

**EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE CUATRO ESPECIES
DE PLANTAS Y SUS COMPUESTOS ORGÁNICOS
SOBRE LA MORTALIDAD DE *Radopholus similis*
EN CONDICIONES *IN VITRO***

ANA PATRICIA LÓPEZ GONZÁLEZ

Trabajo Final presentado a la Escuela de Agronomía como
requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en
Ingeniería en Agronomía

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
SEDE REGIONAL SAN CARLOS**

2010

**EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE CUATRO ESPECIES
DE PLANTAS Y SUS COMPUESTOS ORGÁNICOS
SOBRE LA MORTALIDAD DE *Radopholus similis*
EN CONDICIONES *IN VITRO***

ANA PATRICIA LÓPEZ GONZÁLEZ

Aprobado por los miembros del Tribunal Evaluador:

Ing. Agr. Tomás Guzmán Hernández, Ph.D.

Asesor Interno

Ing. Agr. Alfonso Vargas Calvo, Lic.

Asesor Externo

Ing. Agr. Carlos Muñoz Ruiz, PhD

Jurado

Ing. Agr. Joaquín Durán Mora, M.Sc

Jurado

Ing. Agr. Fernando Gómez Sánchez, MAE.

Coordinador
Trabajos Finales de Graduación

Ing. Agr. Arnoldo Gadea Rivas, M.Sc.

Director
Escuela de Agronomía

DEDICATORIA

A Dios por todos estos logros que Él me ha concedido.

Para mis papás por el gran regalo de la vida.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la vida, por los años vividos, la experiencia adquirida, la sabiduría que me ha dado, por el amor de los míos, por tener a mis padres y familiares y por los sueños que me ha cumplido.

Mi más sincero agradecimiento a los diferentes colaboradores que, de una forma u otra, permitieron la realización de esta investigación:

Al Centro de Investigaciones Agrícolas La Rita, de la Corporación Bananera Nacional (CORBANA), por abrirme las puertas y darme la oportunidad de realizar este proyecto. En especial agradezco de todo corazón a todos los compañeros del Laboratorio de Nematología, al Dr. Mario Araya, al M.Sc. Fabio Blanco y a los Ing. Alfonso Vargas y Randall Vargas por todo el apoyo logístico brindado.

Al Ing. Joaquín Durán, gracias por su paciencia, colaboración e interés en la realización de mi trabajo y por siempre brindarme su apoyo y enseñanzas.

Al Dr. Marco Calvo de la Universidad Nacional de Costa Rica, y a la Dr. Floria Roa del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Central por el aporte logístico en la metodología de extracción.

Al Dr. René Miranda, por el apoyo brindado junto con los estudiantes, profesores y asistentes del Laboratorio 4 de Química Orgánica de la UNAM.

A los profesores de la Escuela de Agronomía del Instituto Tecnológico de Costa Rica, mi más profundo agradecimiento por haberme formado durante estos años de estudios. A las asistentes administrativas Karen, Yendry y Viviana por darme siempre su apoyo.

A todos mis compañeros de estudios, de la generación 2005, por hacerme una mejor persona y brindarme muchas alegrías en todos estos años, pero en especial a mis amigos Nathy, Jakie, Erika, Julio, Luis y Mónica, que estuvieron allí para acompañarme y ayudarme siempre.

Para Alejandro Barquero las gracias especiales por el apoyo brindado. Muchas gracias a Alberto Fallas, por acompañarme en esta travesía y ayudarme en tantas cosas.

TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
LISTA DE CUADROS	VII
LISTA DE CUADROS ANEXOS	IX
LISTA DE FIGURAS	XII
RESUMEN	XIV
ABSTRACT	XV
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo general	2
1.2 Objetivos específicos	2
1.3 Hipótesis	3
2. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Extracción de compuestos naturales	4
2.1.1 Disolventes utilizados	6
2.1.1.1 Acetato de etilo	6
2.1.1.2 Hexano	6
2.1.1.3 Metanol	7
2.1.2 Compuestos biocidas extraídos	7
2.1.2.1 Alcaloides	7
2.1.2.2 Fenoles	9
2.1.2.3 Terpenos	10
2.2 Plantas utilizadas	12
2.2.1 Higuera (<i>Ricinus communis</i>)	12
2.2.1.1 Generalidades de las Euforbiáceas	12

