



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

## **FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

**“EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES FRENTE A  
*Meloidogyne incognita* IN VITRO, CANTÓN MEJÍA”**

**Trabajo de grado previa a la obtención del Título de Ingeniero Agropecuario**

**AUTORA:**

**Chachalo Anrango Erika Fernanda**

**DIRECTORA:**

**Lic. Ima Sumac Sánchez de Céspedes MSc.**

**Ibarra, 2022**

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN

CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

ESCUELA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

**“EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES FRENTE A**

*Meloidogyne incognita* **IN VITRO, CANTÓN MEJÍA”**

Trabajo de grado revisado por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza su presentación como  
requisito parcial para obtener Título de:

**INGENIERA AGROPECUARIA**

APROBADO:

Lic. Ima Sánchez, M.Sc.

**DIRECTOR UTN**



---

FIRMA

Ing. Doris Chalampunte, PhD.

**MIEMBRO TRIBUNAL**



---

FIRMA

Ing. Miguel Gómez, M.Sc.

**MIEMBRO TRIBUNAL**



---

FIRMA

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE BIBLIOTECA UNIVERSITARIA**  
**AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN A FAVOR**  
**DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA**

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

<b>DATOS DE CONTACTO</b>	
<b>Cédula de identidad:</b>	1004471692
<b>Apellidos y nombres:</b>	Chachalo Anrango Erika Fernanda
<b>Dirección:</b>	Pimampiro-Barrio Monserrat
<b>Email:</b>	<a href="mailto:efchachalo@utn.edu.ec">efchachalo@utn.edu.ec</a>
<b>Teléfono móvil:</b>	0959101974

<b>DATOS DE LA OBRA</b>	
<b>Título:</b>	<b>“EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES FRENTE A <i>Meloidogyne incognita</i> IN VITRO, CANTÓN MEJÍA”</b>
<b>Autor:</b>	Chachalo Anrango Erika Fernanda
<b>Fecha:</b>	
<b>Solo para trabajos de grado</b>	
<b>Programa</b>	Pregrado
<b>Título por el que opta</b>	Ingeniera Agropecuaria
<b>Director UTN</b>	Lic. Ima Sánchez MSc.

**2. CONSTANCIAS**

El autor (es) manifiesta (n) que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume (n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá (n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, al 01 día del mes de febrero del 2022

EL AUTOR




Erika Fernanda Chachalo Anrango

C.I.: 100447169-2

## CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por “**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES FRENTE A *Meloidogyne incognita* IN VITRO, CANTÓN MEJÍA**”, bajo mi supervisión.

Ibarra, al 01 día del mes de febrero de 2022



---

Lic. Ima Sánchez MSc.

DIRECTOR DE TESIS

## REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

**Guía:** FICAYA-UTN

**Fecha:** Ibarra, a los 28 días del mes de enero del 2022

**Nombres y Apellidos:** Erika Fernanda Chachalo Anrango “**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES FRENTE A *Meloidogyne incognita* IN VITRO, CANTÓN MEJÍA**” /Trabajo de titulación. Ingeniero Agropecuario.

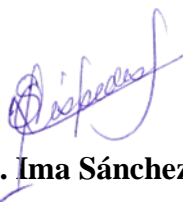
Universidad Técnica del Norte. Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Ibarra, al 01 día del mes de febrero del 2022 80 páginas.

**DIRECTOR (A):**

El objetivo principal de la presente investigación fue: Evaluar la efectividad de extractos vegetales frente a *Meloidogyne incognita* bajo condiciones *in vitro*.

Entre los objetivos específicos se encuentran:

- Determinar la tasa de mortalidad corregida de juveniles de *Meloidogyne incognita* en contacto con extractos vegetales.
- Establecer la dosis adecuada de los extractos vegetales para el control de *M. incognita*.
- Definir la mortalidad de *M. incognita* frente al tiempo de exposición a los extractos vegetales.



**Lic. Ima Sánchez MSc.**

**Directora de Trabajo de Grado**



**Erika Fernanda Chachalo Anrango**

**Autor**

## **AGRADECIMIENTO**

Hoy puedo decir que sí es posible lograr lo que se propone, lo importante es seguir el camino a pesar de los obstáculos. Quiero agradecer en primer lugar a Dios por darme la vida, salud y bendiciones para llegar a culminar mi carrera. A mis padres, hermanos, sobrinos y demás familiares quién me motivaron alcanzar la meta. A mi querido hijo por brindarme su amor y comprensión porque es mi mayor motivo para alcanzar los logros propuestos. Agradezco de manera infinita a la Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales en especial a la carrera de Ingeniería Agropecuaria por haberme permitido formar parte de esta noble institución de quién me siento orgullosa, por haber compartido alegrías, tristezas, conocimiento y logros durante mi vida profesional. A mi directora Lic. Ima Sánchez, MSc, por ser guía quién con su carisma me tuvo paciencia y me forjó muchos conocimientos. A mis profesores Dra. Doris Chalampunte, PhD, Ing. Miguel Gómez, MSc. quienes me brindaron el apoyo y conocimiento durante mi formación académica. Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP-Santa Catalina, departamento de Protección Vegetal de manera muy especial al Ing. Pablo Llumiquinga por ser un excelente guía, persona y apoyo por compartir sus conocimientos durante la investigación. A Maricita Robby, por ser una gran amiga con sus consejos y cariño me brindó ayuda durante la carrera. A mis familiares y amigos que de alguna manera estuvieron brindándome su cariño y apoyo para lograr alcanzar mi título universitario.

## **DEDICATORIA**

La presente investigación se la dedico en especial a mi querida madre María Anrango quién me apoyo incondicionalmente con su amor infinito y los recursos necesarios durante mi carrera, de igual manera a mi padre Fabián Chachalo y mis hermanos Evelyn, Jefferson, Moisés y Richard que fueron un pilar importante en mi vida universitaria. A mi hijo Damián, por ser el motor de mi vida quién me impulsa a seguir luchando por un futuro mejor y a todos los que esperaron verme un día terminar mi carrera.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	I
ÍNDICE DE FIGURAS .....	III
ÍNDICE DE TABLAS .....	IV
ÍNDICE DE ANEXOS .....	V
RESUMEN .....	VI
CAPÍTULO I.....	1
1.1 Antecedentes .....	1
1.2. Problema.....	2
1.3. Justificación.....	2
1.4 Objetivos .....	4
1.4.1. Objetivo general .....	4
1.4.2 Objetivos específicos.....	4
1.5 Hipótesis.....	4
CAPITULO II .....	5
MARCO TEÓRICO .....	5
2.2. Marco legal.....	16
CAPITULO III .....	18
MARCO METODOLÓGICO .....	18
3.1. Descripción del área de estudio.....	18
3.1.1. Ubicación geográfica.....	18
3.1.2. Características climáticas .....	19
3.2. Materiales y métodos .....	19
3.2.1 Factores en estudio .....	19
3.2.2. Tratamientos.....	26
3.2.3. Diseño experimental.....	27
3.2.4. Características del experimento.....	28
3.2.5. Análisis estadístico .....	28
3.2.6 Variables a evaluarse.....	28
3.3.1. Porcentaje de mortalidad corregida de juveniles de <i>Meloidogyne incognita</i> .....	28
3.3.2. Determinación de la dosis letal media para cada extracto a las 48 y 72 horas...29	
3.3 Manejo del experimento.....	29



3.3.3. Obtención de los extractos vegetales.....	29
3.3.4. Obtención de inóculo de <i>Meloidogyne incognita</i> .....	36
CAPÍTULO IV .....	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1 Porcentaje de mortalidad corregida de juveniles de <i>M. incognita</i> . ....	40
4.2 Determinación de la dosis letal media para cada extracto a las 48 y 72 horas.....	47
CAPÍTULO V .....	50
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	50
5.1 Conclusiones .....	50
5.2 Recomendaciones.....	50
REFERENCIAS .....	52
GLOSARIO.....	63
ANEXOS.....	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Estilete de nematodos fitoparásitos</i> .....	5
Figura 2: <i>Ciclo parasitario de Meloidogyne incognita</i> . ....	7
Figura 3: <i>Hembra de Meloidogyne incognita hinchada y teñida en la raíz</i> . ....	7
Figura 4: <i>Morfología de la hembra de Meloidogyne incognita</i> . ....	8
Figura 6: <i>Síntomas del ataque de M. incognita en raíces de Ficus sp.</i> .....	8
Figura 7: <i>Estructura de compuestos bioactivos de neem</i> . ....	11
Figura 8: <i>Estructuras química de aldehídos presentes en aceites esenciales de C. citratus: 1) Mirceno, 2) Geraniol, 3) Nerol, 4) Geranial, 5) Neral y 6) Citral</i> .....	12
Figura 9: <i>Aldehídos Geranial +Neral = Citral presente en mayor cantidad en hierba luisa</i> . ....	13
Figura 10: <i>C. papaya a) planta y b) fruto de papaya</i> .....	13
Figura 11: <i>Estructura molecular de los alcaloies lupanina y esparteína</i> . ....	14
Figura 12: <i>Estructura general de una saponina de C. quinoa</i> .....	15
Figura 13: <i>Mapa de ubicación del sitio del experimento</i> . ....	18
Figura 14: <i>Distribución de los tratamientos en el laboratorio</i> . ....	27
Figura 15: <i>Procedimiento para la obtención del extracto de chocho</i> . ....	30
Figura 16: <i>Titulación de los alcaloides del extracto de chocho</i> . ....	31
Figura 17: <i>Procedimiento para la obtención del extracto de quinua</i> . ....	32
Figura 18: <i>Procedimiento de calibración de saponinas</i> . ....	33
Figura 19: <i>Procedimiento de obtención del extracto de neem</i> . ....	34
Figura 20: <i>Procedimiento para la obtención del extracto de papaya</i> . ....	35
Figura 21: <i>Procedimiento para la obtención del extracto de hierba luisa</i> . ....	36
Figura 22: <i>Procedimiento para la obtención del inóculo</i> . ....	37
Figura 23: <i>Unidad experimental utilizada en el ensayo</i> .....	37
Figura 24: <i>Procedimiento para la instalación del ensayo</i> . ....	38
Figura 25: <i>Observación de la mortalidad de juveniles de acuerdo al tiempo evaluado</i> . ....	39
Figura 26: <i>Porcentaje de mortalidad de M.incognita con el extracto de neem</i> . ....	41
Figura 27: <i>Porcentaje de mortalidad de M.incognita con el extracto de chocho</i> . ....	43
Figura 28: <i>Porcentaje de mortalidad de M.incognita con el extracto de quinua</i> . ....	44
Figura 29: <i>Porcentaje de mortalidad de M.incognita con el extracto de papaya</i> . ....	45
Figura 30: <i>Porcentaje de mortalidad de M.incognita con el extracto de hierba luisa</i> . ....	46

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: <i>Datos geográficos del área de estudio</i> .....	18
Tabla 2: <i>Listado de materiales, equipos, insumos y herramientas a utilizar en el manejo del experimento</i> .....	19
Tabla 3: <i>Números de tratamientos que se evaluaron en la presente investigación</i> . ....	26
Tabla 4: <i>Análisis de varianza (ADEVA) del Diseño Completamente al Azar con Medidas Repetidas en el Tiempo con cinco repeticiones</i> .....	28
Tabla 5: <i>Contenido total de alcaloides presente en el extracto de chocho</i> .....	31
Tabla 6: <i>Resultados obtenidos de la lectura de saponinas en el espectrofotómetro</i> .....	33
Tabla 7: <i>Contenido total de saponinas presentes en el extracto de quinua</i> . ....	34
Tabla 9 : <i>Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad corregida de juveniles de M. incognita</i> .....	40
Tabla 10: <i>Eficiencia de los extractos a las 3 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	63
Tabla 11: <i>Eficiencia de los extractos a las 6 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	64
Tabla 12: <i>Eficiencia de los extractos a las 24 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	64
Tabla 13: <i>Eficiencia de los extractos a las 48 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	65
Tabla 14: <i>Eficiencia de los extractos a las 72 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	66

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 <i>Eficiencia de los extractos a las 3 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	63
Anexo 2 <i>Eficiencia de los extractos a las 6 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	64
Anexo 3 <i>Eficiencia de los extractos a las 24 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	64
Anexo 4 <i>Eficiencia de los extractos a las 48 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	65
Anexo 5 <i>Eficiencia de los extractos a las 72 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita</i> .....	66
Anexo 6 <i>Dosis letal media del extracto de neem a las 48 y 72 horas</i> .....	67
Anexo 7 <i>Dosis letal media del extracto de chocho a las 48 y 72 horas</i> .....	67
Anexo 8 <i>Dosis letal media del extracto de quinua a las 48 y 72 horas</i> .....	67
Anexo 9 <i>Dosis letal media del extracto de papaya a las 48 y 72 horas</i> .....	68
Anexo 10 <i>Dosis letal media del extracto de hierba luisa las 48 y 72 horas</i> .....	68

# “EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES FRENTE A *Meloidogyne incognita* IN VITRO, CANTÓN MEJÍA”

Autor \*: Chachalo Anrango Erika Fernanda

\*Universidad Técnica del Norte

Correo:efchachaloe@utn.edu.ec

## RESUMEN

*Meloidogyne incognita* [K & W] es considerada una plaga que ataca a cultivos de importancia económica al afectar la producción debido al daño ocasionado a las raíces (agallas). En la actualidad existen alternativas que minimizan la población de nematodos como es el uso de extractos vegetales a partir de plantas que tienen efectos nematocidas. La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la efectividad de extractos vegetales de neem (*Azadirachta indica*), chocho (*Lupinus mutabilis*), papaya (*Carica papaya*), quinua (*Chenopodium quinoa*) y hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) frente a *M. incognita in vitro*. Para ello se obtuvieron los nematodos de raíces de tomate riñón con presencia de agallas con nematodos juveniles J2, y se aplicó los extractos de las especies vegetales mencionadas anteriormente. Se aplicó un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo. La unidad experimental fue una caja Petri en la que se colocó las dosis con 50 juveniles infectivos y las observaciones se realizaron a las 3, 6, 24, 48 y 72 horas. Los resultados obtenidos determinaron que todos los extractos evaluados tuvieron efecto nematocida a partir de las 24 horas de exposición, llegando a tener 100% de efectividad a las 72 horas; sin embargo el mejor extracto fue de chocho alcanzando una mortalidad del 100% de juveniles a las 24 horas con dosis de 2.5 y 1.25 g/ml. La dosis letal media la obtuvo el extracto de chocho del cual se necesita una dosis baja de 0.0891 y 0.0557 g/ml para tener la mortalidad del 50% de nematodos.

**Palabras clave:** nematodos, extractos botánicos, cantidad, letalidad, tiempo.

## ABSTRACT

*Meloidogyne incognita* is considered a pest that attacks crops of economic importance affecting production due to infection suffered by the roots (galls). Currently there are alternatives that minimize the population of nematodes such as the use of plant extracts from plants that have nematocidal effects. In this research, the effectiveness of plant extracts of neem (*Azadirachta indica*), chocho (*Lupinus mutabilis*), papaya (*Carica papaya*), quinoa (*Chenopodium quinoa*) and hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) versus *M. incognita in vitro* was evaluated, in which was done by obtaining kidney tomato roots that have the presence of galls with juvenile nematodes J2, then the extracts were obtained each differently. The experimental design was a completely random design with repeated measurements over time. The experimental unit was a Petri box in which the doses were placed with 50 infective juveniles and the observations were made at 3, 6, 24, 48 and 72 hours respectively. The results obtained were that all the extracts evaluated obtained nematocidal effect from 24 hours of exposure reaching 100% at 72 hours; However, the best extract was chocho, reaching a mortality of 100% of juveniles at 24 hours with doses of 2.5 and 1.25 g/ml. The mean lethal dose was obtained by the corn extract which requires a low dose to have the mortality of 50% of nematodes.

**Keywords:** nematode, botanical extracts, quantity, lethality, time.

# CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

## 1.1 Antecedentes

Los nematodos fitoparásitos son organismos que atacan a diferentes cultivos y provocan pérdidas económicas por la baja producción agrícola (Durán y Guzmán, 2017). Dentro de estos se encuentra la especie *Meloidogyne incognita* [Kofoid & White] Chitwood, considerado entre los principales patógenos de plantas (Kayani et al., 2013), que al infectar las raíces produce falta de vigor y crecimiento, clorosis, decrecimiento en las tasas de respiración y fotosíntesis, baja calidad y cantidad del producto afectando el rendimiento y elevando los costos de producción de los cultivos (Durán y Guzmán, 2017; Mukhtar et al., 2014).

La población de nematodos parásitos puede ser minimizada a través de métodos alternativos al control químico, como es el uso del control biológico, realizar prácticas culturales adecuadas, cultivos resistentes y aplicación de nematicidas de origen vegetal ya que sus compuestos no son resistentes en condiciones de campo y son transformados por la luz, oxígeno y microorganismos con facilidad en productos menos tóxicos para el medio ambiente (Taniwiryono et al., 2009).

En la actualidad los nematicidas botánicos son una alternativa para la agricultura orgánica por la gran variedad de compuestos que se encuentran en las distintas partes de las plantas como iso-tiocianatos, tiofenicos, glucósidos, fenólicos, ácidos grasos, triglicéridos, sesquiterpenos, alcaloides, esteroides, diterpenos, flavonoides y saponinas que son fatales para los nematodos y pueden excluir a nematicidas químicos usados en la agricultura convencional (Oka, 2010; Ibrahim et al., 2014).

En estudios realizados en laboratorio por Revelo (2003) para el control de *Meloidogyne incognita*, se determinó que a una concentración de 0.2 ml de extracto de neem (*Azadiractina indica* A.Juss) en 100 ml de agua se inhibe la ovoposición y se regula el crecimiento poblacional de este nematodo.

Por otro lado, estudios en campo demostraron que hay una disminución de índices de agallamiento por *Meloidogyne* spp., empleando la biodesinfección del suelo con follaje de neem en condiciones semi controladas (Gómez et al., 2006). De igual manera Vázquez (2010) menciona que los biopreparados de neem son eficientes contra nematodos por su baja persistencia y acción tóxica con la entomofauna benéfica y entomopatógenos del suelo.

El grano de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) contiene alcaloides como la lupanina siendo su mayor constituyente (11.5%), seguido por la esparteína (2.5%) en extracto purificado. Estos componentes le confieren acción fúngica, insecticida, bactericida y nematicida debido a la

inhibición de la síntesis de proteína. En estudios realizados *in vitro* en larvas de *Meloidogyne incognita*, se observó que este extracto tiene un efecto del 93.3% de mortalidad sobre larvas J2 de este nematodo (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias [INIAP], 2008).

La planta de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) tiene pequeñas semillas revestidas por una membrana que contiene alrededor del 4% de una mezcla compleja de glucósidos triterpénicos y amargos denominados saponina (Ahumada et al., 2016). Esta sustancia posee propiedades fungicida, bactericida, molusquicida y nematocida y su funcionalidad depende de la complejidad de la estructura y conformación (Cheok et al., 2014).

## 1.2. Problema

*Meloidogyne incognita* es la especie de nematodos parásitos con alta importancia a nivel mundial debido a que atacan a varios cultivos de importancia económica, ya que provoca disminución de la rentabilidad de los productos agrícolas (Neeraj et al., 2017). Estos nematodos tienen una amplia distribución a nivel mundial por su capacidad de reproducción, tolerancia a condiciones adversas y sobrevivencia durante varios años en el suelo (Cepeda, 2016; Duceppe et al., 2017).

Las medidas de control adoptadas por los agricultores están basadas en productos químicos para reducir poblaciones presentes en el suelo; sin embargo, presentan problemas como generación de poblaciones resistentes por la falta de la rotación de dichos productos, aparición de plagas secundarias, elevados costos, residualidad y daños medioambientales, efectos adversos en la salud de las personas, presencia de residuos en los productos y la reducción de los organismos benéficos presentes en el ecosistema (Dalton et al., 2013; Martínez, 2010).

Los daños que ocasiona *Meloidogyne incognita* en los cultivos tienen consecuencias en el desarrollo de las plantas y por ende las cosechas presentan bajo rendimiento por la afectación del sistema radicular. Para mitigar este problema, el agricultor utiliza el control químico que es costoso y contamina el ambiente, por lo que es necesario evaluar otras alternativas como extractos vegetales con dosis efectivas para reducir la población de nematodos.

## 1.3. Justificación

Agrios (2005a) y Guzmán y Castaño (2010) mencionan que *Meloidogyne* spp. parasita más de 2000 especies vegetales con reducción de su rendimiento y pérdidas alrededor del 60% en berenjena (*Solanum melongena* L.), 33% melón (*Cucumis melo* X) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.), 87% yuca (*Manihot esculenta* C.), 47% café (*Coffea arabica* L.), 50% naranjilla (*Solanum quitoense* L.), 31% en banano (*Musa paradisiaca* L.) y 60% en guayaba (*Psidium guajava* L.). Los síntomas primarios son nodulaciones o agallas en la raíz seguido por los síntomas en la parte aérea de la planta como clorosis y marchitamiento de hojas, disminución del crecimiento, aborto de flores, baja calidad y cantidad de frutos y cuando existe un ataque muy severo la planta muere (Bridge y Starr, 2007).

