14
Fruto higuerilla 0,01	12	36	8	38	14	39	6	42
Fruto higuerilla 0,03	14	29	8	38	15	28	25	23
Fruto higuerilla 0,06	14	33	14	36	14	36	24	18
Fruto higuerilla 0,08	16	25	14	28	19	25	15	31
Fruto higuerilla 0,10	16	20	11	27	18	19	26	11
Testigo 0,01	3	43	3	40	3	55	3	38
Testigo 0,03	5	43	4	47	5	47	4	43
Testigo 0,06	5	36	4	34	4	48	4	38
Testigo 0,08	3	33	4	51	4	40	5	37
Testigo 0,10	4	46	2	45	6	43	3	42
Testigo	3	43	2	42	4	40	4	36

Anexo 4. Registro de mortalidad de *M. incognita.,* in vitro a las 72 h Loja. 2015.

Extracto	Replica 1		Replica 2		Replica 3		Replica 4	
	M	V	M	V	M	V	M	V
Paico 0,01	8	44	10	42	12	48	16	45
Paico 0,03	8	38	13	42	10	43	8	39
Paico 0,06	22	23	39	14	26	23	33	22
Paico 0,08	24	20	17	28	16	34	32	15
Paico 0,10	35	13	25	20	27	18	22	25
Albahaca 0,01	10	47	27	16	14	36	30	20
Albahaca 0,03	14	33	16	25	17	32	20	30
Albahaca 0,06	16	27	18	25	19	27	15	32
Albahaca 0,08	15	31	13	31	26	28	27	10
Albahaca 0,10	15	29	27	14	22	19	26	19
Higuerilla 0,01	10	33	13	33	34	13	13	35
Higuerilla 0,03	12	36	18	28	28	22	14	31
Higuerilla 0,06	16	33	14	35	15	32	27	27
Higuerilla 0,08	24	23	18	22	23	29	22	21
Higuerilla 0,10	23	20	17	21	17	22	33	6
Fruto higuerilla 0,01	15	32	8	38	15	38	9	39
Fruto higuerilla 0,03	11	29	9	37	17	25	23	21
Fruto higuerilla 0,06	18	29	16	34	18	32	24	18
Fruto higuerilla 0,08	23	17	16	26	20	24	22	24
Fruto higuerilla 0,10	15	20	16	23	23	14	26	11
Testigo 0,01	3	43	3	40	3	55	3	38
Testigo 0,03	5	43	4	47	5	47	4	43
Testigo 0,06	5	36	4	34	4	48	4	38
Testigo 0,08	3	33	4	51	4	40	5	37
Testigo 0,10	4	46	2	45	6	43	3	42
Testigo	6	35	5	37	3	46	3	34

Anexo 5. Registros de altura de planta del tomate de mesa Loja 2015.

Evaluación altura de planta (cm)																	
Tratamiento	***Repeticiones***																
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	***Suma***	***Promedio***
P 0,06	125	125	110	124	112	112	122	130	126	118	113	112	113	118	115	1775	118
P 0,08	96	93	106	104	109	102	105	100	95	100	100	105	90	103	86	1494	100
P 0,10	91	110	102	108	93	108	94	93	100	95	91	93	104	103	90	1475	98
A 0,06	112	112	107	85	110	107	110	90	85	85	87	107	99	100	117	1513	101
A 0,08	100	110	110	93	112	112	102	100	90	110	108	114	113	105	92	1571	105
A 0,10	91	100	95	100	98	86	95	110	100	98	93	104	87	100	108	1465	98
H 0,06	110	115	95	117	110	107	100	107	114	110	102	97	112	96	90	1582	105
H 0,08	110	97	106	95	115	102	110	110	105	107	105	97	110	97	101	1567	104
H 0,10	110	102	103	110	116	114	110	111	107	116	110	110	115	104	97	1635	109
F.H 0,06	105	115	106	110	112	105	114	95	113	112	107	115	108	98	97	1612	107
F.H 0,08	107	109	113	113	109	106	102	100	110	102	108	108	106	107	100	1600	107
F.H 0,10	121	110	120	110	120	100	120	106	116	124	117	111	110	131	114	1730	115
Testigo	102	110	113	90	96	112	98	68	75	76	77	83	91	102	112	1405	94

Anexo 6. Registro de evaluación de biomasa foliar del tomate de mesa. Loja 2015.

Evaluación biomasa foliar (gr)																	
Tratamiento	***Repeticiones***																
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	***Suma***	***Promedio***
P 0,06	88,4	93	75,4	77,4	112,8	70	96	111	85,4	94,5	77	78	114	83,3	92,3	1348	90
P 0,08	84,6	90,5	77	97	87	96	90	85,7	99,7	76,2	98	81,5	97,5	79,3	83	1323	88
P 0,10	90	76,8	86,5	95	81,5	72	84	65	58,5	51,5	69	65	72,6	87,3	99,9	1155	77
A 0,06	67,3	75,9	83	91	85,2	64,5	97,3	88,5	86,2	79,5	70,5	71	76	56,5	79	1171	78
A 0,08	89,2	88,4	91	82,2	89,1	98,2	97,6	83,2	92,7	90,4	93,3	95,5	82,3	93,6	89	1356	90
A 0,10	91	95,6	80	93,5	87,1	79,5	77,5	87,5	82,1	99	87,2	82,5	96	92,1	87	1318	88
H 0,06	76	97,3	72	77,7	62	63,9	60	99,5	65,8	74,1	96	68,1	66,7	76,6	82,3	1138	76
H 0,08	97	84,5	88	73	75	86	74,5	77	68,4	72,8	72,1	74	88,3	90	85	1206	80
H 0,10	105	114	114	114	118,5	116	104	110	116	103,5	119	116	112	117	113	1692	113
F.H 0,06	71	76,4	70	79	79	85,7	97,2	70	72,5	80	86	87	86,5	88	75,7	1204	80
F.H 0,08	79,3	84	69,5	66,5	81	74,5	57	80	70	74	68	94	57,5	80,5	76	1112	74
F.H 0,10	105,5	101	124	101	109,6	115	100	128	94,2	118	114,5	119	92	111	110	1642	109
Testigo	89,2	82,2	96,5	72,5	76,9	92,1	93,2	91,3	76,2	91,2	93,6	76	93,1	96	82,3	1302	87

Anexo 7. Registros de población de J_2 en 10 gr de raíces. Loja 2015.