2.2.1.2	Descripción botánica.....	12
2.2.1.3	Condiciones de cultivo	13
2.2.1.4	Ubicación y distribución en Costa Rica.....	14
2.2.1.5	Usos populares de la planta	14
2.2.1.6	Análisis químico y actividad biológica	14
2.2.2	Pichichio (<i>Solanum mammosum</i>).....	15
2.2.2.1	Generalidades de las Solanáceas	15
2.2.2.2	Descripción botánica.....	16
2.2.2.3	Condiciones de cultivo	17
2.2.2.4	Ubicación y distribución en Costa Rica.....	18
2.2.2.5	Usos populares de la planta	18
2.2.2.6	Análisis químico y actividad biológica	19
2.2.3	Madero negro (<i>Gliricidia sepium</i>).....	19
2.2.3.1	Generalidades de las Leguminosas.....	19
2.2.3.2	Descripción botánica.....	20
2.2.3.3	Condiciones de cultivo	20
2.2.3.4	Ubicación y distribución en Costa Rica.....	21
2.2.3.5	Usos populares de la planta	22
2.2.3.6	Análisis químico y actividad biológica	22
2.2.4	Hombre grande (<i>Quassia amara</i>).....	23
2.2.4.1	Generalidades de las Simarubáceas	23
2.2.4.2	Descripción botánica.....	24
2.2.4.3	Condiciones de cultivo	24
2.2.4.4	Ubicación y distribución en Costa Rica.....	25
2.2.4.5	Usos populares de la planta	26

2.2.4.6	Análisis químico y actividad biológica	26
2.3	Nematodos asociados a los cultivos agrícolas	27
2.3.1	Clasificación de nematodos	27
2.3.2	Ciclo de vida y hábitos alimenticios de nematodos fitoparásitos.....	28
2.3.3	Daños causados y pérdidas asociadas a nematodos fitoparásitos.....	29
2.3.4	<i>Radopholus similis</i>	31
2.4	Combate de nematodos	31
2.4.1	Combate químico	32
2.4.2	Combate por medios físicos.....	32
2.4.3	Extractos naturales para el combate de nematodos	34
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
3.1	Localización.....	36
3.2	Manejo del experimento	36
3.2.1	Fase 1. Metodología de extracción	36
3.2.2	Fase 2. Análisis químico de caracterización	39
3.2.3	Fase 3. Comparación <i>in vitro</i> de extractos de plantas para el combate de <i>Radopholus similis</i>	39
3.3	Tratamientos.....	41
3.4	Modelo estadístico.....	41
3.5	VARIABLES evaluadas	42
3.6	Metodología de medición de las variables.....	42
4.	RESULTADOS Y DISCUSION	43
4.1	Determinación de compuestos orgánicos con efecto biocida.....	43
4.2	Evaluación de extractos sobre <i>R. similis</i>	44
4.2.1	Higuerilla (<i>R. communis</i>).....	46

4.2.2 Pichichio (<i>S. mammosum</i>)	49
4.2.3 Madero negro (<i>G. sepium</i>).....	52
4.2.4 Hombre grande (<i>Q. amara</i>).....	55
2.5 Disolventes	59
5. CONCLUSIONES	62
6. RECOMENDACIONES	65
7. LITERATURA CITADA.....	66
8. ANEXOS	76
ANEXO A Extracción de compuestos	77
ANEXO B Determinación de compuestos orgánicos con efecto biocida	79
ANEXO C Evaluación de extractos sobre <i>R. similis</i>	80
ANEXO D Desglose de costos del proyecto.....	96

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Identificación de tratamientos, soluciones evaluadas y métodos de extracción utilizados. La Rita, Pococí. 2010	41
2	Determinación de alcaloides, coumarinas, flavonoides y sesquiterpenlactonas de los extractos evaluados. Cuautitlán, México. 2010.	43
3	Probabilidades de las comparaciones de extractos de las plantas con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R.similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1 y 2. La Rita, Pococí. 2010.	45
4	Probabilidades de las comparaciones entre extractos de higuera (<i>R. communis</i>) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R.similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	47
5	Probabilidades de las comparaciones entre extractos de higuera (<i>R. communis</i>) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R.similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	48
6	Probabilidades de las comparaciones entre extractos de pichichio (<i>S. mammosum</i>) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R. similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	50
7	Probabilidades de las comparaciones entre extractos de pichichio (<i>S. mammosum</i>) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R.similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	51
8	Probabilidades de las comparaciones entre extractos de madero negro (<i>G. sepium</i>) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R. similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	53