Los semioquímicos se utilizaron en los programas de manejo integrado de plagas (MIP), con la ventaja de no ser tóxicos para los humanos y pueden ser aplicados a patógenos que ocasionan problemas en los cultivos (Pernal et al., 2005; Saleh y Chittka, 2006). Los metabolitos secundarios tienen actividad biológica debido a que poseen compuestos fenólicos, azufrados, iridoides, esteroides, alcaloides y terpenoides de origen vegetal que actúan sobre diferentes organismos plaga (Mareggiani, 2001).

Un cambio creciente enfocado en la agricultura es el uso de productos de origen biológico para el control de plagas, teniendo algunas ventajas frente a los pesticidas químicos como son: alta especificidad frente a patógenos, inocuidad frente a seres vivos, ausencia de efectos tóxicos, son biodegradables y evitan resistencia al producto (Fang y Zhihui, 2015; Marchiaro et al., 2017).

Zareena y Vanita (2014) sugieren utilizar técnicas y métodos compatibles para mantener la población de nematodos por debajo del umbral de daño económico y que contribuyen a disminuir la formación de agallas y masas de huevos en las plantas. En ensayos de laboratorio con extracto de torta de neem a 500 ml/m<sup>2</sup>, se evidenció la reducción del 70.3% de agallas presentes en la raíz y 59.3% en masa de huevos.

La actividad biológica del neem es muy variada por los compuestos que se encuentran en las diferentes partes de la planta y tiene efectos tales como fagodisuasión, regulación de crecimiento, inhibición de la ovoposición y esterilización en insectos y nematodos (Mareggiani, 2001). En ensayos bajo condiciones semicontroladas con desechos de neem a concentraciones de 138.47 gramos de desecho de neem en macetas con *Solanum lycopersicum* L. redujeron significativamente el índice de agallamiento de *M. incognita* que resultó en 2.4 veces en comparación del testigo que obtuvo en 5.0 (Rodríguez et al., 2012).

Experimentos realizados con extracto acuoso de neem y *Trichoderma harzianum* en laboratorio por Baños et al. (2016) evidenciaron diferencias significativas en un 61.5% en la reducción en el índice de agallamiento de *Meloidogyne* spp. en plántulas de tomate.

Experimentos *in vitro* realizados con hierba luisa (*Cymbopogon citratus* [DC] Stapf) por Patidar et al. (2016) mencionan que el aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* [DC] Stapf) y palmarosa (*Cymbopogon martini* [Roxb] W. Watson) con dosis de 500 y 250 ppm a 12 horas de exposición tienen actividad nematocida; sin embargo, se obtuvieron mejores resultados con el aceite de *C. citratus* [DC] Stapf al producirse la muerte de juveniles de *M. incognita* al 100% a 500 ppm a 24 horas de exposición, también estos aceites redujeron más del 50% la eclosión de huevos.

Estos resultados muestran la importancia de utilizar otras alternativas en el control de nematodos, como es la utilización de extractos de plantas que poseen un efecto nematocida y nematostático en la población de *Meloidogyne incognita* de ciertos cultivos. Por lo cual, en



este proyecto se determinó la dosis adecuada de extractos vegetales para evaluar su efectividad en los nematodos que presentan problemas en cultivos de importancia económica en el país.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo general**

Evaluar la efectividad de extractos vegetales frente a *Meloidogyne incognita* bajo condiciones *in vitro*.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

- Determinar la tasa de mortalidad corregida de juveniles de *Meloidogyne incognita* en contacto con extractos vegetales.
- Establecer la dosis adecuada de los extractos vegetales para el control de *M. incognita*.
- Definir la mortalidad de *M. incognita* frente al tiempo de exposición a los extractos vegetales.

## **1.5 Hipótesis**

- Ho: Los extractos vegetales no serán eficientes para controlar *Meloidogyne incognita*.
- Ha: Al menos uno de los extractos vegetales será eficiente para controlar *Meloidogyne incognita*.

## CAPITULO II MARCO TEÓRICO

### 2.1. Nematodos

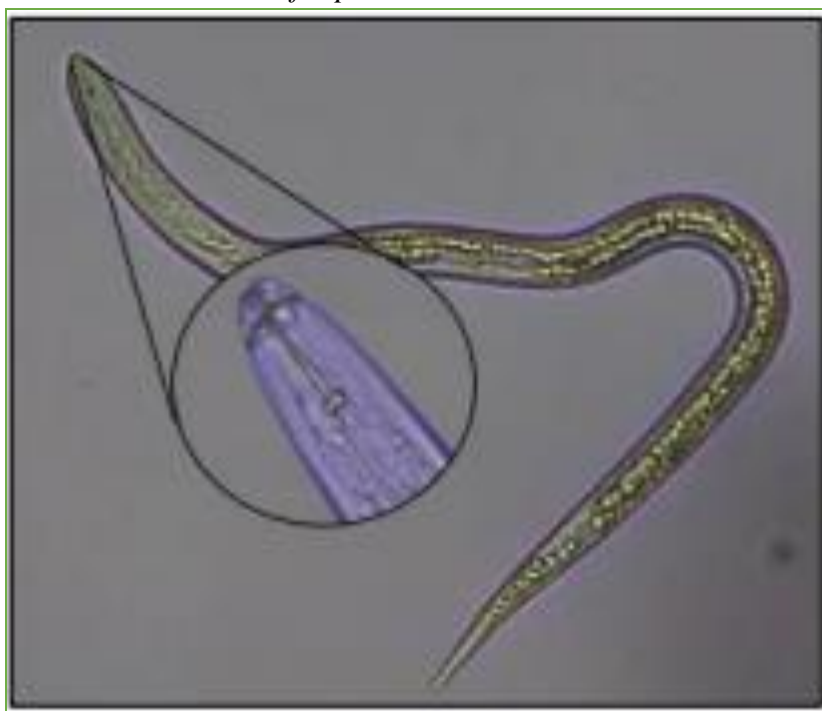
La palabra nematodo, proviene de los vocablos griegos “*nema*” que significa “hilo” y “*eidés*” u “*oidos*”, que significa “con aspecto de”, definidos como animales filiformes con cuerpo sin segmentos y más o menos transparentes cubiertos de una cutícula hialina (Guzmán et al., 2012). Los nematodos son gusanos filiformes del grupo de nematelmintos, poseen simetría bilateral y miden entre 1 a 3 mm de longitud (Agrios, 2005).

Los nematodos fitoparásitos son considerados gusanos microscópicos incoloros que se ubican en las raíces de la planta, tienen forma filamentosa o globosa cuando son adultos, se conocen alrededor de 4105 especies, las cuales causan pérdidas anuales entre 11 a 14% de la producción en cultivos de importancia económica mundial (Peña et al., 2018).

De acuerdo al género, tienen en la región anterior el estilete que tiene forma de una aguja hipodérmica, usado para perforar o penetrar las células de las plantas y a través de él extraer los nutrientes (Figura 1). Además, su sistema de alimentación consta de: boca, esófago e intestino, su reproducción en la mayoría es bisexual, en algunas especies es partenogenética (Perry y Moens, 2006).

**Figura 1**

*Estilete de nematodos fitoparásitos.*



Fuente: Guzmán et al. (2013)

### 2.1.2. Género *Meloidogyne*.

Los nematodos del género *Meloidogyne*, están considerados como los principales patógenos de vegetales (Kayani et al., 2013) en este género se agrupan más de 98 especies entre las cuales se encuentran *Meloidogyne incognita* [Kofoid & White] Chitwood, *M. arenaria* [Neal] Chitwood, *M. javanica* Chitwood y *M. hapla* Chitwood (Jones et al., 2013; Karssen et al., 2013). Este grupo de nematodos polífagos que se encuentran distribuidos en todo el mundo por su capacidad de parasitar, reproducirse y alimentarse de células vegetales vivas de las raíces de las plantas induciendo agallas o nudos en el sistema radicular (Perry et al., 2009).

### 2.1.3. *Meloidogyne incognita*

*M. incognita* son nematodos del nudo de la raíz, endoparásitos obligados y sedentarios de diversas especies de plantas, se encuentran distribuidos en varios países y es considerado el parásito más perjudicial de los cultivos en el mundo (Trudgill y Blok, 2001).

### 2.1.4. Taxonomía

Según Adams et al. (2009) *M. incognita* tiene la siguiente clasificación taxonómica.

<b>Reino:</b>	Animalia
<b>Phylum:</b>	Nematoda
<b>Clase:</b>	Secernentea
<b>Orden:</b>	Tylenchida
<b>Subfamilia:</b>	Tylenchoidea
<b>Familia:</b>	Meloidogynidae
<b>Género:</b>	<i>Meloidogyne</i>
<b>Especie:</b>	<i>Meloidogyne incognita</i> [Kofoid & White] Chitwood

### 2.1.5. Morfología

La morfología de *M. incognita* Chitwood varía de acuerdo al ciclo de vida del mismo así como a las características determinadas por dimorfismo sexual del nematodo (Karssen y Moens, 2006; Bridge y Starr 2007).

- a. Huevos: tienen un color marrón oscuro con un periodo de incubación que varía entre 20-30 días y su eclosión está influenciada por la temperatura.

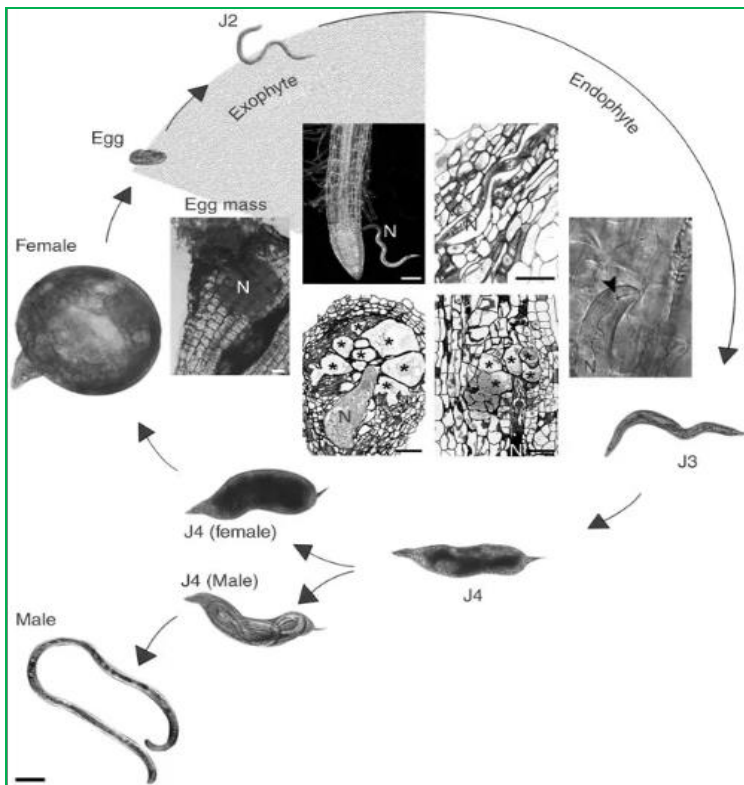
Juvenil: estos nematodos presentan cuatro fases de desarrollo juvenil.

- b. J1 tiene forma de hilo y se desarrollan en el interior de los huevos. Al eclosionar los huevos el juvenil avanza a la fase J2 que se introducen en el suelo y migran hacia las raíces frescas que están alrededor de su cabeza e insertan su estilete en ellas, para migrar a través de los tejidos corticales y de esa forma establecer un sitio de alimentación permanente en la región de diferenciación de los tejidos vasculares, luego el juvenil es capaz de pasar a la tercera etapa.

En la etapa J3 este juvenil es más robusto, y muda a una etapa J4 en el que se diferencian los órganos sexuales masculinos y femeninos (Figura 2).

## Figura 2

Ciclo de vida de *Meloidogyne incognita*.



Fuente: Abad et al. 2008

Adulto: en esta fase las hembras (Figura 3) se quedan en las células radicales y se hinchan creciendo en grosor hasta adquirir forma de pera y miden entre 0.4 a 1.3 mm de largo y 0.27 a 0.75 mm de ancho, además ponen alrededor de 500 huevos. La hembra es de color blanco con un cuerpo redondeado y cuello pronunciado. Cuando las hembras están completamente desarrolladas, los anillos de la cutícula son visibles en la región de la cabeza y la parte posterior, donde un patrón cuticular o patrón perineal permite la diferenciación entre especies (Figura 4).

## Figura 3

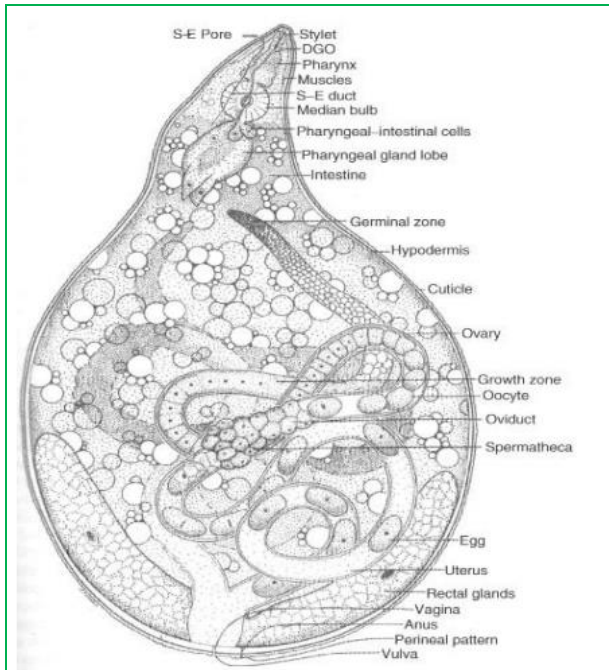
Hembra de *Meloidogyne incognita* hinchada y teñida en la raíz.



Fuente: Bridge y Starr (2007).

#### Figura 4

Morfología de la hembra de *Meloidogyne incognita*.



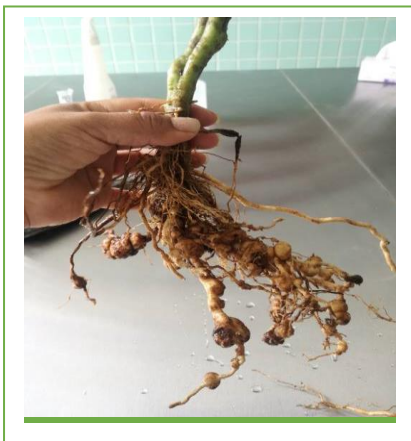
Fuente: Perry y Moens (2006)

Los machos tienen tamaño de gusano de, 1.2 a 1.5 mm de largo y de 30 a 36  $\mu$ m de diámetro y salen de la raíz como adulto filiforme que vive libre en el suelo. El ciclo de vida de *M. incognita* se completa alrededor de 25 días a 27 °C, pero se alarga a temperatura más baja o más alta. Una vez que la hembra alcanza la madurez, con o sin fertilización por el macho, produce huevos que son depositados en una masa gelatinosa protectora dentro o fuera del tejido radicular, dependiendo de la posición de la hembra (Bridge y Starr, 2007)

El principal síntoma de la infección causada por *M. incognita* es la formación de agallas en la raíz de las plantas hospederas (Figura 5). El establecimiento de sitios de alimentación del nematodo perjudica el sistema radicular en la absorción de nutrientes y agua debido al bloqueo de los haces vasculares lo cual reduce el rendimiento de la planta (Abad et al., 2003).

#### Figura 5

Síntomas del ataque de *M. incognita* en raíces de *Solanum lycopersicum*.



### **2.1.6. Manejo integrado de plagas**

El Manejo Integrado de Plagas (MIP), es un conjunto de operaciones y labores agrícolas que de manera coordinada y oportuna protegen los cultivos con el objetivo de evitar pérdidas económicas en los productores y proporcionar protección a largo plazo y minimizar los efectos tóxicos en el medio ambiente (Martínez, 2010; Vivas, 2017).

#### **2.1.6.1. Control cultural de plagas**

El control cultural de plagas es una de las técnicas más antiguas y efectivas que se conocen y consiste en la utilización de prácticas agrícolas con el objetivo de interrumpir ciclos reproductivos de las plagas y reducir la disponibilidad de alimento y daño en los cultivos. Dentro de estas prácticas existen varios procedimientos que se deben realizar como son: destrucción del hospedero para evitar la multiplicación del patógeno, plantas resistentes y vigorosas, interrupción del ciclo de desarrollo, formación de microclimas desfavorables para la plaga, establecimiento de fechas de siembra, preparación del suelo, riego, cosecha y aplicación de fertilizantes químicos y orgánicos. La aplicación de este control depende de la fisiología y fenología de las plantas (Martínez, 2010; Cisneros, 2010).

#### **2.1.6.2. Control biológico**

El uso de control biológico se remonta desde la antigüedad en donde se usaba los animales de forma intencional para controlar otros organismos, pero desde el siglo XX este tipo de control se estableció como una rama de la ecología y se consolidó las bases científicas para evitar desastres económicos y ambientales en el mundo (Cabrera et al., 2012).

El control biológico es un componente del manejo integrado de plagas que consiste en la utilización de enemigos naturales, agentes biológicos, parasitoides y depredadores presentes en el medio ambiente, que se encuentran protegiendo los ecosistemas agrícolas y pueden reducir el daño de los organismos no deseados (Montoya y Cancino, 2004), siendo estos una opción económica y ecológica importante en el manejo integrado de nematodos (Kumar et al., 2012).

Guédez et al. (2016) mencionan que, el control biológico está definido por el uso de uno o más organismos benéficos llamados enemigos naturales que mantienen en equilibrio a las poblaciones de otros, a niveles bajos, que se encuentran perjudicando la producción. El uso del control biológico como alternativa para reducir plagas presentes en los cultivos tiene importantes ventajas porque su aplicación no deja residuos tóxicos, es amigable con el ambiente y no presenta resistencia (Martínez, 2010).

#### **2.1.6.3. Control físico**

Este tipo de control consiste en el uso de factores físicos como: calor, frío, humedad, energía. Quizas los factores más utilizados en agricultura corresponden al agua caliente y la solarización. Estos son utilizados principalmente para el tratamiento de semillas y en semilleros, aunque el calor sirve para controlar nematodos al colocar plástico sobre el suelo.

Dentro de los medios físicos encontramos aquellos de tipo correctivos que es la aplicación correcta de componentes MIP y efectuar los ajustes necesarios en el programa de manejo del cultivo y los de tipo preventivos son las medidas que se trata de tomar para evitar que las poblaciones de las plagas lleguen a niveles críticos; estos provocan cambios en la actividad fisiológica del patógeno al modificar su ambiente y hacerlo desfavorable, lo que impide funciones vitales del organismo (Cisneros, 2010).

#### **2.1.6.4. Control químico**

El manejo de plagas se ha realizado también a través de la aplicación de productos químicos de amplio espectro debido al control; sin embargo, el uso irracional de estos productos a provocado un impacto negativo por la contaminación del ecosistema, suelo, agua y seres humanos, como de igual forma las plagas han desarrollado resistencia y se ha eliminado la fauna benéfica (Tello, 2017).

Los plaguicidas han favorecido a la protección de los cultivos, controlan plagas y enfermedades, de igual manera han ayudado a la salud del hombre y los animales en el control de ectoparásitos y ectores de enfermedades, en la actualidad se dispone de insecticidas, fungicidas, nematicidas, rodenticidas, herbicidas, etc. Existen productos químicos que son estables y dejan residuos tóxicos en los productos agrícolas lo que representa un riesgo para la salud y contribuyen a la contaminación del medio ambiente (Cisneros, 2010).

#### **2.1.6.5. Plaguicidas botánicos**

Los plaguicidas botánicos son derivados de varias partes o ingredientes activos de las plantas. Durante los últimos años el uso de estos derivados de plantas medicinales ha sido una alternativa efectiva en la producción agrícola frente a productos químicos. Estos productos vegetales son eficientes, biodegradables, menos costosos y tóxicos para las personas (Leng et al., 2011).

Las plantas contienen una serie de compuestos fitoquímicos tales como saponinas, taninos, alcaloides, di y triterpenoides, etc, los cuales presentan alta actividad plaguicida. Debido al efecto nocivo que tienen los extractos de plantas en los patógenos, se puede manifestar de diferentes formas, toxicidad, mortalidad, inhiben el crecimiento, supresión de reproducción y reducción de la fertilidad y la fecundidad (BenJannet et al., 2001).

#### **2.1.6.6. Extractos vegetales**

Las plantas son conocidas por ser ricas en principios activos por su concentración y presencia en distintas partes de la planta y según la etapa de desarrollo. Algunos de ellos, suelen activarse como compuestos de defensa o aumentar su concentración, ante estímulos externos. Los efectos indirectos incluyen interferencia en la productividad de la agricultura, de los agroecosistemas y en la biodiversidad local (Pomilio, 2012; Marchiaro et al., 2017).

Algunas plantas liberan o poseen compuestos con efectos importantes en el control de nematodos fitoparásitos. Más de 2000 especies de plantas poseen propiedades plaguicidas y

los compuestos no pueden ser inactivados por las plagas, las concentraciones son menores, por lo que son menos tóxicos, cumplen una rápida biodegradación, poseen múltiples modos de acción, menos costosos y por último son derivados de recursos renovables (Vinueza et al., 2016; Nava et al., 2012). Entre la amplia gama de compuestos con actividad nematocida, algunos de estos se puede citar a los extractos de neem (*Azadirachtina indica* A. Juss), papaya (*Carica papaya* L.), chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y hierba luisa (*Cymbopogon citratus* Spreng).