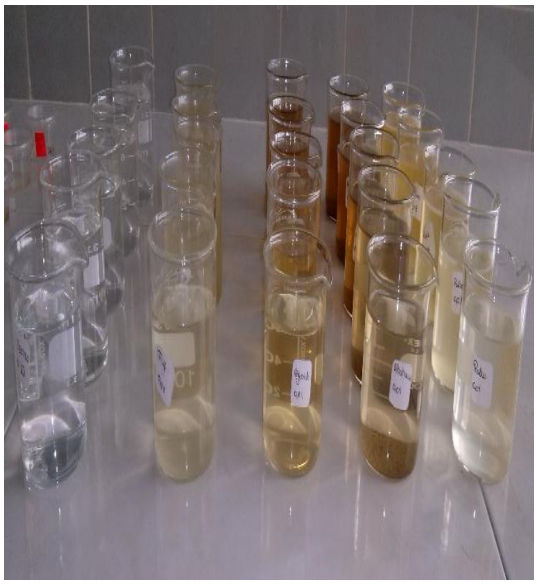
Evaluación población de J_2 en 10 gr de raíces																	
Tratamiento	***Repeticiones = alícuotas de 2 mL***																
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	***Suma***	***Promedio***
P 0,06	1548	1720	1892	1720	1634	1472	1806	1806	1548	1710	1890	1710	1890	1720	1730	25796	1720
P 0,08	498	581	498	415	539	498	465	539	498	539	462	539	462	539	539	7611	507
P 0,10	250	200	200	200	250	200	250	250	200	390	390	312	312	312	234	3950	263
A 0,06	1118	968	968	1232	1100	1320	924	1144	1188	1232	1628	1480	1012	1180	1200	17694	1180
A 0,08	1548	1290	1548	1634	1376	1110	1184	1110	1184	1184	1110	1132	1258	1406	1480	19554	1304
A 0,10	312	608	468	608	390	312	608	390	608	468	608	390	468	390	390	7018	468
H 0,06	408	476	476	340	340	340	408	392	392	392	392	336	448	504	392	6036	402
H 0,08	1200	1200	1200	990	1200	880	990	1050	880	990	880	990	1200	880	990	15520	1035
H 0,10	408	408	408	408	408	510	510	510	450	510	450	360	450	450	540	6780	452
F.H 0,06	840	700	770	840	700	770	770	968	792	792	792	792	704	704	880	11814	788
F.H 0,08	660	550	405	486	660	550	405	486	550	550	486	486	486	486	486	7732	515
F.H 0,10	120	120	120	120	120	120	120	180	180	180	180	180	180	180	180	2280	152
Testigo	2020	1908	2013	2048	2008	2063	*2141*	*2018*	*2124*	*2114*	2008	2236	2248	2249	2120	31318	2088

Anexo 8. Registros de población de J_2 en 100 cc de suelo. Loja 2015.

Evaluación población de J_2 en 100cc de suelo																	
Tratamiento	**Repeticiones**																
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	***Suma***	***Promedio***
P 0,06	936	884	520	624	676	770	936	520	1248	728	212	786	760	1272	796	11668	778
P 0,08	770	778	896	672	672	882	784	588	588	490	980	940	752	940	780	11512	767
P 0,10	264	330	374	308	352	884	816	816	816	750	960	1344	768	1088	780	10650	710
A 0,06	1204	1484	1988	840	1316	2108	1780	1800	2024	2360	1784	2240	1850	1770	2132	26680	1779
A 0,08	1260	1008	850	700	905	588	588	672	672	756	702	918	864	810	1080	12373	825
A 0,10	810	810	720	720	810	882	882	980	784	178	738	912	760	780	126	10892	726
H 0,06	1000	850	1100	1400	1300	1450	1380	1420	1480	1850	1500	1600	1800	750	1350	20230	1349
H 0,08	516	430	602	668	668	304	380	342	266	370	485	500	550	580	600	7261	484
H 0,10	592	740	788	540	592	348	348	348	990	406	560	560	672	672	784	8940	596
F.H 0,06	589	600	980	980	610	552	552	522	460	644	348	406	406	522	580	8751	583
F.H 0,08	588	686	686	686	784	352	352	396	396	308	288	288	224	256	320	6610	441
F.H 0,10	590	649	944	354	354	696	802	580	696	673	744	620	992	620	496	9810	654
Testigo	2652	2248	2326	2248	2170	2944	2296	2512	2368	2876	2840	2346	2840	2840	2874	38380	2559

Anexo 9. Colecta y preparación de inóculo para pruebas *in vitro.*

Anexo 10. Pesaje y dilución de extractos para pruebas *in vitro.*



Anexo 11. Montaje y evaluación de ensayo *in vitro*.

Anexo 12. Preparación de inoculo para ensayo en invernadero.

Anexo 13. Inoculación de nematodos y aplicación de extractos a plantas de tomate en condiciones de invernadero.

Anexo 14. Evaluación de variables de ensayo en invernadero.