9	Probabilidades de las comparaciones entre extractos de madero negro (<i>G. sepium</i>) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R. similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	54
10	Probabilidades de las comparaciones entre extractos de hombre grande (<i>Q. amara</i>) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R. similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	56
11	Probabilidades de las comparaciones entre extractos de hombre grande (<i>Q. amara</i>) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R. similis</i> 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	57
12	Probabilidades de los contrastes entre disolventes sobre la mortalidad (%) de <i>R. similis</i> 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	61

LISTA DE CUADROS ANEXOS

Cuadro	Título	Página
C1	Datos de supervivencia para el análisis estadístico general de los extractos evaluados en el Experimento 1. La Rita, Pococí.2010.	80
C2	Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí	80
C3	Medias de mínimos cuadrados, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	81
C4	Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	81
C5	Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	82
C6	Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	82
C7	Medias de mínimos cuadrados, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	82
C8	Diferencias de las medias de mínimos cuadrados, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	83
C9	Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	83
C10	Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	84

C11	Medias de mínimos cuadrados, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	84
C12	Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	85
C13	Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	85
C14	Datos de supervivencia para el análisis estadístico general de los extractos evaluados en el Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	86
C15	Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	86
C16	Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	86
C17	Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	87
C18	Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	88
C19	Análisis factorial de las Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	89
C20	Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	90

C21	Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	90
C22	Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	91
C23	Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	92
C24	Análisis factorial de las Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	93
C25	Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	93
C26	Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	93
C27	Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	94
C28	Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	95
C29	Análisis factorial de las Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.	95
D1	Costos de implementación y materiales del proyecto, por etapas. La Rita, Pococí. 2010.	96

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Frutos maduros de <i>R. communis</i> . Tomada con cámara digital. Ciudad Quesada, San Carlos (López 2009).	13
2	Frutos maduros de <i>S. mammosum</i> . Tomada con cámara digital. Santa Clara, San Carlos (López 2009).	17
3	Distribución de <i>S. mammosum</i> en América (Poveda y León, 2000).	18
4	Hojas de <i>Gliricidia sepium</i> . Tomada con cámara digital. Santa Clara, San Carlos (López 2009).	20
5	Distribución de <i>G. sepium</i> en América (CATIE 1991).	21
6	Hojas y flores de <i>Q. amara</i> . Tomada con cámara digital. Santa Clara, San Carlos (López 2009).	24
7	Distribución de <i>Q. amara</i> en América (CATIE 1994).	25
8	Proceso de extracción, (A): Almacenamiento con hex., ace. y met. (B): Filtrados recolectados y almacenados en refrigeración. (C): Destilación a presión reducida. Tomadas con cámara digital. Santa Clara, San Carlos. (López 2010).	37
9	Elaboración de disoluciones, (A): Material no evaluable de pichichio-metanol Experimento 1 (B): Filtrado por vacío. (C): Material evaluable pichichio-metanol Experimento 2. Tomadas con cámara digital. La Rita, Pococí (López 2010).	38
10	Área experimental y distribución aleatoria de tratamientos. La Rita, Pococí. 2010.	40
11	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , bajo tres extractos de higuerilla (<i>R. communis</i>), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	46
12	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , bajo tres extractos de higuerilla (<i>R. communis</i>), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	47
13	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , bajo tres extractos de pichichio (<i>S. mammosum</i>), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	49

14	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , bajo tres extractos de pichichio (<i>S. mammosum</i>), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	50
15	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , bajo tres extractos de madero negro (<i>G. sepium</i>), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	52
16	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , bajo tres extractos de madero negro (<i>G. sepium</i>), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	53
17	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , bajo tres extractos de hombre grande (<i>Q. amara</i>), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	55
18	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , bajo tres extractos de hombre grande (<i>Q. amara</i>), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	57
19	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , según tratamientos utilizados, concluido el tiempo de evaluación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.	59
20	Porcentaje de mortalidad de <i>R. similis</i> , según tratamientos utilizados, concluido el tiempo de evaluación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.	60
B1	Corrido de extracto de pichichio (<i>S. mammosum</i>) con ace. en la fase móvil C ₄ H ₈ O ₂ : C ₆ H ₁₄ (50:50). Tomada con cámara digital., Cuautitlán Izcalli. México (López 2010).	79
B2	Prueba de alcaloides (A): madero negro (<i>G. sepium</i>) con hex. (B): hombre grande (<i>Q. amara</i>) con hex. Tomadas con cámara digital, Cuautitlán Izcalli. México (López 2010).	79
C1	Evaluación de la mortalidad de <i>R. similis</i> , (A): discos de zanahoria donde se criaron los especimenes evaluados. (B): cámaras de evaluación, con los diferentes extractos inoculados con los nematodos. (C): evaluación de la mortalidad mediante microscopio invertido. La Rita, Pococí (López 2010).	80