- Neem (*Azadirachtina indica* A. Juss)

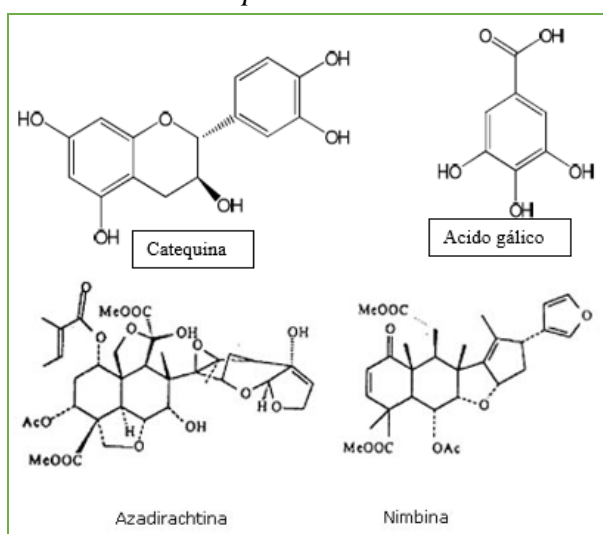
*Azadirachta indica* A. Juss., también conocido como “Nim”, “Neem”, “Margosa”, o “árbol del paraíso”, es un árbol perteneciente a la familia Meliaceae, de origen indú, tiene uso ornamental, repelente de plagas y como alimento forrajero en animales (Reyes et al., 2003). Es un árbol muy versátil de gran importancia en el ámbito forestal, medicinal, que es empleado en el tratamiento de distintas enfermedades por sus propiedades antivirales y antimicrobianas; también se emplea para la producción de abonos, insecticidas, nematocidas y fungicidas (Fernández et al., 2016; Trujillo et al., 2008; Sunday y Atawodi, 2009).

El neem, tiene la capacidad de adaptarse a condiciones adversas tales como altas temperaturas, suelos áridos y ácidos; es fuente de pesticidas naturales que contiene tetrapenoides que se encuentran en la corteza, hojas, frutos y semillas, la actividad biológica del extracto se debe a que posee alrededor de 18 compuestos, entre los cuales se destacan con mayor concentración la azadirachtina A, salanina y nimbina (Acosta y Cándano, 2018).

El neem contiene diversos compuestos (Figura 6) como alcaloides, esteroides, taninos, terpenoides, flavonoides, polifenoles y saponinas con actividad insecticida y nematocida de fácil biodegradación, muy baja residualidad en el suelo y en productos vegetales (Szwako et al., 2017; Akpuaka et al., 2013).

### Figura 6

Estructura de compuestos bioactivos de neem.



Fuente: Biswas et al. (2002)



- Hierba luisa (*Cymbopogon citratus* Spreng)

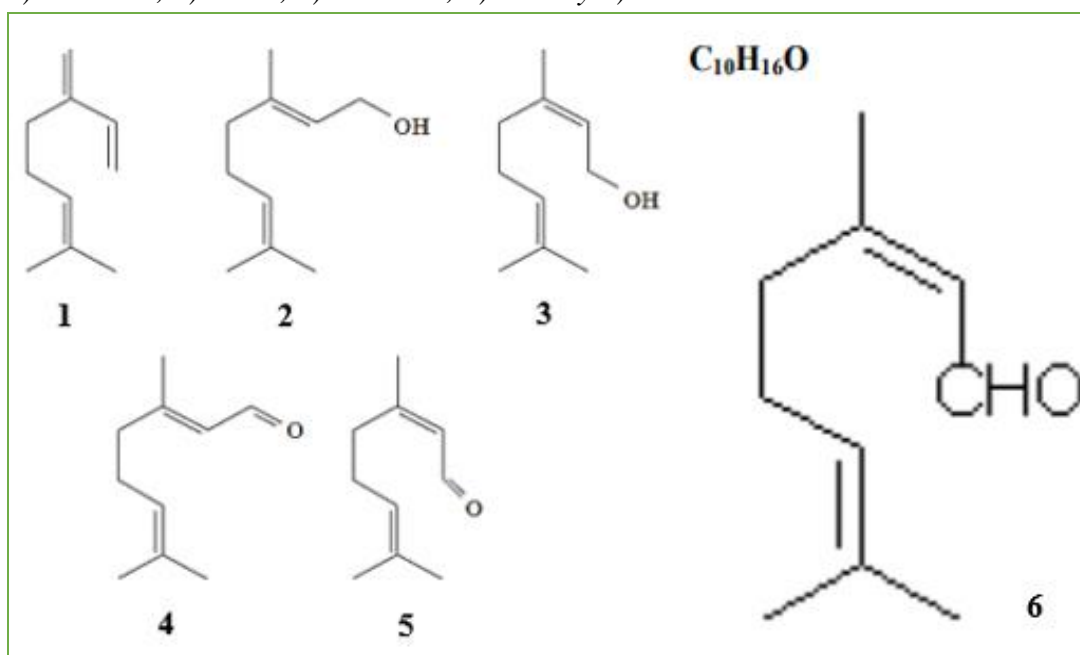
*C. citratus*, es una planta herbácea perteneciente a la familia Poaceae, y su principal compuesto es el citral en un 70-80% utilizado para la síntesis de compuestos aromáticos y vitamina A (Figueirinha et al., 2008; Puatanachokchai et al., 2002). Tiene varias aplicaciones en la agricultura, salud y alimentación por su composición química en las hojas (Sousa et al., 2010).

La hierba luisa usada en té, infusión y extractos preparados con hojas frescas o secas se usa en medicina como reparador digestivo, antitusivo, expectorante, analgésico y es efectivo en resfriados (Negrelle y Gomes, 2007).

Algunas especies de plantas como *Cymbopogon citratus*, contienen aceites esenciales principalmente aldehídos (Figura 7) y demás compuestos como hidrocarburos, terpenos, alcoholes, cetonas y ésteres, además posee propiedades nematocidas (Fabiya et al., 2018).

### Figura 7

Estructuras químicas de aldehídos presentes en aceites esenciales de *C. citratus*: 1) Mirceno, 2) Geraniol, 3) Nerol, 4) Geranial, 5) Neral y 6) Citral

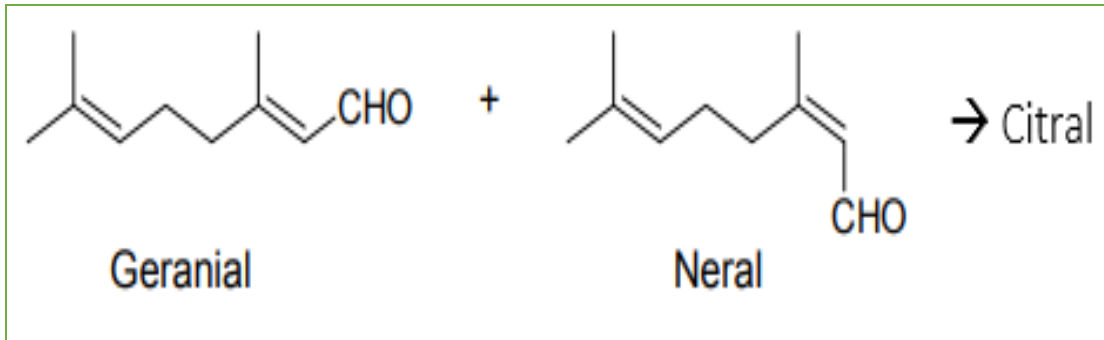


Fuente: Arai y Coello (2020)

Dentro de aldehídos principales con más concentración se encuentra el citral formando entre el 70 y 85 % aproximadamente, el citral es una mezcla de geranial (41%) y neral (30%), también contiene otros aldehídos como mirceno (15%), geraniol (5%) y nerol en niveles más bajos junto con otros compuestos volátiles ( $0 \pm 5\%$ ), además estos componentes se consideran tóxicos de células metabólicas (Figura 8) (Arai y Coello, 2020).

### Figura 8

Formación del citral a partir de geranial y neral presentes en la hierba luisa.



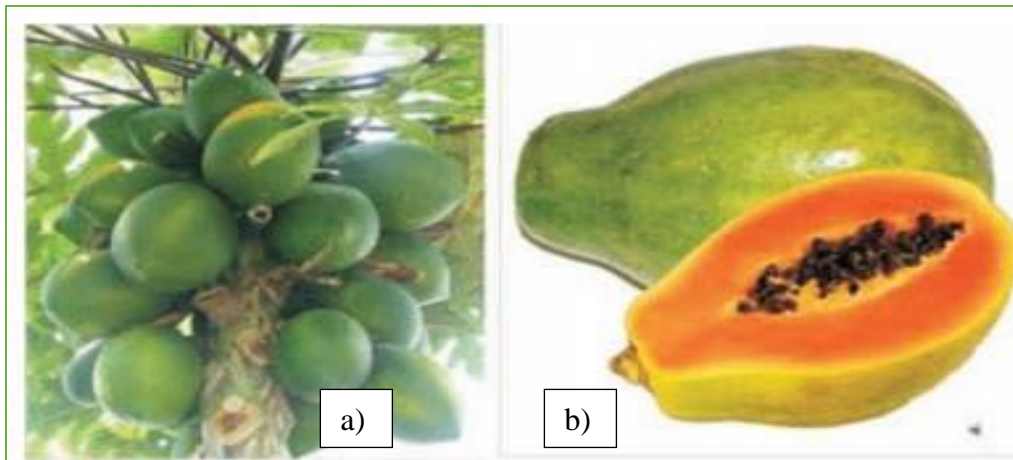
Fuente: Shah et al., 2011)

- Papaya (*Carica papaya* Linneo.)

El origen de la papaya se ubica en las tierras bajas de América Tropical especialmente en Mesoamérica, la planta de esta especie es perenne de vida corta y puede alcanzar hasta 9 metros de altura, su tronco es herbáceo, hueco y sin ramas, tiene hojas con un peciolo grande y las semillas alcanzan su madurez cuando la baya está madura (Figura 9) (Jiménez, 2002).

### Figura 9

*C. papaya* a) planta y b) fruto de papaya



Fuente: Jiménez (2002)

Las diferentes partes de la planta de papaya contienen varios compuestos químicos como: proteína, grasa, minerales, tiamina, riboflavina compuestos volátiles, ácidos linoleico y oleico, lípidos, ácidos grasos de semilla, carpaína, caricina, enzimas, alcaloides, glucosa, látex-papaína y entre otros (Tarun y Yash, 2015).

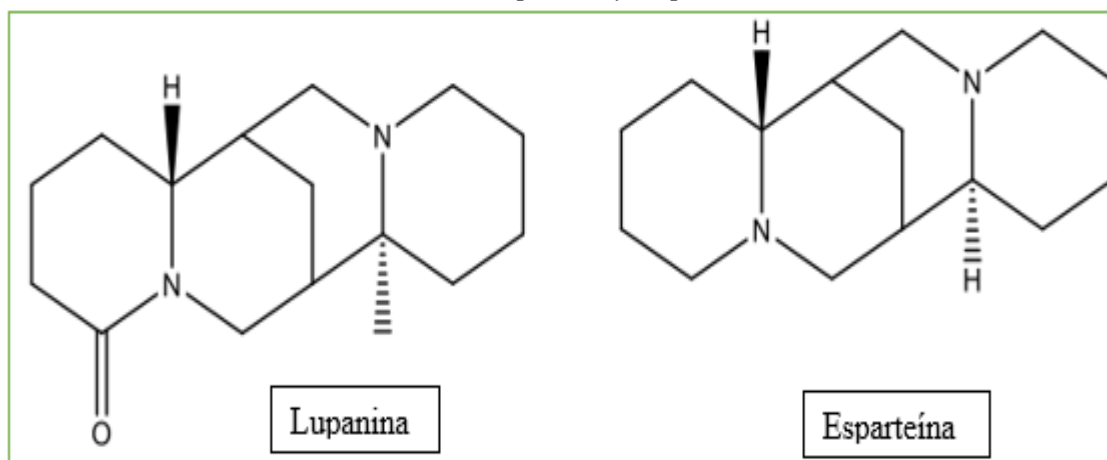
Dorado (2017) mencionan que las semillas de papaya son comestibles y se han empleado como adulterantes de la pimienta negra debido a su apariencia y sabor picantes, además, poseen compuestos bioactivos como el bencil isotiocianato y también tienen propiedades utilizadas para el control de plagas que atacan los cultivos.

- Chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet)

El chocho (*Lupinus mutabilis*) es una planta leguminosa originaria de los Andes, caracterizada por tener un elevado contenido de proteína y ácidos grasos, entre otros, por lo que es considerada en una excelente alternativa para la nutrición, las semillas poseen en su estructura alcaloides quinilizidínicos que confieren cierto grado de toxicidad y sabor amargo, los alcaloides presentes en la semilla son esparteína, lupanina (Figura 10), lupinidina, entre otros que son empleados para controlar ectoparásitos y parásitos intestinales de animales domésticos. También los agricultores utilizan el agua de cocción del chocho como biocida para el control de plagas que ocasionan daño en las plantas (Jacobsen y Mujica, 2006).

### Figura 10

Estructura molecular de los alcaloides lupanina y esparteína.



Fuente: Zamora et al. (2009)

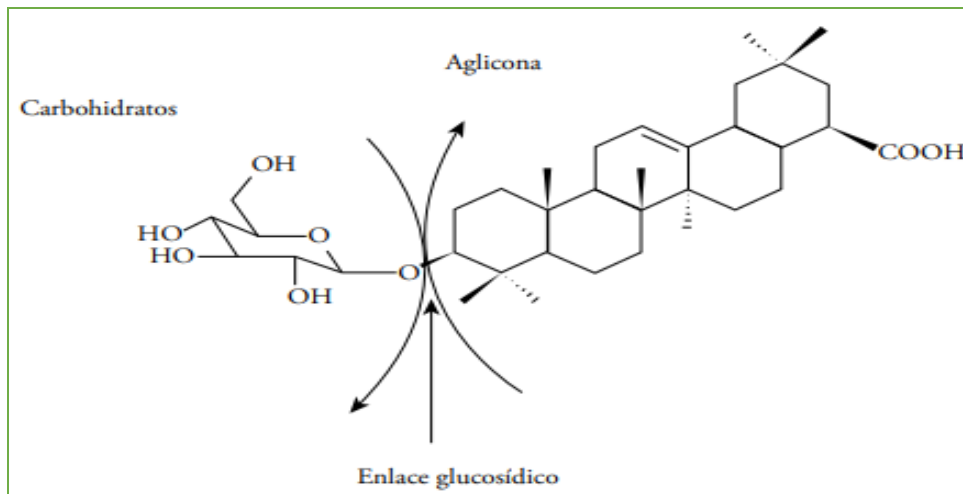
Los alcaloides, terpenoides y fenilpropanoides forman parte de los metabolitos secundarios, estos compuestos actúan como medio de defensa ante plagas e insectos, ya sea matando o inhibiendo la reproduciendo de los microorganismos, además sintetizan enzimas que degradan la pared celular del patógeno (Sharapin, 2000).

- Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)

La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) es una especie perteneciente a la familia Amaranthaceae, originaria de la región sur de América principalmente de países como Perú, Ecuador, Chile, Bolivia y Colombia (Andrews, 2017). La quinoa se ha clasificado en variedades dulces y amargas debido al contenido de saponinas (Figura 11), un metabolito secundario que sintetiza la biosíntesis del ácido acético hasta llegar a convertirse en sapogenina triterpénica o esteroidal y al unirse a otros compuestos combinados de azúcares forman alrededor de 30 saponinas diferentes que se encuentran presentes en tallos, hojas, semillas, panojas y flores y la cantidad de estos compuestos depende de las condiciones edáficas y climáticas (Vega et al., 2010; Szakiel et al., 2011; Apaza et al., 2016).

## Figura 11

Estructura general de una saponina de *C. quinoa*



Fuente: Ortega et al. (2016)

En la actualidad el uso que se les da a las saponinas presentes en las semillas de quinua (*Chenopodium quinoa*) se ha diversificado, se emplean para el control de plagas presentes en los cultivos de tomate, papa y haba por sus propiedades de biocontrolador y bioplaguicida de hongos fitopatógenos del género *Aspergillus* y *Fusarium* (Tenorio et al., 2010).

- Procesos de extracción

Los procesos de extracción consisten en incorporar las sustancias activas de una planta a un solvente, que generalmente suele ser agua o alcohol. La extracción se puede realizar en frío o en caliente, y el producto final puede ser una solución concentrada en función de la sustancia de origen y se dividen de acuerdo al disolvente utilizado. Según Reyes et al. (2011); Mena et al., (2015) y Oliveros et al. (2011) la extracción se divide en:

### Extracción con agua

- Infusión. - son procesos simples de extracción con agua, en donde se agrega agua caliente o fría al material molido y luego se filtra.
- Destilación por arrastre con vapor de agua. - Para realizar la destilación se usan alambiques de características variables y adaptadas a cada tipo o caso específico.
- Decocción. - este método de extracción con agua en donde el material se hierve por un tiempo de quince minutos.

### Extracción con solventes orgánicos

- Maceración. - Es una extracción a temperatura ambiente, en donde se remoja el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente ya sea agua o alcohol, hasta que penetre y disuelva las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa en donde se colocan el material vegetal con el disolvente y se deja tapado en reposo por un período de dos a catorce días con agitación esporádica.

Luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto.

- Lixiviación o percolación. - se puede realizar con disolventes orgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles que pudiera contener el material, consiste en colocar el material fragmentado en un embudo o recipiente cónico y hacer pasar un disolvente adecuado a través de este.
- Extracción Soxhlet. - es un método en caliente, que se emplea solventes con puntos de ebullición bajo, para evitar la degradación de la muestra ideal para obtener los extractos crudos de las plantas.
- Digestión. - este proceso se agrega solvente caliente al material vegetal molido, la temperatura del solvente permite una mayor extracción de seis compuestos ya que la solubilidad de la mayoría de las especies aumenta con la temperatura.
- Fluido supercrítico. - es una técnica limpia de separación de sustancias de carácter liposoluble, mediante el uso de co-solventes para mejorar la extracción y fraccionamiento de aceites vegetales.

- Mecanismo de acción

Las plantas tienen la capacidad de protegerse de las plagas sintetizando una gran variedad de metabolitos secundarios relacionados con los mecanismos de defensa, que han mostrado un efecto antimicrobiano, entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Cowan, 1999).

Sus mecanismos de acción son variables; como la toxicidad de los fenoles en microorganismos así como la ruptura de la membrana a través de los compuestos lipofílicos por parte de los terpenos y aceites esenciales. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el ADN, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Medina et al., 2014; Hernández et al., 2018).

Los extractos vegetales pueden ser utilizados para el control de plagas con la ventaja de no provocar contaminación, debido a que estas sustancias se degradan rápidamente en el medio, de esta forma las plantas con potencial biocida constituyen un componente importante de control en el manejo integrado de plagas (Iannacone y Lamas, 2002).

## **2.2. Marco legal**

La presente investigación se encuentra basada en los artículos, leyes y normas vigentes por la Constitución Nacional de la República del Ecuador bajo el régimen del Plan Nacional de Desarrollo (PND) 2017-2021 “Toda una vida” con los objetivos 3, 5 y 6 de “Garantizar los derechos de la naturaleza para las actuales y futuras generaciones” e “Impulsar la productividad y competitividad para el crecimiento económico sostenible de manera redistributiva y solidaria” y “Desarrollar las capacidades productivas y del entorno para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir Rural”.

Los cuales hacen énfasis en la conservación, recuperación y promueven las buenas prácticas que ayudan a reducir la contaminación del medio ambiente, también fomentan la producción de manera eficaz y limpia evitando el efecto del uso inadecuado de productos que afectan la salud de los seres vivos. Mediante la soberanía alimentaria se logra la seguridad de consumir alimentos sanos que mejoran y mantienen la salud humana. Por este objetivo se realizó la búsqueda de alternativas amigables con el ambiente mediante el uso de extractos vegetales de neem, chocho, quinua, papaya y hierba luisa para reducir un patógeno importante que ataca a los cultivos de importancia económica del país como es el nematodo agallador *Meloidogyne incognita*.

La investigación realizada también se encuentra basada en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas como el objetivo 12 “Garantizar modalidades de consumo y producción sostenible”, enfocada en el consumo y la producción mundial mediante el uso responsable de los recursos naturales mitigándola degradación medioambiental que pone en peligro los sistemas de desarrollo sostenible y la supervivencia en el planeta. Los impactos que ha tenido el ambiente también se deben a la producción agrícola porque lo que esto genera residuos, degrada la tierra, disminuye la fertilidad del suelo, el uso insostenible del agua; estos problemas afectan directamente la capacidad de los recursos naturales para suministrar los alimentos.

De igual manera está basada en los principios de la producción orgánica vegetal, en el artículo 20 “Del manejo de plagas” hace énfasis en el manejo de malezas, plagas y enfermedades debe ser realizado considerando labores mecánicas, físicas (luz, sonido, vapor) o biológicas (semioquímicos, aleloquímicos, controladores biológicos) y preparaciones biodinámicas a partir de estiércol de animales y residuos de plantas.

# CAPITULO III MARCO METODOLÓGICO

## 3.1. Descripción del área de estudio

La presente investigación se realizó, en el Laboratorio de Nematología- Estación Experimental “Santa Catalina” del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicada en la parroquia Cutuglagua, cantón Mejía, provincia de Pichincha.

### 3.1.1. Ubicación geográfica

Las características geográficas que tiene el lugar en el que se realizó la presente investigación se muestran en la Tabla 1 y en la Figura 12 se indica el mapa de ubicación del experimento.

**Tabla 1**

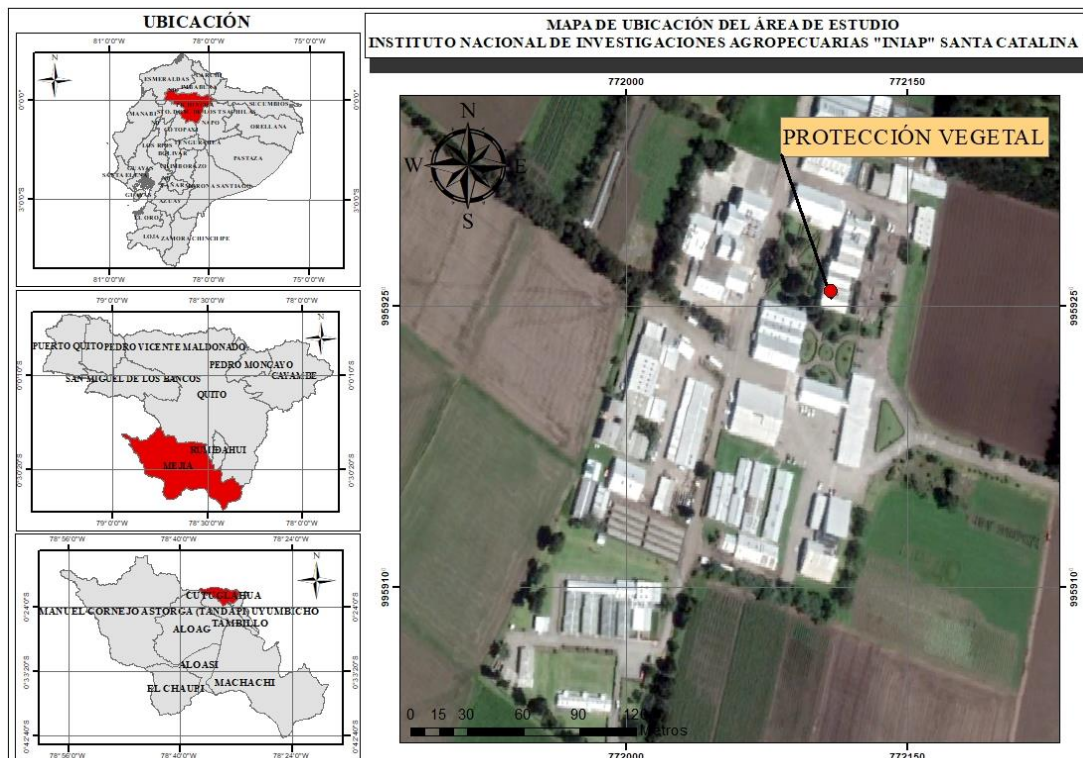
*Datos geográficos del área de estudio*

Datos Geográficos	
Provincia	Pichincha
Cantón	Mejía
Parroquia	Cutuglagua
Lugar	Estación Experimental “Santa Catalina”
Latitud	00° 22'57.33" S
Longitud	78°33'18.46" O
Altitud	3064 m.s.n.m.

Fuente: INIAP (2014)

**Figura 12**

*Mapa de ubicación del sitio del experimento.*



### 3.1.2. Características climáticas

La temperatura promedio anual determinada por la Estación Meteorológica Izobamba, EESC-INIAP (2017) de laboratorio es de 13.8 °C en donde se instaló el experimento. Sin embargo, el experimento se llevó a cabo en condiciones controladas de laboratorio a una temperatura de 27 °C.

### 3.2. Materiales y métodos

Los materiales, equipos, insumos y herramientas que se utilizaron en la presente investigación se encuentran mencionados en la Tabla 2.

**Tabla 2**

*Listado de materiales, equipos, insumos y herramientas a utilizar en el manejo del experimento.*

Materiales	Equipos
Agua destilada	Cámara fotográfica
Libreta de campo	Estereomicroscopio ZEISS
Cajas Petri	Computadora
Embudos	Incubadora INDUCCELL
Papel filtro	Licuada Osterizer
Contador de Nematodos	Balanza UWE
Vasos de precipitación	Agitador magnético Talboys
Frascos de vidrio 1000 ml	Rotavapor "RS 3000-V" SELECTA
Balón de destilación	Centrífuga INTERNATIONAL CENTRIFUGE
Pipeta y puntas	Espectrofotómetro Visocolor PF-11
Tamices 74 y 25 micras	Refrigeradora 4 °C

Insumos
Extractos
Hojas de neem ( <i>Azadirachta indica</i> A. Juss)
Semillas de papaya ( <i>Carica papaya</i> Linneo.)
Semillas de quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd)
Semillas de chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet)
Hojas de hierba luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> Spreng)
Herramientas
Pescador de nematodos

#### 3.2.1 Factores en estudio

En la presente investigación los factores en estudio estuvieron constituidos por: Extractos vegetales, dosis de los extractos y tiempo.



**A. Extractos Vegetales**

- Nivel 1: Neem
- Nivel 2: Chocho
- Nivel 3: Quinua
- Nivel 4: Papaya
- Nivel 5: Hierba luisa

**B. Dosis**

- Nivel 1: 0.05 g/ml
- Nivel 2: 0.25 g/ml
- Nivel 3: 0.50 g/ml
- Nivel 4: 1.25 g/ml
- Nivel 5: 2.50g/ml

**C. Tiempo**

- Nivel 1: 3 horas
- Nivel 2: 6 horas
- Nivel 3: 24 horas
- Nivel 4: 48 horas
- Nivel 5: 72 horas

Para conocer el efecto de los extractos vegetales también se tomó en cuenta el testigo absoluto (Agua destilada), cabe mencionar que los datos obtenidos del testigo absoluto se utilizaron para ingresar en la fórmula de Abbott en la variable del porcentaje de mortalidad y no se realizó ninguna comparación de los extractos vegetales con el testigo.

### 3.2.2. Tratamientos

Para la presente investigación los tratamientos estuvieron conformados por la suma de los tres factores, como se observa en la Tabla 3. La codificación representa el tratamiento y este tuvo cinco repeticiones en la evaluación. Cada extracto fue evaluado con las cinco dosis (g/ml) y en los cinco tiempos (horas) que se mencionan en dicha tabla.

**Tabla 3**

*Números de tratamientos que se evaluaron en la presente investigación.*

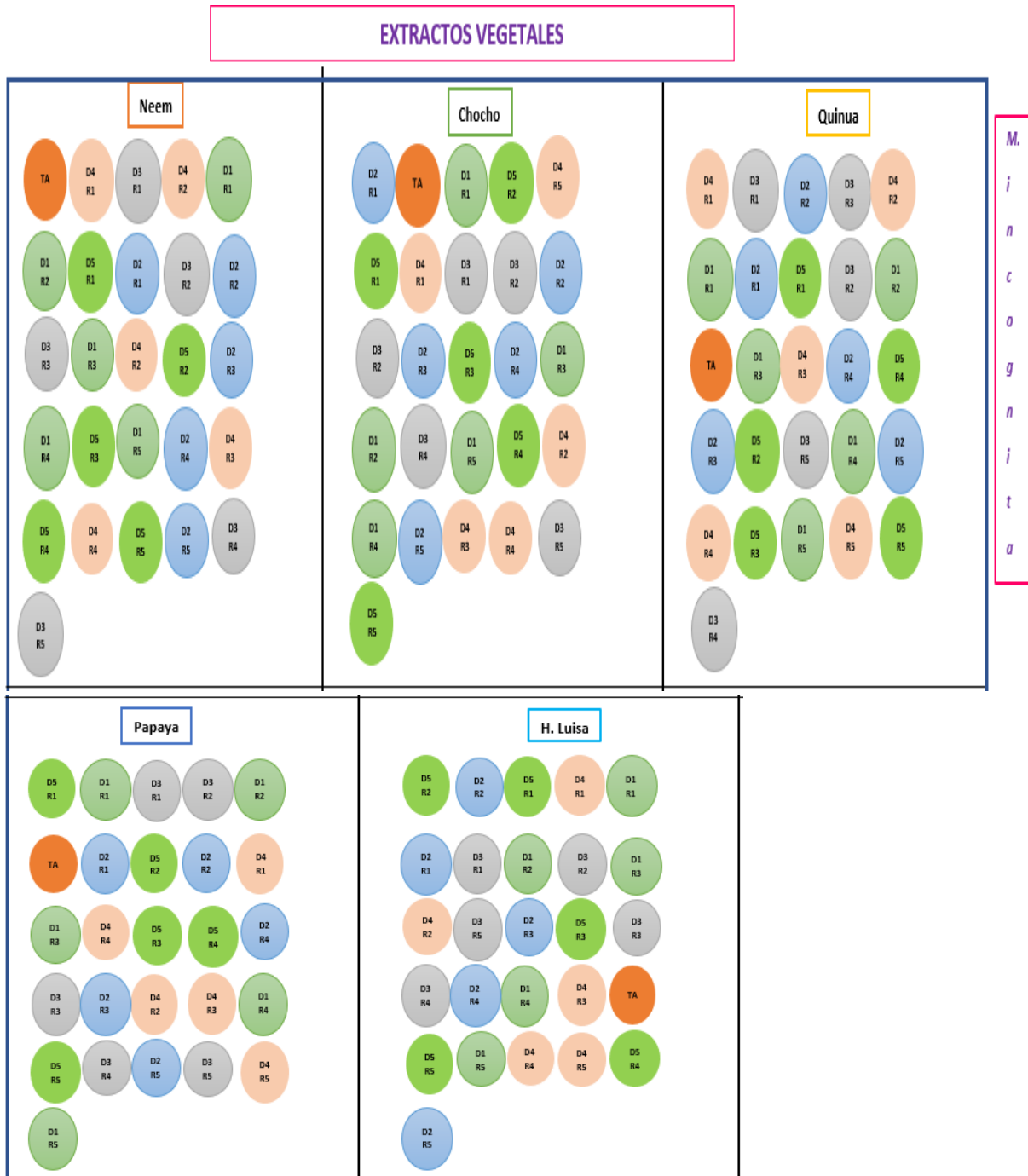
Codificación	Extracto	Dosis (g/ml)	Tiempo (horas)	Codificación	Extracto	Dosis (g/ml)	Tiempo (horas)
D1R1	Neem	0.05	3	D1R1	Papaya	0.05	3
D2R1	Neem	0.25	6	D2R1	Papaya	0.25	6
D3R1	Neem	0.50	24	D3R1	Papaya	0.50	24
D4R1	Neem	1.25	48	D4R1	Papaya	1.25	48
D5R1	Neem	2.50	72	D5R1	Papaya	2.50	72
Codificación	Extracto	Dosis (g/ml)	Tiempo (horas)	Codificación	Extracto	Dosis (g/ml)	Tiempo (horas)
D1R1	Quinua	0.05	3	D1R1	Hierba luisa	0.05	3
D2R1	Quinua	0.25	6	D2R1	Hierba luisa	0.25	6
D3R1	Quinua	0.50	24	D3R1	Hierba luisa	0.50	24
D4R1	Quinua	1.25	48	D4R1	Hierba luisa	1.25	48
D5R1	Quinua	2.50	72	D5R1	Hierba luisa	2.50	72
Codificación	Extracto	Dosis (g/ml)	Tiempo (horas)				
D1R1	Chocho	0.05	3				
D2R1	Chocho	0.25	6				
D3R1	Chocho	0.50	24				
D4R1	Chocho	1.25	48				
D5R1	Chocho	2.50	72				

### 3.2.3. Diseño experimental

La Figura 13 muestra que se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 5x5 y con medidas Repetidas en el Tiempo con cinco repeticiones. En la figura para cada extracto fue incluido el agua destilada como testigo esto fue para obtener resultados para la variable porcentaje de mortalidad. Pero no fue tomada en cuenta como tratamiento, ya que no se hicieron comparaciones con el testigo absoluto.

**Figura 13**

*Distribución de los tratamientos en el laboratorio.*



D = Dosis

R = Repetición

### 3.2.4. Características del experimento

- Tratamientos: 25
- Repeticiones: 5
- Número de unidades experimentales: 125
- Área total del ensayo: 1 m<sup>2</sup>

### 3.2.5. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (Tabla. 4) con el programa Infostat, la prueba de medias se realizó en base a Fisher con un nivel de significancia del 5%.

**Tabla 4**

*Análisis de varianza (ADEVA) del Diseño Completamente al Azar con Medidas Repetidas en el Tiempo con cinco repeticiones.*

Fuentes de Variación	Grados de libertad
Extracto	4
Dosis	4
Tiempo	4
Extracto*Dosis	16
Extracto*Tiempo	16
Dosis*Tiempo	16
Extracto*Dosis*Tiempo	64
Error experimental	501
Total	624

### 3.2.6 Variables a evaluarse

La evaluación de las variables se realizó a cada tratamiento a las 3, 6, 24, 48 y 72 horas.

#### 3.3.1. Porcentaje de mortalidad corregida de juveniles de *Meloidogyne incognita*

Se colocaron 50 infectivos juveniles (J2) de *M. incognita* en una caja Petri con cada una de las respectivas dosis de los tratamientos descritos anteriormente. Para esta variable se siguió la metodología propuesta por Patidar et al. (2016) misma que propone realizar observaciones a las 3, 6, 24, 48 y 72 horas después de la exposición de los tratamientos a los nematodos. Para determinar el porcentaje de mortalidad corregida se utilizó la fórmula de Abbott (1925). En la fórmula se tomó en cuenta al testigo absoluto.

$$\% \text{Mortalidad corregida} = \frac{\% \text{mortalidad tratamiento} - \% \text{mortalidad testigo}}{100\% - \% \text{mortalidad testigo}} \times 100$$

Cabe mencionar que en esta variable se tomó en cuenta los tres factores en estudio como la dosis, tiempo para cada extracto. Los resultados de los extractos se analizaron por separado, pero al final se realizó un apartado de la comparación entre los tres factores.

### **3.3.2. Determinación de la dosis letal media para cada extracto a las 48 y 72 horas.**

Esta variable fue analizada mediante el Modelo Estadístico LOGIT en el programa estadístico RStudio versión 4.0.3 (2020), a partir de los datos de la variable de mortalidad corregida. Esta variable determina la cantidad de dosis de extractos que se necesita para matar el 50% de la población de nematodos en un tiempo determinado.

### **3.3 Manejo del experimento**

Los extractos vegetales evaluados fueron 5 con 5 dosis por extracto más 1 testigo absoluto y 5 repeticiones, obteniendo 130 unidades experimentales.

#### **3.3.3. Obtención de los extractos vegetales.**

La preparación de los extractos vegetales de quinua (*Chenopodium quinua* Willd), chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) estuvieron a cargo del Laboratorio de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental “Santa Catalina” (INIAP), para lo cual se empleó la metodología reportada por Cuadrado et al. (2015).

##### **3.3.3.1. Extracto de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet)**

Para la obtención del extracto de chocho se realizó el siguiente procedimiento (Figura 14):

- a) Se pesaron 1 kg de semilla de chocho después se realizó una molienda hasta obtener harina (Figura 14a).
- b) Se pesaron 200 g de harina en un recipiente, al cual se añadió una solución de 50 ml de ácido clorhídrico 2Normal (HCl 2N) y se aforó a 800 ml con agua destilada (Figura 14b).
- c) La mezcla se colocó bajo agitación por una hora en un magnetizador (Figura 14c).
- d) La mezcla obtenida se filtró al vacío en un embudo con papel filtro (Figura 14d).
- e) El contenido se colocó en un balón de destilación en donde se pasó por un rotavapor que separaba los alcaloides del agua. El rotavapor con agua estuvo a una temperatura de 90 °C y la potencia de -2.5 a -3.0 bar, este procedimiento se realizó hasta que se destile el agua (Figura 14e).
- f) Los alcaloides fueron centrifugados durante 20 minutos a 2500 rpm (revoluciones por minuto) para separar las proteínas de los alcaloides (Figura 14f).
- g) Finalmente se recogió el sobrenadante (alcaloides) para guardarlo en un ambiente frío a 4 °C (Figura 14g).

## Figura 14

Procedimiento para la obtención del extracto de chocho.



Nota. Las imágenes muestran el procedimiento realizado en la obtención del extracto chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet).

- h) Para conocer el contenido de alcaloides totales se realizó una titulación en la se preparó una solución de Hidróxido de Sodio al 1 Normal (NaOH 1N), el cual se pesó 2g de NaOH y se aforó a 500 ml con agua destilada y se colocó en la plancha del agitador magnético hasta disolver el hidróxido (Figura 15).
- i) En un vaso de precipitación se puso 3 ml de alcaloides y se añadieron 3 gotas de fenolftaleína para ver el cambio de coloración, la solución de hidróxido se colocó en

una pipeta y se fue colocando poco a poco en los alcaloides hasta ver el cambio de coloración.

### Figura 15

Titulación de los alcaloides del extracto de chocho.



Una vez realizada la titulación, se procedió a reemplazar los datos obtenidos (Tabla 5), en una fórmula de cuantificación de alcaloides totales propuesta por Von Baer (1979).

### Tabla 5

Contenido total de alcaloides presente en el extracto de chocho

Datos	Unidades de medida	
4.7	ml	ml gastados en la titulación
3.0804	g	densidad de 3 ml de alcaloides
0.1	Eq g	0.1 Normalidad del NaOH
248	g	Peso equivalente de la lupapina

Cuantificación de alcaloides totales

$$\frac{4.7 \text{ ml} \times 0.1 \text{ Eq g} \times 248 \text{ g} \times 1 \text{ lt}}{1 \text{ lt} \times \text{Eq g} \times 3.0804 \text{ g} \times 1000 \text{ ml}} = \frac{0.0378 \text{ g}}{\text{g}} \times 100 = 3.78 \% \text{ total de alcaloides}$$

#### 3.3.3.2. Extracto de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

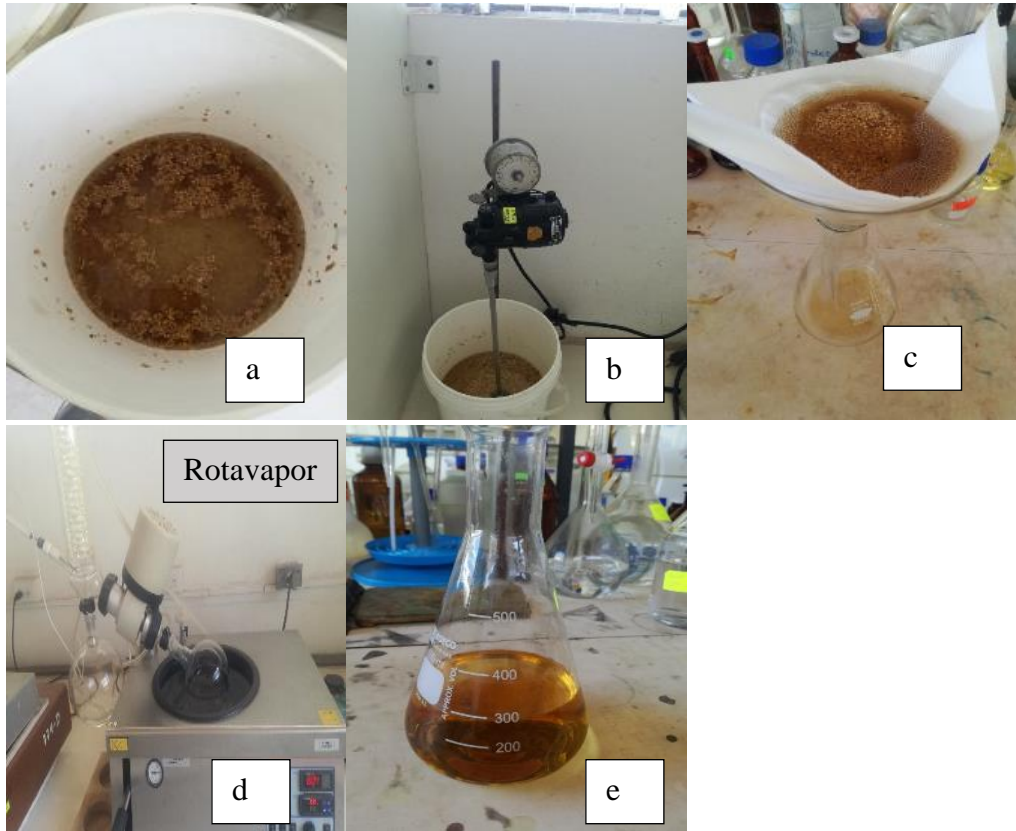
Para la obtención del extracto de quinua se siguió el siguiente procedimiento (Figura 16):

- Se pesó 50 g de semilla de quinua amarga y se colocaron en 1000 ml de una solución de etanol (50 % V/V) (Figura 16a).
- Se colocó la solución de etanol en el recipiente con las semillas de quinua y se puso bajo agitación en un magnetizador durante una hora (Figura 16b).
- Filtración de la muestra al vacío con ayuda de un embudo y papel filtro y nuevamente se enjuagaron las semillas con la solución de etanol para seguir filtrando (Figura 16c).
- Para separar las saponinas del alcohol fue necesario pasar por destilación en el rotavapor en donde el agua debía estar a una temperatura de 80 °C y de -2.5 a -3.0 bar de potencia y esperar a la destilación total de alcohol (Figura 16d).

- e) Se centrifugaron a 2500 rpm (revoluciones por minuto) las saponinas durante 15 minutos para separar proteínas presentes en la quinua y se recogió el sobrenadante en un frasco de vidrio para guardarlo en un ambiente frío a 4 °C (Figura 16e).