RESUMEN

Con el fin de buscar nuevos métodos en el combate de nematodos en plantaciones de *Musas*, que además de ser efectivos, minimicen la contaminación ambiental y las afecciones sobre la salud de los trabajadores, se efectuaron dos experimentos que evaluaron en condiciones *in vitro* la mortalidad de *Radopholus similis* al ser expuesto a tres diferentes extractos (hexánico, metanólico y acético) de cuatro especies de plantas: higuierilla (*Ricinus communis*), pichichio (*Solanum mammosum*), madero negro (*Gliricidia sepium*) y hombre grande (*Quassia amara*). La recolección de plantas, y los procesos de extracción se realizaron en el Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San Carlos, en el 2009; el análisis químico donde se comprobó la presencia de alcaloides, coumarinas, flavonoides y sesquiterpenlactonas en la Universidad Autónoma de México, y la inoculación y evaluación de la mortalidad de *R. similis* en el Laboratorio de Nematología del Centro de Investigaciones Agrícolas La Rita (CORBANA) Pococí, Limón, en el 2010.

Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones. Los extractos diluidos en agua destilada al 5% (12 tratamientos) junto con un testigo absoluto de agua destilada y uno relativo de oxamyl (Vydate® 50 mg l⁻¹); fueron colocados en cámaras inoculadas con 10 individuos de *R. similis*. Se evaluaron 24, 48 y 72 horas luego de la inoculación. La mayor mortalidad fue la obtenida a las 48 horas por los compuestos de *Q.amara* extraídos con acetato de etilo (100%) y metanol (98%), que difiere significativamente de todas las plantas y extractos evaluados (P<0,0001); seguido del *S. mammosum* con acetato de etilo, que alcanzó hasta un 76% de mortalidad a las 72 horas (P<0,0001). Al comparar los disolventes utilizados se observó que presentan diferencias significativas, en donde el acetato de etilo fue el que presenta mayor mortalidad de nematodos. Con base en la literatura se atribuye la actividad nematocida a los alcaloides y sesquiterpenlactonas presentes y también a la interacción de otros elementos como coumarinas y flavonoides.

Palabras clave: Extractos de plantas, *Radopholus similis*, *Solanum mammosum*, *Ricinus communis*, *Gliricidia sepium*, *Quassia amara*, hexano, metanol y acetato de etilo.

ABSTRACT

With the purpose of looking for new methods in the manage of nematodes in plantations of Musas, effective and also reduce the environmental contamination and the affections on the health of the workers; the mortality of *Radopholus similis* was evaluated *in vitro*, the nematode was exposed to three different extracts (hexanic, methanolic and acetic) from four species of plants, higuera (*Ricinus communis*), pichichio (*Solanum mammosum*), madero negro (*Gliricidia sepium*) and hombre grande (*Quassia amara*). The harvesting of the plants, as well as the extraction processes were made in the Technological Institute of Costa Rica, San Carlos, in the 2009, the preliminary chemical analysis where the presence of alkaloids coumarinas, flavonoides and sesquiterpenlactonas was verified, were made in the Independent University of Mexico UNAM and the inoculation and evaluation of the mortality of *R. similis* was made in the Laboratory of Nematología of the Center of Agrícola's Investigations La Rita (CORBANA), Pococí, Limón, in 2010.