### Figura 16

*Procedimiento para la obtención del extracto de quinua.*



- Calibración de saponinas

La calibración de saponinas muestra la cantidad total de saponinas presentes en la quinua (Figura 17):

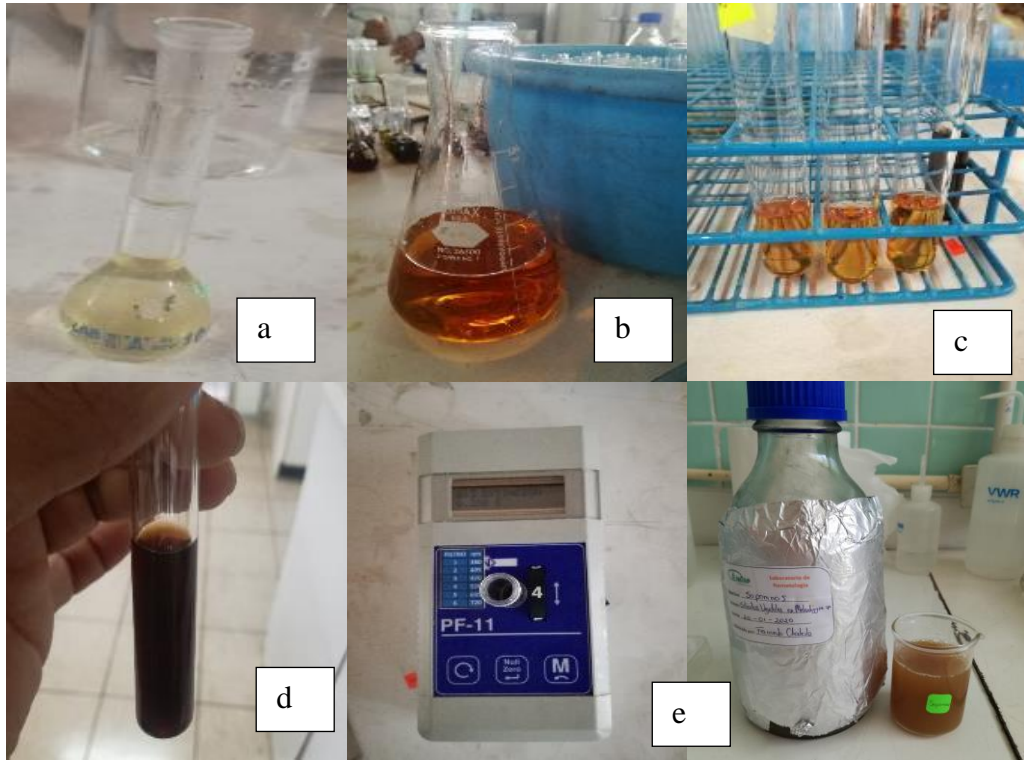
- a) Se colocó 1 ml de saponinas en un balón de 10 ml (Figura 25), y se aforó con una solución de etanol y agua destilada (50 % V/V) (Figura 17a).
- b) Se tomó 1 ml de saponinas diluidas y se colocó en un tubo de ensayo y se añadió 3.5 ml de reactivo de color 1:3 (16%) (100 ml anhídrido acético + 300 ml de ácido sulfúrico, el reactivo de color es para que las saponinas reaccionen y cambien de color es decir se tornen de color negro). Cuando se estuvo colocando el reactivo de color en los tubos de ensayo la gradilla debía estar en un recipiente con agua fría para evitar quemaduras (Figura 17b).
- c) Se agitó los tubos de ensayo en el agitador vortex por 3 segundos y se dejó reposar por 30 minutos las muestras para ver el cambio de color (Figura 17c y d).
- d) Una vez cumplidos los 30 minutos, se colocaron las muestras en el espectrofotómetro para realizar lecturas a 528 nm y en absorbancias.



- e) Finalmente, al obtener los datos se conoció el contenido total de saponinas presentes en el extracto de quinua (Figura 17e).

**Figura 17**

*Procedimiento de calibración de saponinas.*



La Tabla 6, muestra el resultado de la evaluación de tres muestras de saponinas en el espectrofotómetro.

**Tabla 6**

*Resultados obtenidos de la lectura de saponinas en el espectrofotómetro.*

N° de muestra	Contenido	Lectura espectrofotómetro
1	0.254	Absorbancias
2	0.260	Absorbancias
3	0.280	Absorbancias

El procedimiento del cálculo de saponinas fue realizado para cada muestra de forma individual siguiendo el procedimiento descrito por Monje, C. y Yarko, Al. (2006) “Saponin from Quillaja bark (Sigma Aldrich)”.

Fórmula

$$y = 1.815x + 0.016$$

$$x = \frac{y - 0.016}{1.815}$$

$$x = \frac{0.254 - 0.016}{1.815} = 0.1311 \frac{mg}{ml}$$

$$x = \frac{0.1311 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}}{50 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}} \times 100 = 0.2622 \quad 0.2622 \times 10 = 2.62\%$$

La Tabla 7 muestra los tres porcentajes obtenidos del cálculo de saponinas realizado en la fórmula, los resultados se sumaron y se sacó el promedio para conocer el porcentaje total de contenido de saponinas en el extracto de quinua.

**Tabla 7**

*Contenido total de saponinas presentes en el extracto de quinua.*

N° de muestra	Contenido de saponinas %
1	2.62
2	2.69
3	2.90
Suma	$8.21 \div 3 = 2.74$ % Total de saponinas

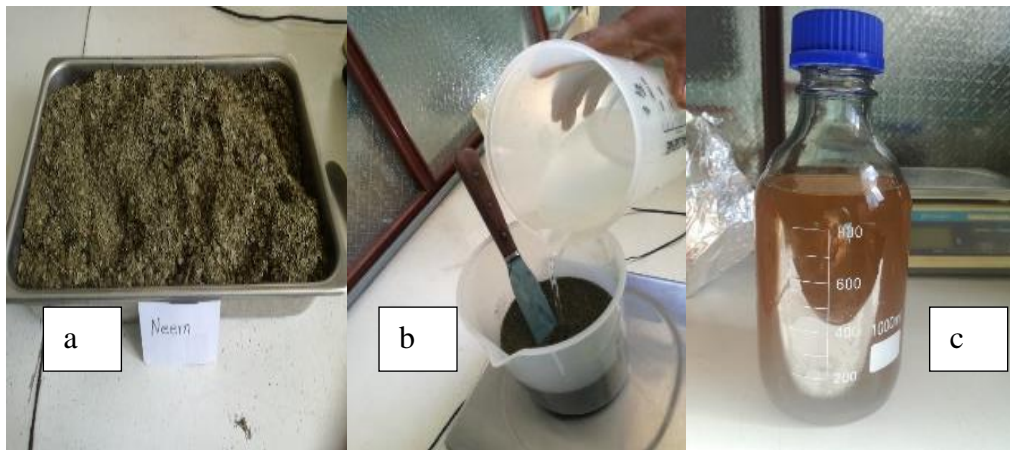
### 3.3.3.3. Extracto de neem (*Azadiractina indica* A.Juss)

Para la obtención del extracto de neem se siguió el siguiente procedimiento.

- Se pesaron 10 g de hojas de neem y se secaron en la estufa a 40 °C por un día, luego se maceraron con un mortero (Figura 18a).
- La muestra se colocó en un vaso de precipitación y se aforó con agua destilada a 1000 ml (Figura 18b).
- Se agitó la mezcla y se dejó reposar en un lugar fresco por 24 horas. Finalmente, todo el extracto se filtró al vacío y se guardó en un ambiente frío a 4 °C (Figura 18c).

**Figura 18**

*Procedimiento de obtención del extracto de neem.*



### 3.3.3.4. Extracto de Papaya (*Carica papaya* L.)

Para la elaboración del extracto de papaya se procedió de la siguiente manera (Figura 19):

- Las semillas de papaya fueron secadas en la estufa a 26 °C por 24 horas (Figura 19a).
- De la muestra se pesó 5 g de semillas secas, y se procedió a licuar con 10 ml de agua destilada durante 30 segundos (Figura 19b).

- c) Luego se pasó el contenido por un tamiz de 74 micras y luego se aforo el extracto a 500 ml con agua destilada (Figura 19c).
- d) Finalmente se obtuvo el extracto de semilla de papaya y se guardó en un ambiente frío a 4 °C (Figura 19d).

**Figura 19**

*Procedimiento para la obtención del extracto de papaya.*



**3.3.3.5. Extracto de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* Spreng.)**

El procedimiento en la obtención del extracto de hierba luisa se describe a continuación (Figura 20):

- a) Se colocaron las hojas de hierba luisa en la estufa a una temperatura de 26°C por 5 horas (Figura 20a).
- b) Una vez secas las hojas, se procedió a macerar en un mortero de porcelana (Figura 20b).
- c) Se pesó 10 g del polvo obtenidos y se colocó en un vaso de precipitación con agua destilada (100 ml). La muestra fue puesta bajo agitación durante 24 horas (Figura 20c).
- d) El extracto se filtró al vacío con ayuda de un embudo y papel filtro (Figura 20d).
- e) El extracto se mantuvo en un ambiente frío de 4 °C (Figura 20e).

## Figura 20

*Procedimiento para la obtención del extracto de hierba luisa.*



### 3.3.4. *Obtención de inóculo de Meloidogyne incognita.*

Se realizó el aislamiento de nematodos a partir de la metodología de licuado tamizados de Hussey y Barker (1963) (Figura 21):

- Se seleccionó raíces de plantas de tomate riñón que tenían presencia de agallas (Figura 21a).
- Las raíces se lavaron con agua fría y se eliminaron los restos del suelo presente en las mismas (Figura 21b).
- Después se cortó en trozos de 1cm con un cuchillo y se colocó 10 g de raíces en una licuadora (Figura 21c).
- Luego se licuaron por 30 segundos con hipoclorito de sodio al 0.5% y se agitó por un minuto (Figura 21d).
- Después se pasó por tamices consecutivos de 74 y 25 micras y se lavó a presión hasta eliminar el hipoclorito (Figura 21e).
- Luego se recogió la muestra del tamiz de 25 micras en un matraz de Erlenmeyer y se aforó con agua destilada hasta 100 ml. Finalmente, la suspensión fue llevada para observación bajo un estereoscopio para el conteo de juveniles y huevos (Figura 21f).

**Figura 21**

*Procedimiento para la obtención del inóculo.*



**3.3.5. Toma de datos de las variables en las unidades experimentales.**

Se evaluaron las variables antes mencionadas de acuerdo con el manejo del experimento.

Las unidades experimentales fueron pocillos de placas de cultivo celular, cada pocillo contenía 50 juveniles J2 de *M. incognita* más la respectiva dosis de cada extracto y el agua destilada, teniendo un total de 5 ml (Figura 22).

**Figura 22**

*Unidad experimental utilizada en el ensayo*



El ensayo fue de acuerdo al diseño experimental teniendo un total de 25 tratamientos, a los cuales se realizó cinco observaciones a las 3, 6, 24, 48 y 72 horas respectivamente.

- a) En primer lugar, se recogió el inóculo de juveniles J2, y este se pasó por un tamiz de 25 micras, la muestra se colocó en una caja contadora de nematodos y se llevó a la observación bajo estereoscopio para verificar la presencia de juveniles vivos.
- b) Una vez verificado la presencia de juveniles, se procedió a coger con una pipeta 0.05 ml de J2 y este fue colocado en el pocillo luego se revisó y se contabilizó la presencia de 50 juveniles con ayuda de un contador de nematodos.
- c) Luego se añadió las dosis con ayuda de una pipeta correspondientes de cada extracto vegetal.
- d) Para completar los 5 ml de cada tratamiento se añadió agua destilada con ayuda de una pipeta. Los pocillos fueron llevadas a una incubadora a 27 °C (Figura 23).

### Figura 23

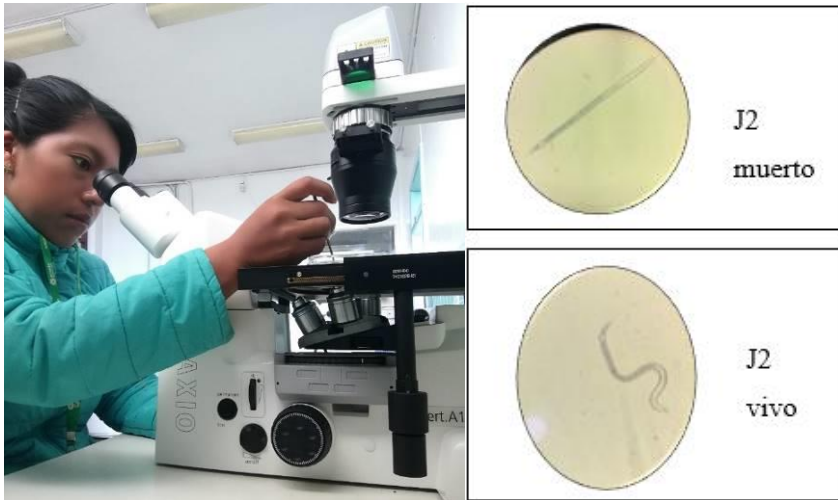
*Procedimiento para la instalación del ensayo.*



- e) La lectura fue realizada mediante un esteresmicroscopio en el cual se verificó la muerte de juveniles cada 3, 6, 24, 48 y 72 horas respectivamente con ayuda de un pescador de nematodos se pinchó el juvenil para ver si estaba vivo o muerto esto se realizó a todos los tratamientos y testigo en cada extracto vegetal evaluado (Figura 24).

**Figura 24**

*Observación de la mortalidad de juveniles de acuerdo al tiempo evaluado.*



*Nota.* La figura muestra la observación bajo estereomicroscopio el juvenil J2 vivo y muerto.

## CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la evaluación de la efectividad de extractos vegetales frente a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) *in vitro*, se presentan en los siguientes apartados:

### 4.1 Porcentaje de mortalidad corregida de juveniles de *M. incognita*.

En el análisis de varianza realizado para la variable porcentaje de mortalidad corregida de juveniles de *M. incognita*, se puede observar que el valor p tiene significancia ( $p = <0.0001$ ), es decir que existe diferencias significativas entre los tratamientos tanto para los extractos vegetales y dosis y la respectiva interacción, por lo que se acepta la hipótesis alternativa de que al menos un extracto fue eficiente para controlar juveniles J2 (Tabla 9).

**Tabla 8**

*Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad corregida de juveniles de M. incognita.*

Fuente de variación	Grados de libertad F.V	Grados de libertad Error	Valor F	Valor p
Extracto	4	496	3992.27	<0.0001
Dosis (g/ml)	4	496	3064.91	<0.0001
Tiempo	4	496	17822.86	<0.0001
Extracto:Dosis (g/ml)	16	496	217.38	<0.0001
Extracto: Tiempo	16	496	961.24	<0.0001
Dosis (g/ml): Tiempo	16	496	1714.29	<0.0001
Extracto: Dosis (g/ml): Tiempo	64	496	176.72	<0.0001

En la evaluación realizada de los cinco extractos vegetales se puede definir que el extracto de chocho fue el mejor debido a su alta eficiencia en la mortalidad de nematodos juveniles de *M. incognita* (100%), con las dosis de 2.5 y 1.25 g/ml a las 72 horas, además es importante señalar que el resto de dosis también alcanzaron altos porcentajes en la tasa de mortalidad (Anexo 5).

Al término de las 72 horas de exposición de los nematodos con los extractos de neem, hierba luisa y papaya, alcanzaron la mortalidad total de los 50 juveniles J2 evaluados con la dosis más alta (2.5g/ml). Cabe mencionar que la efectividad de los extractos a este tiempo da a conocer la importancia del uso de esta alternativa para reducir la población de patógenos que atacan a los cultivos.

La dosis de 2.5g/ml dentro de la evaluación de cada extracto fue mejor ya que alcanzó tasas del 100% en juveniles muertos, seguido por la dosis de 1.25g/ml que en chocho y quinua llegaron a obtener el total de nematodos muertos. Por su parte, con los extractos de hierba luisa, papaya y neem alcanzaron porcentajes de 85, 76 y 35% a las 72 horas.

La dosis 0.5g/ml fue mejor para chocho seguido por quinua (77%), hierba luisa (66%) en cambio papaya y neem presentaron bajos porcentajes de mortalidad (10 y 3%). La dosis 0.25g/ml a diferencia del extracto de chocho, también los demás extractos de quinua, hierba



luisa, papaya y neem alcanzaron promedios de 52, 43, 5 y 2%. Por último, la dosis 0.05g/ml obtuvo porcentajes de 33, 5, 1 y 0.76% para quinua, hierba luisa, neem y papaya.

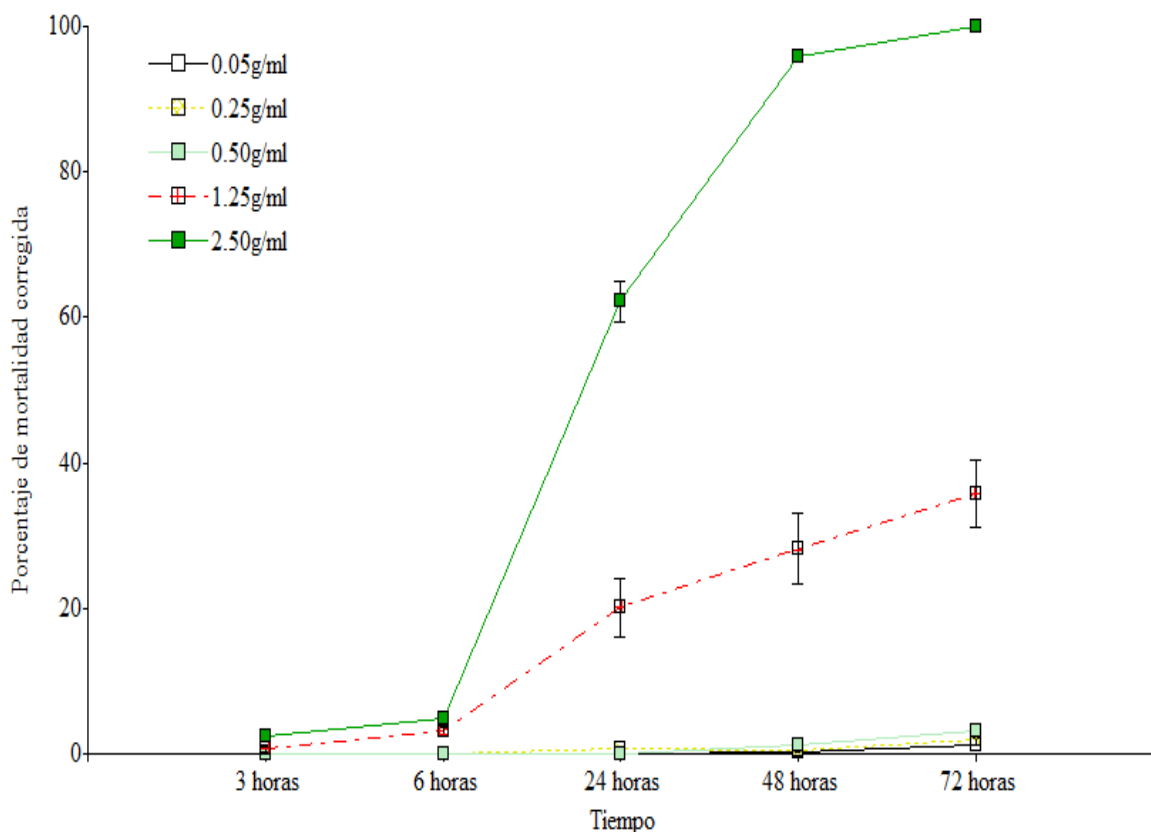
Es importante mencionar que los mejores extractos fueron chocho y quinua quizá esto se debió a la mayor concentración de compuestos por la forma que se extrajo los extractos; sin embargo, el extracto de hierba luisa es mejor debido a la eficiencia obtenida y sobre todo la forma de extracción es mediante maceración y filtración, procedimiento que puede ser replicado por los agricultores, además es una planta que es parte de los sistemas de producción dentro de la región andina.

#### 4.1.1 Extracto de neem (*Azadiractina indica* A.Juss)

En la Figura 26 se muestra el porcentaje de mortalidad corregida de juveniles J2 frente al tiempo de exposición con el extracto de neem. Se observa un comportamiento sigmoideal de la mortalidad con el extracto a través del tiempo que fue más notorio con las dosis de 1.25 y 2.50 g/ml y cuya pendiente empezó a observarse a partir de las 6 horas después de la aplicación (DDA).

**Figura 5**

Porcentaje de mortalidad de *M.incognita* con el extracto de neem.



Se alcanza una mortalidad del 100% a las 72 horas después de la aplicación del extracto con la dosis más alta (2.50 g/ml), mientras que con las otras dosis no alcanza el 50% de mortalidad durante todo el experimento. Las mortalidades promedio obtenidas con la dosis máxima fueron 62.25%, 95.75% y 100% a las 24, 48 y 72 horas DDA respectivamente.

Los resultados de la mortalidad (100%) de juveniles a las 72 horas con una dosis de 2.5 g/ml del extracto de neem, pudieron deberse a la concentración de compuestos que existen en las hojas, ya que en estudios realizados por Akpheokhai et al. (2012) se indica el efecto que tienen los extractos realizados con hojas de *Azadirachta indica* (neem) a una dosis de 50 000 mg/kg alcanzaron una mortalidad entre 93 y 94% de los juveniles de *M. incognita* al décimo día de exposición.

De igual forma los resultados alcanzados en la mortalidad de juveniles a las 48 horas a una dosis de 2.5 g/ml es alrededor del 95% (Anexo 4); esto concuerda con Moosavi (2012) que señala que a partir de este tiempo se consiguen tasas altas de mortalidad (58%) con extractos de hojas de neem a una concentración de 1 g de hojas/10 ml de agua destilada, por otra parte, es necesario señalar que la toxicidad de los extractos aumenta en la medida en que existe una mayor concentración y tiempo de exposición (Akpheokhai et al., 2012).

La mortalidad (62.25%) alcanzada a las 24 horas con el extracto de neem con la dosis 2.5g/ml fue corroborada por parte de Ochoa et al. (2019) los cuales señalan que la azadiractina (el compuesto principal del neem) tuvo efecto en juveniles de *M. incognita* alcanzando una mortalidad del 54.5% con una concentración de 12000 ppm a las 24 horas de exposición.

También Ferraz y Freitas (2008) mencionan que el efecto nematocida que tiene el neem se debe a la presencia de compuestos que se encuentran en las diferentes partes de la planta como son: azadiractina, nimbina, salanina y nimbidina.

La azadiractina es un triterpeno que tiene efectos positivos en la agricultura sobre insectos patógenos. Este compuesto inhibe la síntesis y liberación de hormonas también provoca la muda incompleta en insectos inmaduros y en hembras provoca la esterilidad (Perez, 2012).

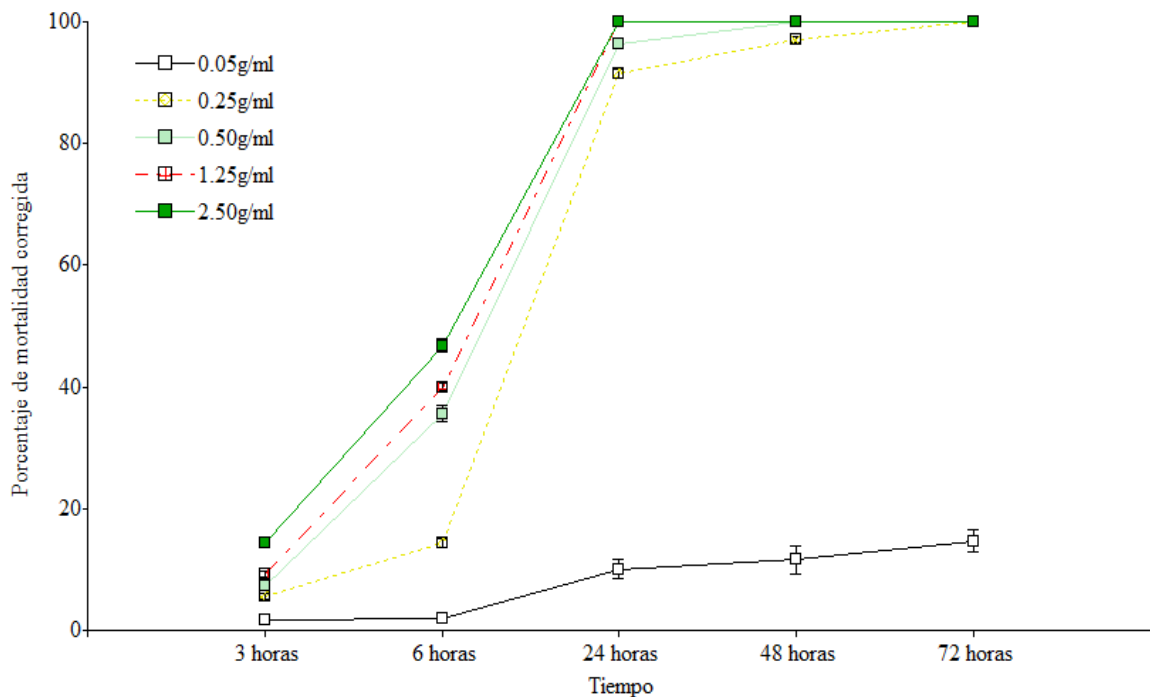
Barros et al. (2014) muestran la importancia del uso de compuestos orgánicos volátiles (COV) en la agricultura para tener un efecto nematocida mediante biofumigación del suelo con extractos de neem. Los mismos autores señalan que los COV afectan la movilidad, patogenicidad y reproducción de *M. incognita*, además estos compuestos pueden retenerse en el agua y volverse tóxica para los nematodos.

#### **4.1.2 Extracto de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet)**

Cuando se realiza el análisis de los resultados obtenidos al emplear el extracto de chocho, podemos indicar que el mismo muestra alta eficiencia en el porcentaje de mortalidad de juveniles J2 con las dosis 0.25, 0.50, 1.25 y 2.5 g/ml de extracto de chocho (Figura 27).

**Figura 6**

*Porcentaje de mortalidad de M.incognita con el extracto de chocho.*



Las dosis 2.5 y 1.25g/ml a las 24 horas alcanzan una mortalidad del 100% de juveniles; sin embargo, la dosis más baja (0.05g/ml) no tiene efecto durante este tiempo, esta dosis empieza a presentar mortalidad de *M. incognita* a partir de las 6 horas, llegando a tener un porcentaje de 14.72% de mortalidad a las 72 horas de exposición.

La tercera dosis 0.50g/ml también presentó eficiencia en el porcentaje de mortalidad de nematodos a las 24 horas con una mortalidad del 95% y a las 48 horas se obtuvo la mortalidad total de los juveniles. De igual manera la dosis 0.25g/ml obtuvo efecto positivo en la muerte del 100% de nematodos a las 72 horas.

La tasa alta de mortalidad (100%) alcanzada en la evaluación con el extracto también se debe al contenido de alcaloides que fue de 3.78% (Tabla 5); Villacrés et al. (2005) señalan que en ensayos *in vitro* realizados con extracto de chocho con el 2% de contenido totales de alcaloides presentaron propiedades nematocidas sobre larvas de *M. incognita* alcanzando una mortalidad del 93% respectivamente.

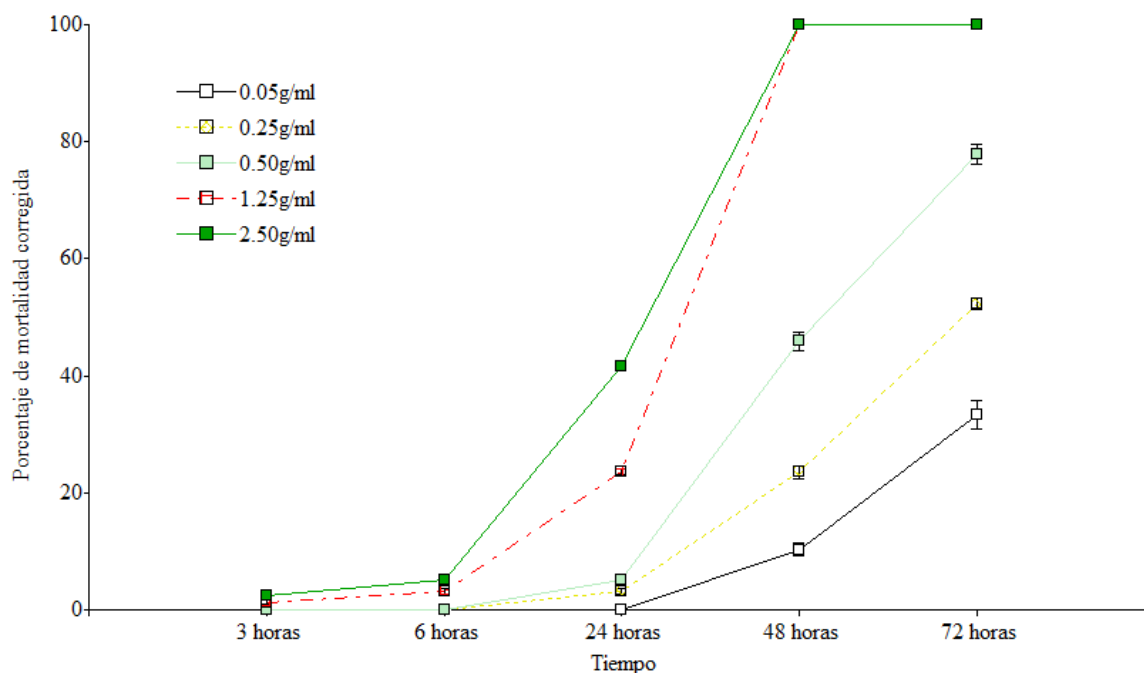
El efecto conseguido por el extracto de chocho se debe a la presencia de alcaloides que contienen las semillas, así autores como Jacobsen y Mujica (2006) mencionan que de los alcaloides identificados, la lupanina es el mayor componente, seguido por la esparteína, lupanidina, que son utilizados para controlar parásitos intestinales en animales domésticos, de igual manera el agua de cocción del chocho es empleada por los agricultores como laxante en animales y biocida para reducir las plagas presentes en las plantas.

### 4.1.3 Extracto de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

En la Figura 28 se observa que varía la tasa de mortalidad del extracto de quinua en las diferentes dosis durante diferentes tiempos, pero podemos recalcar que la dosis con mayor eficacia (100%) fue de 2.5 y 1.25 g/ml dentro de las 72 horas.

**Figura 7**

*Porcentaje de mortalidad de M.incognita con el extracto de quinua.*



Las dosis más altas (2.5 y 1.25 g/ml) presentaron una mortalidad total de nematodos a las 48 horas de exposición. Las dosis bajas (0.50, 0.25 y 0.05 g/ml) a las 72 horas presentaron un porcentaje de 77, 52 y 33% respectivamente.

El extracto de quinua fue el segundo extracto con alta eficiencia en la mortalidad de nematodos debido al contenido de saponinas (2.74%); estos compuestos están presentes en la planta de quinua que sirve como defensa ante el ataque de patógenos; debido a este efecto se ha utilizado las saponinas en el control fúngico de *Fusarium oxysporum* ya que estas inhiben la lisis celular y provocan la muerte del hongo (Ito et al., 2007).

El extracto de quinua (saponinas) alcanzó la mortalidad de nematodos a partir de las 48 horas con dosis de 2.5 y 1.25 g/ml llegando al 100% de juveniles muertos a las 72 horas (Anexo 4); por lo que Núñez (2017) señala que al utilizar residuos de lavado de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) a una concentración del 100% obtuvo una tasa de mortalidad de nematodos de *Globodera pallida* del 94.44% en un tiempo de exposición de 240 minutos, a manera como se reduce la concentración del bionematicida también reduce la mortalidad. Estas concentraciones las replicó en campo en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L), la cual se evidenció una reducción significativa de la población a 2 nematodos/100 g de suelo al realizar

tres aplicaciones de los residuos a la siembra, rascadillo y aporque a diferencia del testigo que incrementó la población.

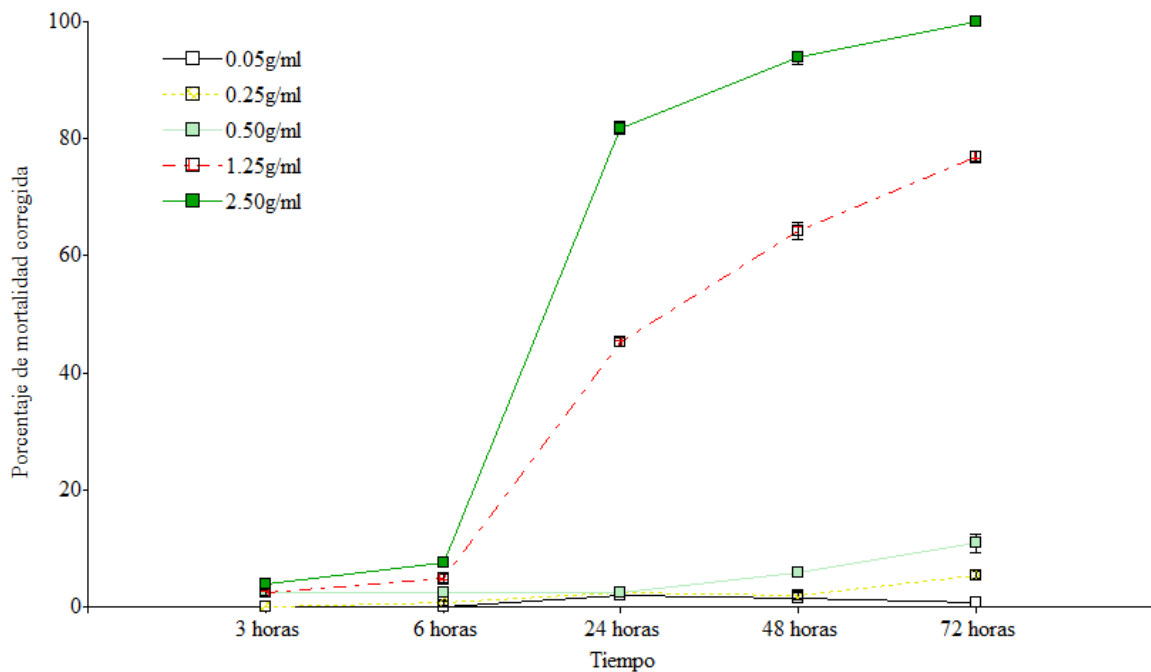
De igual manera Elbadri et al. (2008) indican que la toxicidad en nematodos aumenta a medida como el tiempo avanza en la exposición de juveniles con extractos de hojas y semillas de *Chenopodium album* L. Bosc ex Moq los resultados alcanzan altas tasas de mortalidad del 96% a partir de las 72 horas utilizando concentraciones de 500 ppm en laboratorio.

#### 4.1.4 Extracto de papaya (*Carica papaya* Linneo)

La Figura 29 indica como el extracto de papaya empieza a mostrar resultados eficaces al aplicar las dosis a partir de las 24 horas, llegando a un 100% de mortalidad a las 72 horas con 2.5 g/ml. Mientras que 1.25 g/ml alcanza una media de 76.89 a las 72 horas las demás dosis presentan bajos resultados de mortalidad durante los tiempos establecidos en la presente investigación.

### Figura 8

Porcentaje de mortalidad de *M. incognita* con el extracto de papaya.



El extracto de papaya alcanzó la mortalidad total (100%) de juveniles a las 72 horas; sin embargo a las 24 horas de exposición alcanzó una media de 81.85% (Anexo 3). La dosis más alta (2.5g/ml) este resultado es casi similar al obtenido por Gómez et al. (2020) los cuales alcanzaron una mortalidad cerca del 80% en juveniles a las 12 horas de exposición con extracto de semillas de papaya a una dosis de 500 mg/L. También la aplicación de semillas maceradas de papaya en biofumigación del suelo alcanzó en un 100% en la reducción de agallas y huevos de *M. incognita* en plantas de tomate utilizando una dosis de 4 g/100 ml.

Nagesh et al. (2002) señalan que las semillas de papaya tienen compuestos como el bencil-isotiocianato (BIT) siendo el principal constituyente, el cual ha tenido efecto nematicida en el control y reducción de nematodos (*M. incognita*) a las 24 horas con dosis de 25 ppm. Este

constituyente es una sustancia bioactiva presente especialmente en las semillas de papaya y tiene aplicaciones en el control de patógenos (Barroso et al., 2016).

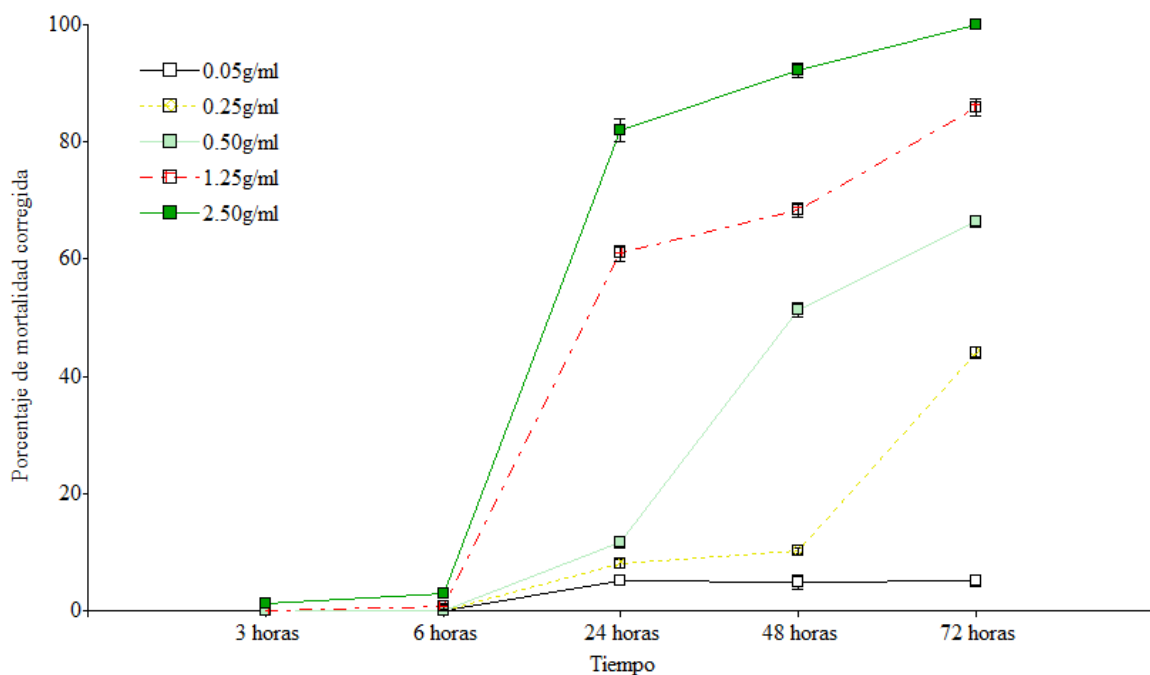
Gomes et al. (2020) investigaron sobre la biofumigación del suelo con semillas de papaya macerada (4g/100ml) y el efecto de los compuestos orgánicos volátiles COV que poseen las semillas. Los resultados muestran la reducción de agallas y números de huevos de *M. incognita* en un 100% en raíces de tomate, también los COV mataron el 80% de juveniles después de horas de exposición. Los COV de papaya tienen un enfoque sostenible en el control de nematodos como el acetato de vinilo, fenilacetaldéhidó y bencilacetónitrilo que causan mortalidad, reducen la infectividad y la reproducción de nematodos sustituyendo a nematicidas químicos.

#### 4.1.5 Extracto de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* Spreng)

En la Figura 30 se observa como el extracto de hierba luisa a una dosis de 2.5g/ml alcanza una tasa de mortalidad del 100% a las 72 horas de exposición. Este extracto empieza a mostrar tasas de mortalidad a partir de las 24 horas con las dosis 1.25, 0.50, 0.25 y 0.05g/ml; aunque estas no alcanzan en su totalidad del 100% de mortalidad de juveniles J2.

#### Figura 9

Porcentaje de mortalidad de *M. incognita* con el extracto de hierba luisa.



El efecto nematicida (mortalidad 100%) en juveniles obtenido con el extracto de hierba luisa fue a las 72 horas con dosis de 2.5g/ml, cabe mencionar que a las 24 horas ya había alcanzado un promedio de 81.93 en la muerte de nematodos. Fabiyi et al. (2018) argumentan que la mortalidad se incrementa de acuerdo al tiempo. Estos autores alcanzaron una mortalidad del 36% en el primer día de exposición y llegaron al cuarto día con más del 50% de juveniles muertos con dosis de 90mg/ml. Estos resultados de mortalidad (51%) son similares a los obtenidos a las 48 horas con la dosis de 0.50g/ml de extracto.

Bakr (2018) utilizó extracto de hierba luisa a una concentración del 1% en el cultivo de tomate riñón (*Solanum lycopersicum* Linneo) para ver el efecto nematicida y obtuvo resultados significantes en la reducción de agallas (83%) en las raíces, en número huevos (77%) y el número total de juveniles presentes en 250 g de suelo fue de 135 J2 de 3000 nematodos inoculados de *Meloidogyne javanica*.

Dutta et al. (2014) y Ganjewala (2008) señalan que la efectividad del extracto de hierba luisa se debe a la presencia de monoterpenos en la planta como son: citral, citronelal, linalol, geraniol, aldehídos, entre otros.

En estudios realizados por Ortega et al. (2016) mencionan que el geraniol y neral compuestos de hierba luisa inhiben el crecimiento de bacterias patógenas *in vitro* como también en campo en hojas de espinaca y lechuga; estos terpenos dañan la membrana celular e interrumpen los mecanismos celulares la multiplicación y difusión celular.

Los aldehídos, cetonas, fenoles y alcoholes al ser expuestos frente a patógenos provocan citotoxicidad es decir deterioran las membranas celulares y los órganos, estos compuestos actúan como prooxidantes sobre proteínas y el ADN y también producen especies reactivas de oxígeno que paralizan la vacuolización interna de los nematodos (Ntalli et al., 2010 y Aissani et al., 2018). Los aldehídos aromáticos aparte de causar toxicidad a los nematodos también ocasionan lesiones en la cutícula externa del patógeno (Caboni et al., 2013).

La biodesinfección del suelo a base de extractos vegetales es una estrategia agroecológica que ayuda a la liberación de los compuestos tóxicos volátiles teniendo efecto en el control de patógenos, nematodos, etc. Esta práctica se debe realizar para recuperar la fertilidad en suelos desgastados y desinfectar el suelo antes de realizar la implementación de un cultivo (Porcuna, 2013).