The used design was completely at random with 10 repetitions in where the extracts diluted in water distilled to 5% (12 treatments) along with an absolute distilled water witness and one relative one of oxamyl (50 Vydate® mg l⁻¹); were placed in cameras later inoculated with 10 individuals of *R. similis*, which were evaluated 24, 48 and 72 hours later to the inoculation, this test was repeated in time with one week of separation. Greater mortality was obtained on 48 hours by extracted compounds of hombre grande with ethyl acetate (100%) and methanol (98%), the hombre grande differs significantly from all the evaluated plants ($P < 0,0001$), another of the treatments with which it obtained high values of mortality was pichichio with ethyl acetate, 76% ($P < 0,0001$) at 72 hours. When contrasting of dissolvents were observed they show significant differences, in where the ethyl acetate was the one that present better values of mortality, is possible to emphasize that it is not possible to be inferred that this dissolvent was the best one due to the same nature of organic compounds in each plant. Base in the bibliographical references the displayed nematicide activity in the test is attributed, to the present alkaloids and sesquiterpenlactones, but it is not possible to said that it only must to this type of composed, it is probably also to the interaction of other elements or the synergic activity of other molecules like coumarinas and flavonoides, also present in the extracts.

Key words: Plant extracts, *Radopholus similis*, *Solanum mammosum*, *Ricinus communis*, *Gliricidia sepium*, *Quassia amarara*, hexane, methanol and ethyl acetate.

1. INTRODUCCIÓN

La producción de cultivos frutícolas, entre estos el banano (*Musa AAA*), ha sido desde hace muchos años uno de los sistemas intensivos de exportación más importantes en Costa Rica. La actividad, es generadora de divisas, empleos e investigación y promueve enormemente el desarrollo del sector agrícola costarricense.

Dentro de las principales plagas que afectan los rendimientos de este cultivo se encuentran, los hongos, nematodos e insectos. Los hongos y nematodos son de gran importancia debido a la alta cantidad de recursos que se utilizan para su combate.

En las plantaciones de banano en Costa Rica se encuentran *Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, *Helicotylenchus multicinctus* y *Meloidogyne* spp. De los anteriores nematodos, *R. similis* es el de mayor importancia por sus pérdidas en producción (Araya *et al.* 1997).

El método de combate más usado en plantaciones bananeras son los nematicidas no volátiles, sin embargo existen desventajas al utilizar estos productos, tal es el caso de la contaminación del ambiente y efectos negativos sobre la salud de los trabajadores (Araya 1995).

En 1997, Costa Rica importó 600 toneladas de terbufós y mantuvo un comportamiento similar de entre 350 y 500 ton de i.a. importadas por año hasta el 2006; de etoprofós entre 110 y 310 ton i.a. por año y de carbofuran, alrededor de 100 a 150 ton i.a. por año (Ramírez *et al* 2009). Esto representa un gran porcentaje de los costos de producción de explotaciones bananeras. Una alternativa de combate de nematodos menos contaminante es el uso de extractos botánicos o bioplaguicidas basados en productos naturales.

Se conocen muchas especies de plantas que poseen propiedades nematocidas como: maravilla (*Calendula officinalis* L.), cosmos (*Cosmos bipinnatus* Cav.), flor de muerto (*Tagetes patula* L.), entre otras.

Es posible usar algunas de estas plantas antagónicas en el combate de nematodos en distintas etapas del desarrollo de los cultivos, como en rotaciones, en cultivos de cobertura, entre hileras, junto a enmiendas, o en abono verde (Halbrendt 1996). Por tanto, el objetivo de la presente investigación es evaluar las propiedades nematocidas de extractos de cuatro plantas y sus compuestos orgánicos sobre *Radopholus similis* en condiciones *in vitro*.

1.1 Objetivo general

- Evaluar las propiedades nematocidas de extractos de cuatro plantas sobre *Radopholus similis* en condiciones *in vitro*.

1.2 Objetivos específicos

- Extraer compuestos orgánicos de efecto biocida de semillas de higuera (*Ricinus communis*), frutos maduros de pichichio (*Solanum mammosum*), hojas de madero negro (*Gliricidia sepium*) y hojas de hombre grande (*Quassia amara*).
- Determinar los componentes principales de efecto biocida de los extractos de higuera (*R. communis*), pichichio (*S. mammosum*), madero negro (*G. sepium*) y hombre grande (*Q. amara*).
- Evaluar el efecto sobre la mortalidad de *Radopholus similis* de extractos de plantas, obtenidos con hexano, acetato de etilo y metanol, como disolvente, en condiciones *in vitro*.