#### 4.2 Determinación de la dosis letal media para cada extracto a las 48 y 72 horas.

La Tabla 12, indica DL50 necesaria para alcanzar la mortalidad del 50% de nematodos expuestos a extractos vegetales. El extracto de chocho fue el mejor seguido por quinua, hierba luisa, papaya y neem.

**Tabla 12**

*Dosis letal media de los extractos a las 48 y 72 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita.*

Extracto	Tiempo (horas)	Dosis (g/ml)
Chocho	48	0.0891
	72	0.0557
Quinua	48	0.393
	72	0.134
Hierba luisa	48	0.623
	72	0.311
Papaya	48	1.05
	72	0.833
Neem	48	1.46
	72	1.29

Se necesita una mayor cantidad de dosis de extractos a las 48 horas para tener el mismo efecto en la mortalidad del 50% de la población que a las 72 horas pero utilizando menor cantidad de extractos.

La exposición de los nematodos frente al tiempo es importante ya que se puede conseguir el mismo efecto utilizando menos dosis con una diferencia de 24 horas.

Los nematodos al ser animales microscópicos pueden ser disminuidos al menos en un 50% de su población mediante el uso de una DL50 de extracto de chocho (alcaloides). Este método también ha sido empleado en especies bioindicadoras de *Salmo gairdneri* con el uso de extracto de chocho a 589.54 ppm (DL50) en los cuales se observaron efectos en todas las edades de las truchas como irritación de la mucosas, problemas del sistema respiratorio, parálisis y finalmente la muerte (Jarrín, 2003).

En otras investigaciones realizadas por Añamuro (2016) determinó la Concentración Letal Media (CL50) de alcaloides (lupanina) extraídos del extracto de semillas de *Lupinus mutabilis* en el control de larvas de *Thrips tabaci*, encontrándose que se necesita 19.57 ppm para alcanzar un 50% de mortalidad.

Es importante mencionar este apartado sobre las comparaciones entre los factores. Cabe mencionar que los resultados obtenidos en la Tabla 13 muestran la eficiencia de los extractos y las dosis a las 72 horas de evaluación.

Las dosis y el tiempo de exposición muestran cuando se tiene un efecto nematocida con cierta concentración de compuestos y verificar la mortalidad de patógenos. La dosis 2.5 g/ml en todos los extractos mataron a los juveniles a las 72 horas de evaluación.

A las 72 horas de exposición se definió que el extracto que mejores resultados presentó fue el extracto de chocho seguido por quinua, hierba luisa, papaya y neem. Los resultados del extracto de chocho y quinua se debe a la concentración de alcaloides y saponinas. El extracto de hierba luisa contienen terpenos que son tóxicos en juveniles.

El extracto de chocho con las dosis 2.5, 1.25, 0.50 y 0.25 g/ml alcanzaron altas tasas de mortalidad del 100% a las 72 horas. El extracto de quinua y hierba luisa con dosis de 2.5 y 1.25 g/ml alcanzaron una letalidad en nematodos al término de las 72 horas. También el extracto de neem y papaya con 2.5 g/ml alcanzaron la muerte total de J2 a las 72 horas de exposición. La dosis 0.50 g/ml en quinua y hierba luisa obtuvieron más de 65% en tasas de mortalidad.

La dosis de 0.25 en quinua alcanzó el 52% de mortalidad, en el extracto de hierba luisa un 43% y el extracto de papaya y neem alcanzaron tasas bajas cerca del 6%. el resultado de la dosis 0.05 g/ml en quinua fue mejor (33%) seguido por chocho (14%) los demás tratamientos presentaron resultados menores al 5%.

En esta tabla no consta el testigo absoluto que fue el agua destilada, ya que no fue considerado un tratamiento en la investigación. Este fue utilizado para tener datos e incluir en la fórmula de Abbott. Pero es necesario mencionar que el agua destilada no tenía ningún tratamiento por tal motivo la mortalidad de los juveniles fue menor a 10 J2 a diferencia de los demás tratamientos que sí alcanzaron mortalidad.



**Tabla 13***Eficiencia de los extractos a las 72 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita.*

<b>Extracto</b>	<b>Dosis (g/ml)</b>	<b>Medias</b>	<b>E. E</b>	<b>Rango</b>
Chocho	2.5	100.00	0.00	A
Chocho	1.25	100.00	0.00	A
Neem	2.5	100.00	0.00	A
Chocho	0.5	100.00	0.00	A
H. luisa	2.5	100.00	0.00	A
Chocho	0.25	100.00	0.00	A
Papaya	2.5	100.00	0.00	A
Quinoa	2.5	100.00	0.00	A
Quinoa	1.25	100.00	0.00	A
H. luisa	1.25	85.77	1.46	AB
Quinoa	0.5	77.92	1.73	ABC
Papaya	1.25	76.89	0.94	ABC
H. luisa	0.5	66.38	0.86	ABCD
Quinoa	0.25	52.38	0.97	BCDE
H. luisa	0.25	43.97	0.96	BCDEF
Neem	1.25	35.77	4.70	BCDEFG
Quinoa	0.05	33.33	2.51	BCDEFG
Chocho	0.05	14.72	1.76	BCDEFG
Papaya	0.5	10.92	1.57	BCDEFG
Papaya	0.25	5.46	0.66	CDEFG
H. luisa	0.05	5.17	0.96	DEFG
Neem	0.5	3.25	0.50	EFG
Neem	0.25	2.03	0.76	FG
Neem	0.05	1.22	0.50	FG
Papaya	0.05	0.76	0.31	G

Esta evaluación de los extractos vegetales permitió conocer que al término de las 72 horas es suficiente para alcanzar una mortalidad significativa en nematodos fitoparásitos con dosis de 2.5, 1.25 y 0.50 g/ml. Estos resultados ayudarían a considerar una opción para disminuir la población de juveniles que ocasionan daños en las raíces de cultivos.

El tiempo de evaluación es un factor primordial ya que se puede conocer como el efecto nematicida de los extractos se va incrementado en patógenos.

La reducción de los nematodos agalladores con estrategias innovadoras como el uso de extractos vegetales a corto plazo (72 horas) ayudan a evitar el uso de nematicidas químicos en suelos agrícolas. Estas estrategias contribuyen a mantener un suelo libre de metales pesados y rico en microorganismos benéficos, también reduce los costos de producción y será un beneficio a largo plazo para los agricultores.

# CAPÍTULO V

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

La evaluación *in vitro* determinó que los extractos vegetales de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)), hierba luisa (*Cymbopogon citratus* Spreng), papaya (*Carica papaya* Linneo) y neem (*Azadiractina indica* A. Juss) alcanzaron tasas significantes en la mortalidad (100%) de nematodos, con los resultados obtenidos se considera el uso de nematicidas botánicos como una alternativa en la producción agrícola para la reducción de nematodos fitoparásitos.

El extracto de chocho alcanzó resultados positivos a las 72 horas de evaluación en la muerte total de nematodos con las dosis 2.5, 1.25, 0.50 y 0.25 g/ml esto se debe a la presencia de alcaloides en el extracto; estos compuestos tóxicos se encuentra las semillas de chocho y forman parte de la defensa vegetal contra patógenos, insectos y animales. Estos alcaloides inhiben actividades fundamentales como la síntesis de proteínas y sistema nervioso central las cuales resultan fatales para estos microorganismos.

Las tasas de mortalidad se incrementan de acuerdo al tiempo de exposición y la cantidad de g/ml de extracto que a mayor dosis se obtuvo mayor letalidad. De igual manera es importante la concentración de compuestos de las diferentes partes de las plantas, la forma de extracción y adquisición de las plantas como es el caso de hierba luisa, quinua, chocho cultivos que forman parte de los sistemas productivos locales.

Las dosis con la cual se alcanzó la muerte total de los 50 juveniles evaluados fue de 2.5g/ml en todos los extractos, sin embargo, este efecto se evidenció a las 72 horas de evaluación. Esto se debe a que con mayor dosis hay mayor concentración de compuestos en los extractos, y también al tiempo de exposición.

La dosis 1.25g/ml también tiene efectos positivos en la mortalidad alcanzando porcentajes altos del 100% en chocho y quinua, seguido de hierba luisa 85%, papaya, 76% y por último de neem 35% . Una tercera dosis que se aproxima en alcanzar buenos resultados es de 0.5g/ml con los extractos quinua y hierba luisa; sin embargo con chocho esta misma dosis llegó al 100% de mortalidad.

La DI50 fue para el extracto de chocho, seguido por quinua y hierba luisa en los cuales se necesita una mínima dosis g/ml para alcanzar la letalidad del 50% de la población de nematodos que ocasionan daños en los cultivos de importancia económica en el país.

### 5.2 Recomendaciones

Evaluar los extractos vegetales con diferentes partes de las plantas para conocer con qué parte de la planta puede alcanzar tasas más altas de mortalidad en juveniles.

Realizar estudios a nivel de invernadero y campo en plantas con las dosis más altas (2.5 y 1.25 g/ml) y también utilizando las DL50 (dosis letal media) de cada extracto y validar el efecto nematicida que estas concentraciones producen en las plantas.

Desarrollar ensayos con las dosis y extractos evaluados en cultivos de pimiento (*Capsicum annuum* L.) y tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* M.) para verificar el índice de agallas, número de huevos y la presencia de juveniles J2 en el suelo, ya que en la actualidad son cultivos con mayor demanda y los agricultores han optado su producción por ser cultivos de ciclo corto.

Realizar aplicaciones en iguales concentraciones de ingrediente activo de extractos vegetales y verificar la eficiencia en nematodos fitoparásitos.

El futuro del uso de extractos vegetales es brillante en la producción agrícola para combatir las plagas que causan pérdidas en los cultivos, ya que se necesita dosis bajas de estos compuestos para ser tóxico en nematodos agalladores.

## REFERENCIAS

- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D. y Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(3), 438-469.
- Abad, P., Favery, B., Rosso, M. y Castagnone, P. (2003). Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Revista Molecular Plant Pathology*, 4(4), 217-224.
- Abad, P., Gouzy, J., Aury, J., Castagnone, P., Danchin, E., Deleury, E. y Dasilva, C. (2008). Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Revista Nature Biotechnology*, 26(8), 909-915.
- Abbott, W. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Acosta, A. y Cándano, A. (2018). Alternativas ambientalmente inocuas para el control de nemátodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.) casas de cultivo. *Revista Ciencias Forestales y Ambientales*, 3(1), 114-122.
- Adams, B., Dillman, A. y Finlinson, C. (2009). Molecular taxonomy and phylogeny. En R. Perry, M. Moens, & J. Starr, *Root-knot Nematodes* (págs. 119-135). UK: MPG Books Group.
- Agrios, G. (2005). *Fitopatología* (Quinta ed.). México: LIMUSA.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology* (Quinta ed.). Nueva York: Elsevier Academic Press.
- Aissani, N., Balti, R. y Sebai, H. (2018). Potent nematicidal activity of phenolic derivatives on *Meloidogyne incognita*. *Journal of Helminthology*, 92(6), 668–673. <https://doi.org/10.1017/S0022149X17000918>
- Akpuaka, A., Ekwenchi, M., Dashak, D. y Dildar, A. (2013). Biological activities of characterized isolates of n-hexane extract of neem (*Azadirachta indica* A.Juss) leaves. *Revista Nature and Science*, 11(5), 141-147.
- Akpheokhai, I., Claudius, A. y Fawole, B. (2012). Evaluation of some plant extracts for the management of *Meloidogyne incognita* on soybean ( *Glycine max* ). *World Journal of Agricultural Sciences*, 8(4), 429–435.
- Andrews, D. (2017). Race, Status, and Biodiversity: The social Climbing of Quinoa. *Journal of Culture and Agriculture*, 39(1), 15-24.
- Añamuro, C. (2016). *Maestría en química del medio ambiente determinación del efecto*

*biocida del extracto acuoso de semillas de Lupinus mutabilis sweet ( Tarwi ) sobre Thrips tabaci Lindeman ( Trips ) en cultivo de cebolla.*

- Apaza, R., Smeltekop, H., Flores, Y., Imanza, G. y Salcedo, L. (2016). Efecto de saponias de *Cheneopodium quinoa* Willd contra fitopatogeno *Cercospora*. *Revista Protección Vegetal*, 31(1), 63-69.
- Arai, M. y Coello, D. (2020). Localización histoquímica de la acumulación de citral en hojas de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*). *Revista Farmacobotánica*, 107, 47-51.
- Baños, Y., Rodríguez , M., Rodríguez, F., Maqueira, D. y Del Busto, A. (2016). Interacción de *Trichoderma harzianum* Rifai y *Azadirachta indica* A. Juss. sobre una población de *Meloidogyne* spp. en plántulas de *Solanum lycopersicum* L. *Revista Protección Vegetal*, 31(1), 114-119.
- BenJannet, H., Skhiri, F., Mighri, Z., Simmonds, S. y Blaney, M. (2001). Antifeedant activity of plant extracts and of new natural diglyceride compounds isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves against *Spodoptera littoralis* larvae. *Revista Industrial Crops and Products*, 4, 213-222.
- Bakr, R. (2018). Bionematicidal potential of some incorporating plants on *Meloidogyne javanica* control on tomato. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(5), 1457–1464. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.172>
- Barros, A., Campos, V., da Silva, J., Pedroso, M., Medeiros, F., Pozza, E. y Reale, A. (2014). Nematicidal activity of volatile organic compounds emitted by *Brassica juncea*, *Azadirachta indica*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* and *Cajanus cajan* against *Meloidogyne incognita*. *Journal Applied Soil Ecology*, 80, 34–43.
- Barroso, P., De Carvalho, P., Rocha, T., Pessoa, F., Azevedo, D. y Mendes, M. (2016). Evaluation of the composition of *Carica papaya* L. seed oil extracted with supercritical CO<sub>2</sub>. *Revista Biotechnology Reports*, 11, 110–116.
- Biswas, K., Chattopadhyay, I. y Banerjee, R. (2002). Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Journal Current Science*, 82(11), 1336-1345.
- Bridge, J. y Starr, J. (2007). *Plant nematodes of agricultural importance* (Primera ed.). London: Manson Publishing.
- Caboni, P., Aissani, N., Cabras, T., Falqui, A., Marotta, R., Liori, B., Ntalli, N., Sarais, G., Sasanelli, N. y Tocco, G. (2013). Potent nematicidal activity of phthalaldehyde,

- salicylaldehyde, and cinnamic aldehyde against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1794–1803.
- Cabrera, G., Briano, J. y Briano, A. (2012). El control biológico de plagas. *United States Department of Agriculture (USDA)*, 22(128), 57-64.
- Cepeda, M. (2016). *Nematología Agrícola* (2 ed.). México: Trillas.
- Cheok, C., Salman, H. y Sulaiman, R. (2014). Extraction and quantification of saponins. *Journal Food Research International*, 59, 16-40.
- Cisneros, F. (2010). Control de plagas agrícolas. *Control de Plagas*, 13, 1-35.
- Cowan , M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Journal Clinical Microbiology*, 10, 564-582.
- Cuadrado, L., Villacrés, E., Ríos, A., Quelal, M. y Álvarez, J. (2015). *Actividad antimicrobiana de extractos de chocho (Lupinus mutabilis), quinua (Chenopodium quinoa), amaranto (Amaranthus caudatus L.) y sangorache (Amaranthus hybridus L.)*. Quito: INIAP.
- Dalton, E., Griffin , D., Gallagher , T., De Vetten, N. y Milbourne, D. (2013). The effect of pyramiding two potato cyst nematode resistance loci to *Globodera pallida* Pa2/3 in potato. *Revista Molecular Breeding*, 31, 921-930.
- Dorado, D., Hurtado, Á. y Martínez, H. (2017). Extracción supercrítica de aceite de semillas de papaya (*Carica papaya*): composición y propiedades fisicoquímicas. *Revista Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, 24(2), 35-45.
- Duceppe, M., Lafond, J., Palomares, J., Sabeh, M., Blok, V., Moffett, P. y Mimee, B. (2017). Analysis of survival and hatching transcriptomes from potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Revista Scientific Reports*, 7(1), 1-13.
- Durán , J. y Guzmán, T. (2017). Comportamiento de nematodos fitoparásitos en dos sistemas de cultivo de tomate convencional en Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha*, 30(3), 59-70.
- Dutta, D., Kumar, P., Nath, A., Verma, N. y Gangwar, B. (2014). Qualities of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil at different drying conditions. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 7(4), 903–909.
- Elbadri, G. A., Lee, D. W., Park, J. C., Yu, H. Bin. y Choo, H. Y. (2008). Evaluation of various plant extracts for their nematicidal efficacies against juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 11(2), 99–102.
- Fabiyi, O., Olatunji, G., Adebayo, M. y Atolani, O. (2018). Effect of thermal degraded

- products of *Cymbopogon citratus* on the In vitro survival of *Meloidogyne incognita* eggs and juveniles. *Ceylon Journal of Science*, 47(3), 235.
- Ferraz, S. y Freitas, L. (2008). O Controle De Fitonematóides Por. *Departamento de Fitopatología*, 1(1), 1–17.
- Fang, C. y Zhihui, C. (2015). Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. *Revista Frontiers in Plant Science*, 6, 1-16.
- Fernández, R., Villarroel, A., Cuamo, L. y Storaci, V. (2016). Evaluation of a somatic embryogenesis regeneration system for neem (*Azadirachta indica*). *Acta Biológica Colombiana*, 21(3), 581-592.
- Figueirinha, A., Paranhos, A., Pérez, C., Buelga, A. y Batista, S. (2008). *Cymbopogon citratus* leaves: Characterization of flavonoids by HPLC–PDA–ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. *Revista Food Chemistic*, 110(3), 718-728.
- Ganjewala, D. (2008). RAPD Characterization of three selected cultivars OD-19, GRL-1 and krishna of east indian Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Nees ex Steud) Wats. *American Eurasian Journal of Botany*, 1(2), 53–57.
- Gómez, L., Rodríguez, M., Díaz, L., González, E. y Wagner, F. (2006). Evaluación de materiales orgánicos para la biofumigación en instalaciones de cultivos protegidos para el manejo de *Meloidogyne incognita*. *Revista Protección Vegetal*, 21(3), 178-185.
- Gomes, V. A., Campos, V. P., da Silva, J. C. P., de Jesus Silva, F., de Freitas Silva, M. y Pedroso, M. P. (2020). Activity of papaya seeds (*Carica papaya*) against *Meloidogyne incognita* as a soil biofumigant. *Journal of Pest Science*, 93(2), 783–792.
- Guédez, C., Castillo, C., Cañizales, L. y Olivar, R. (2016). Control biológico : Una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Revista Control Biológico*, 7(13), 50-74.
- Guzmán, H., Varela, B., Hernández, V., Durán, M. y Montero, C. (2013). Principales géneros de nematodos fitoparásitos asociados a plátano y piña en las regiones Huetar Norte y Huetar Atlántica de Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha*, 27(1), 85-92.
- Guzmán, O. y Castaño, J. (2010). Identificación de nematodos fitoparásitos en guayabo (*Psidium guajava* L.), en el municipio de Manizales (Caldas), Colombia. *Revista Academia Colombiana de Ciencias*, 34(130), 117-125.

- Guzmán, O., Castaño, J. y Villegas, B. (2012). Principales nematodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica. *Revista Agronomía*, 20(1), 38-52.
- Hernández, J., Zaragosa, A., López, G., Peláez, A., Olmedo, A. y Rivero, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Revista Abanico Veterinario*, 8(1), 14-27.
- Iannacone, J. y Lamas, G. (2002). Efecto de dos extractos botánicos y un insecticida convencional sobre el depredador *Chrysoperla externa*. *Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 65, 92-101.
- Ibrahim, H., Hamouda, S., Kadi, A. y Abd-Alla, H. (2014). Study the nematicidal efficiency of *Corchorus olitorius*, *Cinnamomum camphora*, *Portulaca oleraceae* and *Lantana camara* extracted saponins and their formulations on root knot nematodes *Meloidogyne* spp. *Revista Nature and Science*, 12(11), 40-45.
- INIAP. (2008). *El nim: insecticida botánico para el manejo de plagas agrícolas* (Primera ed.). Portoviejo: Neografik Cia. Ltda.
- INIAP. (2014). *Estación Experimental Santa Catalina*.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias . (2008). *Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho (Lupinus mutabilis Sweet)* (Primera ed.). Quito, Ecuador: Grafistas.
- Ito, S., Ihara, T., Tamura, H., Tanaka, S., Ikeda, T., Kajihara, H., . . . ElSayed, M. (2007). alpha-tomatine, the major saponin in tomato, induces programmed cell death mediated by reactive oxygen species in the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. *Revista Febs Letters*, 581(17), 3217-3222.
- Jacobsen, S. y Mujica, A. (2006). El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. *Revista Botánica Económica de los Andes Centrales*, 1(1), 458-482.
- Jarrín, P. (2003). *Caracterización y tratamiento del agua de desamargado de chocho, proveniente de la planta piloto de la Estación Santa Catalina*. Obtenido de Tesis previa a la obtención del título de Doctora en Bioquímica y Farmacia.
- Jiménez, J. (2002). *Manual práctico para el cultivo de papaya hawaiana*. Costa Rica: Earth.
- Jones, J., Haegeman, A., Danchin, E., Manzanilla, R., Palomares, J., Rius, J. y Wesemael, W. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Revista Molecular Plant Pathology*, 14(9), 946-961.
- Karssen, G., y Moens, M. (2006). *Root-knot nematodes*. London: CAB International.



- Karssen, G., Wesemael, W. y Moens, M. (2013). *Root-Knot Nematodes* (2 ed.). Wallingford: CAB International.
- Kayani, M., Mukhtar, T., Hussain, M. y Haque, M. (2013). Infestation assessment of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) associated with cucumber in the Pothohar region of Pakistan. *Revista Crop Protection*, 47, 49-54.
- Kumar, V., Singh, A. y Jain, R. (2012). Comparative efficacy of bioagents as seed treatment For management of *Meloidogyne incognita* infecting okra. *Revista Nematologia Mediterranea*, 40, 209-211.
- Lamovsek, J., Urek , G. y Trdan, S. (2013). Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): Microbes against the pests. *Acta Agronomica Slovenica*, 101(2), 263-275.
- Leng, P., Zhang, Z., Pan , G. y Zhao, M. (2011). Applications and development trends in biopesticides. *Revista African Journal of Biotechnology*, 10(86), 19864-19873.
- Marchiaro, A., Martínez, A. y Arancibia, L. (2017). Biopesticidas: estudios preliminares para la evaluación de extractos y compuestos puros extraídos de *Senecio filaginoides* DC (Asteraceae) con potenciales aplicaciones en agroquímica. En E. Serna, *Desarrollo e Innovación en Ingeniería* (Segunda ed., págs. 455-466). Medellín, Antioquia: Instituto Antioqueño de Investigación.
- Mareggiani, G. (2001). Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Revista Manejo integrado de plagas*, 1(60), 22-30.
- Martínez, N. (2010). Manejo Integrado de Plagas: Una Solución a la Contaminación Ambiental. *Revista Epidemiología en Acción*, 8(1), 73-82.
- Medina, P., Guevara, F., Ojeda, N. y Reyes, E. (2014). Resistencia antihelmíntica en ovinos: una revisión de informes del sureste de México y alternativas disponibles para el control de nemátodos gastrointestinales. *Revista Pastos y Forrajes*, 37(3), 257-263.
- Mena, L., Tamargo, B., Salas, E., Plaza, L., Blanco, Y., Otero, A. y Sierra, G. (2015). Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de jaboncillo (*Sapindus saponaria* L). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(1), 106-116.
- Monje, C. y Yarko, Al (2006). Determinación de saponina total en quinua. *IV Congreso Nacional de la Asociación Boliviana de Protección Vegetal (ABPV)*.
- Montoya, P. y Cancino, J. (2004). Control biológico por aumento en moscas de la fruta (Díptera:Tephritidae). *Revista Folia Entomológica Mexicana*, 43(3), 258-259.

- Moosavi, M. R. (2012). Nematicidal effect of some herbal powders and their aqueous extracts against *Meloidogyne javanica*. *Revista Nematropica*, 42(1), 48–56.
- Mukhtar, T., Arshad, M., Zameer, M. y Naveed, M. (2014). Evaluation of resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in okra cultivars. *Revista Crop Protection*, 56(1), 25-30.
- Nagesh, M., Chandravadana, M., Sreeja, V. y Babu, C. (2002). Benzyl isothiocyanate from *Carica papaya* seed. A potential nematicide against *Meloidogyne incognita*. *Revista Nematologica Mediterranea*, 30(2), 155–157.
- Nava, E., García, C., Camacho, J. y Vázquez, E. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3), 17-29.
- Neeraj, N., Goel, S., Kumar, A., Singh, G. y Madan, V. (2017). Effect of plant extracts on hatching and mortality of root-knot nematode, *Meloidogyne Incognita* Larvae (in-Vitro). *Journal Biosciences Biotechnology Research Asia*, 14(1), 467-471.
- Negrelle, R. y Gomes, E. (2007). *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: chemical composition and biological activities. *Journal Brasileira de Plantas Mediciniais*, 9, 80-92.
- Ntalli, N., Vargiu, S., Menkissog, U. y Caboni, P. (2010). Nematicidal carboxylic acids and aldehydes from *Melia azedarach* fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 11390–11394.
- Núñez, V. (2017). *El plaguicida orgánico de los residuos del lavado de la quinua (Chenopodium quinoa) y los nemátodos en cultivo en papas (Solanum tuberosum) en el cantón Quero*. 92. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/25357>
- Ochoa, Y., Rojas, G., Delgado, J., Cerna, E., Aguirre, L., Landeros, J. y Cepeda, M. (2019). Evaluación in vitro de la actividad nematicida de limoneno, isotiocianato de alilo, eucaliptol,  $\beta$ -citronelol y azadiractina sobre *Meloidogyne incognita* (Nematoda, Meloidogynidae). *Journal Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22(3), 693–700.
- Oka, Y. (2010). Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments. *Journal Applied Soil Ecology*, 44(2), 101-115.
- Oliveros, A., Cordero, I., Paredes, D., Buendía, D. y Macías, F. (2011). Extracción y cuantificación de cumarina mediante HPLC-UV en extractos hidroetanólico de semillas de *Dipteryx odorata*. *Journal Latinoamericana de Química*, 39(2), 17-31.
- Ortega, A., Chito, D., Benítez, R. y Ahumada, A. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(3), 438-469.

- Patidar, R., Debashish , S., Pathak, M., Shakywar, R. y Rajesh, K. (2016). Effect of essential oils on mortality, hatching and multiplication of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* and its Impact on plant growth parameters. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 9(5), 887-895.
- Peña, M., Olivares, N., Rodríguez, M., Peña, L., Cobas, A., Cervera, G. y Barquié, O. (2018). Nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). *Revista Cultivos Tropicales*, 39(1), 7-14.
- Perez, E. (2012). Resumen Plaguicidas Botánicos : Una Alternativa a Tener. *Revista Fitosanidad*, 16(1), 51–59.  
<http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/798/814>
- Pernal, S., Baird, D., Birmingham, A., Higo, H., Slessor, K. y Winston, M. (2005). Semiochemicals influencing the host-finding behaviour of *Varroa destructor*. *Journal Experimental and Applied Acarology*, 37, 1-26.
- Perry, R., y Moens, M. (2006). *Plant nematology*. London: CAB International.
- Perry, R., Moens, M. y Starr, J. (2009). *Root-Knot Nematodes* (Vol. 3). London: CAB International.
- Pomilio, A. (2012). Development and research trends in chemistry of natural products in argentina: Connection with biochemistry and clinical biochemistry. *Journal Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 46(1), 73-82.
- Porcuna, J. L. (2013). Manejo de Plagas y Enfermedades en Producción Ecológica. In *SEAE, Sociedad Española de Agricultura Ecológica* (Primera ed).
- Puatanachokchai , R., Kishida , H., Denda , A., Murata , N., Konishi , Y. y Nakae , D. (2002). Inhibitory effects of lemon grass (*Cymbopogon citratus*, Stapf) extract on the early phase of hepato-carcinogenesis after initiation with diethylnitrosamine in male Fischer 344 rats. *Journal Cancer Lett*, 183, 9-15.
- Revelo, J. (2003). Informe técnico final consolidado del proyecto: Manejo integrado de plagas para el mejoramiento de la producción sostenible de frutas en la zona andina. *FONTAGRO*, 5(28), 13.
- Reyes , A., Castro, H., Rodríguez , L., Quijano, C. y Parada, F. (2011). Obtención de extractos de jengibre (*Zingiber officinale*) empleando CO2 supercrítico. *Academia Colombiana de Ciencias Exactas*, 35(136), 381-385.

- Reyes , E., Styles , W. y Garay, D. (2003). Estudio preliminar de las propiedades físicas de la especie *Azadirachta indica* (neem), procedentes del estado Falcón (Venezuela). *Revista Forestal Venezolana*, 47(2), 23-29.
- Rodríguez, M., Gómez, L., Hernández, D., Enríquez, R., Miranda, I., Pino, O., . . . Díaz, L. (2012). Efecto de la biodesinfección con residuos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre población de *Meloidogyne* spp. en suelo. *Revista Protección Vegetal*, 27(3), 197-201.
- Rodríguez, W., Castro, L., Sánchez, Y., Gómez, J. y Correa, M. (2006). Composición química del aceite esencial de las hojas de *Cymbopogon nardus* y *Cymbopogon citratus*. *Revista Momento de Ciencia*, 3(1), 44-50.
- Saleh, N. y Chittka, L. (2006). The importance of experience in the interpretation of conspecific chemical signals. *Journal Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61, 215-220.
- Shah, G., Shri, R., Panchal, V., Sharma, N., Singh, B. y Mann, A. (2011). Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2(1), 3-8.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (Primera ed.). Santa Fé de Bogotá, D.C., Colombia: Henry Yesid Bernal, Mahabird Gupta & Alvaro Campo Cabal.
- Sousa, S., Silva, P. y Viccini, L. (2010). Cytogenotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemon grass) aqueous extracts in vegetal test systems. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 82(2), 305-311.
- Stuardo, M. y San Martín, R. (2008). Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. *Journal Industrial Crops and Products*, 27(3), 296-302.
- Sunday , E. y Atawodi , J. (2009). *Azadirachta indica* (neem): a plant of multiple biological and pharmacological activities. *Journal Phytochemistry*, 8(1), 601-620.
- Szakiel, A., Paczkowsky, C. y Henry, M. (2011). Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Journal Phytochemistry*, 10(4), 471-491.
- Szwako, A., Delgado, S., Romero, P., Tomassi, M. y Flecha , R. (2017). Estudio comparativo del efecto del neem (*Azadirachta indica*) y la ivermectina al 1% sobre la carga parasitaria gastrointestinal en bovinos. *Revista Ciencias Veterinarias*, 7(1), 25-28.

- Taniwiriyono, D., Van den Berg, H., Riksen, J., Rietjens, I., Djiwanti, S., Kammenga, J. y Murk, A. (2009). Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *The Open Natural Products*, 2, 77-85.
- Tarun, V. y Yash, P. (2015). A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(1), 1-6.
- Tello, V. (2017). Manejo de plagas agrícolas en el contexto de zonas áridas-desérticas. *Revista IDESIA*, 35(1), 3-5.
- Tenorio, R., Terrazas, E., Alvarez, M., Vila, J. y Mollinedo, P. (2010). Concentrados de saponina de *Chenopodium quinoa* y de *Caiphora andina*: alternativas como biocontroladores de hongos fitopatógenos. *Revista Boliviana de Química*, 27(1), 33-40.
- Trudgill, D. y Blok, V. (2001). Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 53-77.
- Trujillo, P., Zapata, L., Hoyos, R., Yepes, F., Capataz, J. y Orozco, F. (2008). Determinación de la dl50 y tl50 de extractos etanólicos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda*. *Facultad Nacional de Agronomía*, 61(2), 4564-4575.
- Vázquez, L. (2010). Manejo de plagas en la agricultura ecológica. *Boletín Fitosanitario*, 15, 120.
- Vega, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L. y Martínez, E. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient Andean grain: a review. *Journal Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2541-2547.
- Villacrés, E., Cobos, R., Revelo, J. y Cerón, C. (2005). *Obtención de extractos vegetales y evaluación de su eficiencia en el control del nematodo Meloidogyne incognita*. Quito, Ecuador: ICYT-AUD3-23.
- Vinueza, S., Crozzoli, R. y Perichi, G. (2016). Utilización de extractos de plantas para el control del nematodo *Meloidogyne incognita*. *Revista Fitopatología*, 19(2), 26-31.
- Vivas, L. (2017). El Manejo integrado de plagas (MIP): Perspectivas e importancia de su impacto en nuestra región. *Revista Selva Andina Biosphere*, 5(2), 67-69.
- Von Baer, R., Reinerdes, E. y Feldhein, W. (1976). Método titrimétrico. *Unters Forsh* 169. Berlín, Alemania, pp. 27-31.

- Zamora, F., García, P., Ruiz , M., Rodríguez, R. y Salcedo, E. (2009). Composición y concentración de alcaloides en *Lupinus Exaltatus* zucc. durante su crecimiento y desarrollo. *Revista Interciencia*, 34(9), 672-676.
- Zareena, S. y Vanita, V. (2014). Root-knot disease and its management in Brinjal. *Journal Global of Bio-Science and Biotechnology*, 3(1), 126-127.

## GLOSARIO

### ANEXOS

#### Anexo 1

*Eficiencia de los extractos a las 3 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita*

<b>Extracto</b>	<b>Dosis (g/ml)</b>	<b>Medias</b>	<b>E. E</b>	<b>Rango</b>
Chocho	2.5	14.40	0.75	A
Chocho	1.25	9.20	0.49	AB
Chocho	0.5	7.20	0.49	AB
Chocho	0.25	5.60	0.40	ABCD
Papaya	2.5	4.00	0.38	ABCD
Quinoa	2.5	2.40	0.38	ABCD
Papaya	0.5	2.40	0.38	ABCD
Papaya	1.25	2.40	0.38	ABCD
Neem	2.5	2.40	0.38	ABCD
Chocho	0.05	1.60	0.38	BCDE
Quinoa	1.25	1.20	0.38	CDE
H. luisa	2.5	1.20	0.49	CDE
Neem	1.25	0.80	0.38	DE
H. luisa	0.5	0.00	0.00	E
H. luisa	0.25	0.00	0.00	E
H. luisa	0.05	0.00	0.00	E
H. luisa	1.25	0.00	0.00	E
Papaya	0.25	0.00	0.00	E
Quinoa	0.05	0.00	0.00	E
Quinoa	0.25	0.00	0.00	E
Quinoa	0.5	0.00	0.00	E
Neem	0.05	0.00	0.00	E
Neem	0.25	0.00	0.00	E
Neem	0.5	0.00	0.00	E
Papaya	0.05	0.00	0.00	E

**Anexo 2***Eficiencia de los extractos a las 6 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita.*

<b>Extracto</b>	<b>Dosis (g/ml)</b>	<b>Medias</b>	<b>E. E</b>	<b>Rango</b>
Chocho	2.5	46.80	1.02	A
Chocho	1.25	40.00	0.63	AB
Chocho	0.5	35.60	1.33	ABC
Chocho	0.25	14.40	0.75	ABCD
Papaya	2.5	7.60	0.40	ABCD
Quinua	2.5	5.20	0.52	ABCD
Papaya	1.25	4.80	0.80	ABCDE
Neem	2.5	4.80	0.80	ABCDE
Neem	1.25	3.20	0.49	BCDE
Quinua	1.25	3.20	0.49	BCDE
H. luisa	2.5	2.80	0.49	BCDE
Papaya	0.5	2.40	0.40	CDEF
Chocho	0.05	2.00	0.00	DEF
H. luisa	1.25	0.80	0.52	EF
Papaya	0.25	0.80	0.52	EF
H. luisa	0.05	0.00	0.00	F
H. luisa	0.25	0.00	0.00	F
H. luisa	0.5	0.00	0.00	F
Quinua	0.05	0.00	0.00	F
Quinua	0.25	0.00	0.00	F
Quinua	0.05	0.00	0.00	F
Papaya	0.05	0.00	0.00	F
Neem	0.05	0.00	0.00	F
Neem	0.25	0.00	0.00	F
Neem	0.5	0.00	0.00	F

**Anexo 3***Eficiencia de los extractos a las 24 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita.*

<b>Extracto</b>	<b>Dosis g/ml</b>	<b>Medias</b>	<b>E. E</b>	<b>Rango</b>
Chocho	2.5	100.00	0.00	A
Chocho	1.25	100.00	0.00	A
Chocho	0.5	96.38	0.75	AB
Chocho	0.25	91.57	0.75	ABC
H. luisa	2.5	81.93	1.90	ABCD
Papaya	2.5	81.85	1.10	ABCD



Neem	2.5	62.25	2.80	ABCDE
H. luisa	1.25	61.04	1.36	ABCDE
Papaya	1.25	45.16	0.75	ABCDEF
Quinoa	2.5	41.60	0.75	ABCDEFG
Quinoa	1.25	23.60	0.40	BCDEFGH
Neem	1.25	20.08	4.04	CDEFGH
H. luisa	0.5	11.65	0.90	DEFGH
Chocho	0.05	10.04	1.61	DEFGHI
H. luisa	0.25	8.03	0.75	EFGHI
Quinoa	0.5	5.20	0.49	EFGHIJ
H. luisa	0.05	5.22	0.75	FGHIJ
Quinoa	0.25	3.20	0.49	GHIJ
Papaya	0.5	2.42	0.49	HIJ
Papaya	0.25	2.42	0.49	HIJ
Papaya	0.05	2.02	0.49	HIJ
Neem	0.25	0.64	0.39	IJ
Quinoa	0.05	0.00	0.00	J
Neem	0.5	0.00	0.00	J
Neem	0.05	0.00	0.00	J

#### Anexo 4

*Eficiencia de los extractos a las 48 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita.*

Extracto	Dosis (g/ml)	Medias	E. E	Rango
Chocho	2.5	100.00	0.00	A
Chocho	1.25	100.00	0.00	A
Chocho	0.5	100.00	0.00	A
Quinoa	2.5	100.00	0.00	A
Quinoa	1.25	100.00	0.00	A
Chocho	0.25	97.10	0.51	AB

Neem	2.5	95.97	0.90	AB
Papaya	2.5	93.83	1.13	AB
H. luisa	2.5	92.18	1.20	ABC
H. luisa	1.25	68.31	1.23	ABC
Papaya	1.25	64.20	1.40	ABCD
H. luisa	0.5	51.44	1.23	BCD
Quinoa	0.5	45.87	1.65	BCDE
Neem	1.25	28.23	4.80	BCDEF
Quinoa	0.25	23.55	1.13	BCDEF
Chocho	0.05	11.62	2.33	CDEFG
H. luisa	0.25	10.29	0.50	CDEFG
Quinoa	0.05	10.33	1.05	CDEFG
Papaya	0.5	5.76	0.77	DEFG
H. luisa	0.05	4.94	1.20	DEFG
Papaya	0.25	2.05	0.50	EFG
Papaya	0.05	1.40	0.53	FG
Neem	0.5	1.13	0.59	FG
Neem	0.25	0.48	0.30	G
Neem	0.05	0.24	0.24	G

## Anexo 5

*Eficiencia de los extractos a las 72 horas en la mortalidad de los juveniles de M. incognita.*

<b>Extracto</b>	<b>Dosis (g/ml)</b>	<b>Medias</b>	<b>E. E</b>	<b>Rango</b>
Chocho	2.5	100.00	0.00	A
Chocho	1.25	100.00	0.00	A
Neem	2.5	100.00	0.00	A
Chocho	0.5	100.00	0.00	A
H. luisa	2.5	100.00	0.00	A

Chocho	0.25	100.00	0.00	A
Papaya	2.5	100.00	0.00	A
Quinoa	2.5	100.00	0.00	A
Quinoa	1.25	100.00	0.00	A
H. luisa	1.25	85.77	1.46	AB
Quinoa	0.5	77.92	1.73	ABC
Papaya	1.25	76.89	0.94	ABC
H. luisa	0.5	66.38	0.86	ABCD
Quinoa	0.25	52.38	0.97	BCDE
H. luisa	0.25	43.97	0.96	BCDEF
Neem	1.25	35.77	4.70	BCDEFG
Quinoa	0.05	33.33	2.51	BCDEFG
Chocho	0.05	14.72	1.76	BCDEFG
Papaya	0.5	10.92	1.57	BCDEFG
Papaya	0.25	5.46	0.66	CDEFG
H. luisa	0.05	5.17	0.96	DEFG
Neem	0.5	3.25	0.50	EFG
Neem	0.25	2.03	0.76	FG
Neem	0.05	1.22	0.50	FG
Papaya	0.05	0.76	0.31	G

## Anexo 6

*Dosis letal media del extracto de neem a las 48 y 72 horas.*

	<b>p</b>	<b>Dosis</b>	<b>Chi_square</b>	<b>H</b>	<b>Tiempo</b>
<b>1</b>	50	1.46	158806	6905	48 horas
<b>2</b>	50	1.29	9868	429	72 horas

## Anexo 7

*Dosis letal media del extracto de chocho a las 48 y 72 horas.*

	<b>p</b>	<b>Dosis</b>	<b>Chi_square</b>	<b>H</b>	<b>Tiempo</b>
<b>1</b>	50	0.0891	14.2	1	48 horas
<b>2</b>	50	0.0557	4.93	1	72 horas

## Anexo 8

*Dosis letal media del extracto de quinua a las 48 y 72 horas.*

	<b>p</b>	<b>Dosis</b>	<b>Chi_square</b>	<b>H</b>	<b>Tiempo</b>
<b>1</b>	50	0.393	312	13.6	48 horas
<b>2</b>	50	0.134	147	6.41	72 horas

## Anexo 9

*Dosis letal media del extracto de papaya a las 48 y 72 horas.*

	<b>p</b>	<b>Dosis</b>	<b>Chi_square</b>	<b>H</b>	<b>Tiempo</b>
<b>1</b>	50	1.05	1038	45.1	48 horas
<b>2</b>	50	0.833	372	16.2	72 horas

## Anexo 10

*Dosis letal media del extracto de hierba luisa las 48 y 72 horas.*

	<b>p</b>	<b>Dosis</b>	<b>Chi_square</b>	<b>H</b>	<b>Tiempo</b>
<b>1</b>	50	0.623	101	4.40	48 horas
<b>2</b>	50	0.311	40.8	1.77	72 horas

## Anexo 11

*Dosis letal media del extracto de neem del extracto de neem, c y d) extracto de chocho, e y f) extracto de quinua, g y h) extracto de papaya, i y j) extracto de hierba luisa.*