1.3 Hipótesis

- La aplicación de extractos vegetales produce alta mortalidad de *Radopholus similis* en condiciones *in vitro*.
- Existen diferencias en la mortalidad de *R. similis*, al utilizar diferentes disolventes (hexano, acetato de etilo y metanol) para la extracción de los componentes activos de la planta.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Extracción de compuestos naturales

La extracción química de compuestos naturales consiste en la separación y purificación de sustancias integrantes de una mezcla, que se encuentra en los tejidos de las plantas, mediante el uso de un disolvente (Bates y Schaefer 1977).

Para extraer estas sustancias existen distintos métodos, entre los que (Roselló 2009) menciona:

- a) Purines fermentados o en fermentación: se obtienen colocando las partes de las plantas en un saco permeable, dentro de un recipiente con agua.
- b) Infusiones: obtenidas vertiendo agua hirviendo sobre las plantas frescas o secas.
- c) Decocciones: se colocan las plantas a remojar durante 24 horas, después se hierven.
- d) Maceración: consiste en colocar las plantas en agua, sin dejarlas fermentar, como máximo de doce a veinticuatro horas y después se colan.
- e) Extracción de flores: consiste en cortar las flores antes de que se marchiten, se humedecen y se trituran. Luego se pasa por un tamiz fino (bolsa de tela) para extraer el líquido.
- f) Obtención de esencias o aceites esenciales: se recogen las partes que se desean extraer y se colocan a hervir en agua y con una campana todo el vapor que luego se condensa se separa por decantación del agua

La extracción se clasifica dependiendo del estado físico de los materiales: sólido-líquido o líquido-líquido. Por sus características, la extracción puede ser continua o discontinua (Domínguez y Domínguez 1990).

Dependiendo de la naturaleza de los compuestos, para realizar una extracción continua, los disolventes orgánicos deben tener baja solubilidad en agua, alta capacidad de solvatación hacia la sustancia que se va a extraer y bajo punto de ebullición para facilitar su eliminación posterior (Bates y Schaefer 1977).

La extracción continua sólido-líquido, se emplea cuando la sustancia que se desea extraer está contenida en un material sólido, junto con otros componentes. Se utiliza para aislar sustancias naturales de origen vegetal, o bien, de mezclas resinosas obtenidas por síntesis (Bates y Schaefer 1977). Para este tipo de extracciones se utiliza generalmente la destilación por arrastre con vapor en donde las sustancias arrastrables con vapor son inmiscibles en agua, tienen presión de vapor y punto de ebullición bajos, esto sirve para separar aceites esenciales de tejidos vegetales (Ávila 2001).

Se han recopilado cerca de 3000 metabolitos secundarios de origen vegetal con actividad biológica sobre distintos organismos, algunos de estos son terpenoides, alcaloides, compuestos fenólicos, azufrados, iridoides, esteroides, entre otros (Harborne 1993). La actividad de éstos es variada, algunos poseen actividad biológica sobre los insectos, perturbando su nutrición, desarrollo, reproducción o conducta, sin embargo, sólo el 10% de las plantas terrestres han sido valoradas como fuente de aleloquímicos para el combate de insectos (Bowers 1993).

2.1.1 Disolventes utilizados

Los disolventes son compuestos orgánicos basados en el elemento químico carbono. Constituyen un grupo heterogéneo de hidrocarburos volátiles derivados del petróleo y del gas, cuyo punto de ebullición es bajo por lo que generalmente se evaporan al entrar en contacto con el aire. Su importancia y patrón de uso determinan su clasificación en: solventes activos, cosolventes, solventes latentes, y diluyentes (Quiminet 2010).

2.1.1.1 Acetato de etilo

Es también conocido como eter acético, ácido acético, etil ester – etil etanoato - acetoxietano y etil acético eter. La fórmula química de este compuesto orgánico es $C_4H_8O_2$, con un peso molecular de 88,11, del grupo químico acetato. El estado físico natural es líquido, de apariencia incoloro y olor característico a fruta. Su temperatura de ebullición $75^{\circ}C$ y temperatura de fusión $-83^{\circ}C$.

Este compuesto se utiliza en la producción de tintas de impresión para la industria gráfica, producción de thinners y solventes de pinturas, en la industria de adhesivos y colas derivados de la celulosa. En la industria alimenticia, en productos de confitería, bebidas, dulces, en esencias artificiales de frutas, en la extracción de cafeína a partir del café, en la remoción de sustancias resinosas. En la industria del caucho y en la elaboración de cueros artificiales, además se utiliza como disolvente de compuestos para la elaboración de varios compuestos explosivos, entre otros (Quiminet 2010).

2.1.1.2 Hexano

Se conoce como n-hexano, hexano normal y Hexil. La fórmula química de este compuesto orgánico es C_6H_{14} , tiene un peso molecular de 86,18. Es del grupo químico hidrocarburo alifático, cuyo estado físico natural es líquido, de apariencia incoloro. Cuenta con una temperatura de ebullición $69^{\circ}C$ y temperatura de fusión $-95^{\circ}C$.

La mayor parte del hexano usado en industria se mezcla con sustancias químicas similares. El uso principal es en extracción de aceites vegetales además como agente para limpiar en imprentas, en industrias textiles, de muebles y de calzado. Ciertos tipos de pegamentos especiales usados en industrias de techado, zapatos y cueros también contienen hexano. Este compuesto es el disolvente que se presenta como más inofensivo para la salud y el que produce aceite más puro, algunos de éstos se utilizan para el consumo humano y animal (Díez 1999).

2.1.1.3 Metanol

El metanol, alcohol metílico, hidrato metílico, monohidroximetano, carbinol, hidróxido metílico, metinol o espíritu de madera, es un compuesto puro o solución concentrada. Su fórmula es CH_3OH , su estado físico natural es líquido, de apariencia incoloro y de olor picante. Su temperatura de ebullición $64,5^\circ\text{C}$ y temperatura de fusión $-97,5^\circ\text{C}$.

El metanol es selectivo para los compuestos polares principalmente carbohidratos. Se utiliza como solvente, combustible, plastificante, reactivo de laboratorio, extracción de aceites vegetales y animales, anticongelante, elevador de octano, manufactura de productos químicos y farmacéuticos, agente de extracción, producción de formaldehído, monometil, dimetilamina, sulfato dimetilico, metil-antraquinona y metil ésteres, desnaturalización de etanol, deshidratación de gas natural, en la producción de pinturas, barnices, cementos, tintas, cosméticos, plásticos y colorantes (Quiminet 2010).

2.1.2 Compuestos biocidas extraídos

2.1.2.1 Alcaloides

Los metabolitos secundarios más diversos se pueden clasificar dentro del grupo de los alcaloides. En este grupo se incluyen 12.000 productos, los cuales

se dividen en varios subgrupos, como por ejemplo los alcaloides indólicos, que son derivados del triptófano (Roberts y Wink 1998).

Uno de los alcaloides más importantes es la vinblastina, del tipo bisindólico, se ha utilizado en el tratamiento del mal de Hodgkin. Por otro lado, la vincristina es empleada en el tratamiento de la leucemia. Además de los alcaloides monoterpén-indólicos ajmalicina y serpentina utilizados como agentes antihipertensivos contra las arritmias cardíacas y el mejoramiento de la circulación cerebral (Roberts y Wink 1998).

Existen muchas especies vegetales que contienen alcaloides, pero entre las principales familias de plantas, donde se encuentran alcaloides en grandes cantidades, se encuentran la Apocinaceae, Loganiaceae y Rubiaceae, todas del orden Gentianales (De Luca y St. Pierre 2000).

Además, la familia Solanaceae posee una diversidad de alcaloides entre ellos los glucoalcaloides y la nicotina, potencialmente útiles como insecticidas (Pascual 1998). En la papa, el tomate y la berenjena pertenecientes a esta familia, se han encontrado alcaloides como chaconina, solanina, tomatina, atropina y escopolamina, que poseen un efecto insecticida poderoso en la mayoría de los insectos, aunque algunas especies han aprendido a tolerar las toxinas (Menjivar 2001).

La rianodina, obtenida de los tallos y raíces de *Riania* (*Ryania speciosa*, Fam: Flacourtiaceae) actúa por contacto y vía estomacal afectando directamente a los músculos impidiendo su contracción y ocasionando parálisis, por lo cual ha sido utilizada para combatir larvas de diversos lepidópteros que atacan frutos y particularmente en plagas del maíz (Silva *et al.* 2002; Naranjo y López 2010).

De la pimienta negra (*Piper nigrum*) se han aislado alcaloides de isobutilamida, y evaluado contra el tercer estadio de la larva de *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti* y *A. togoi*. En pruebas con extractos, se encontró que el compuesto más tóxico para *Culex pipiens pallens* fue la pipericida, pero en *A. aegypti* y *A. togoi*, fue la retrofractamida A (el alcaloide más efectivo) (Park *et al.* 2002). Se ha comprobado el uso efectivo de alcaloides de quinolina y quinolona para evitar el crecimiento de *Colletotrichum* sp. (Oliva *et al.* 2003).

Los alcaloides quitinolíticos inhiben los receptores de los canales de sodio y potasio, además juegan un importante papel en la transcripción del ADN, como la inhibición de la polimerasa y la transcriptasa. Al influenciar estos procesos, inhiben también la síntesis proteica y afectan la permeabilidad de la membrana celular (Hoagland y Williams 2004).

Otros alcaloides con actividad biológica que se han aislado de las plantas, son los sesquiterpenos con actividad antialimentaria, maitansinoides con actividad insecticida, alcaloides sesquiterpénicos piridínicos con actividad antialimentaria e inmunosupresora, poliésteres sesquiterpénicos con actividad promotora antitumoral, triterpenoquinonas, dímeros triterpénicos y nortiterpeno metilénquinonas con actividad antimicrobiana (Naranjo y López 2010).

2.1.2.2 Fenoles

Los fenoles constituyen uno de los grupos más abundantes de biomoléculas presentes en frutas y verduras. Poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.), varían desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos (Morimoto *et al.* 2000).

Muchos compuestos tienen un origen biosintético común y por eso un mismo elemento estructural básico, con lo cual se tienen distintos grupos como los son: flavonas, flavonoides, flavanonas, catequinas (flavanoles), antocianos,

isoflavonas, chalconas y auronas (Havsteen 1983). Los taninos (polifenoles) son uno de los mejores insecticidas, bactericidas y fungicidas naturales. Por otro lado, los flavonoides y las flavonas glicosídicas son compuestos generalmente estables, que pueden extraerse desde el material vegetal secado, con disolventes en frío o en caliente. Tienden a ser menos polares cuando están a menudo metilados o acilados y requieren disolventes menos polares para su extracción, tales como éter, hexano y diclorometanol (Font Quer 1985). Se caracterizan por poseer atributos biocidas, ya que algunos poseen actividad antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, espasmolítica, antiulcerosa, vasodilatadora, inhibición de la agregación plaquetaria, citotóxica, antitumoral y estrogénica, entre otras (Morimoto *et al.* 2003).

Morimoto *et al.* (2000) lograron analizar la actividad de cuatro flavonoides: tres metoxiflavonas y una charcona, en extractos de *Gnaphalium affine*, y se demostró la actividad anti-alimentaria contra *Spodoptera litura*, donde la mayor actividad insecticida (anti-alimentaria) se obtuvo con las metoxiflavonas 5,6-dihidroxi-3,7-dimetoxiflavona y 5-hidroxi-3,6,7-tetrametoxiflavona. Otro ensayo posterior de estos autores (2003) demostró que las flavonas con mejor actividad insecticida fueron la crisina y la wogonina, y que al ser metiladas la nobiletina incrementó en más de un 100% su actividad atribuida al cambio en la solubilidad de los compuestos.

2.1.2.3 Terpenos

Las lactonas son terpenos utilizados químicamente como insecticidas, aisladas a partir de tejidos vegetales y en algunas ocasiones de cultivos de *Streptomyces* sp. Actúan en el organismo de los insectos por ingestión o inhalación, produciendo efectos neurotóxicos. Al ser ingeridos por mamíferos sufren una importante metabolización en el hígado (hidrólisis). También tienen efectos citotóxicos, analgésicos, amebicidas y antimutagénicos (Domínguez y Domínguez 1990).

Si las lactonas se unen a grupos tioles, por enlaces covalentes, participan en la disrupción del metabolismo de los organismos vivos, inactivando enzimas (Hoagland y Williams 2004).

Las saponinas son un tipo de esteroles glucósidos, parte del grupo de los terpenos, son ampliamente distribuidas en las plantas, tienen varias actividades biológicas y se utilizan en agentes empleados como fungicidas, insecticidas y en la salud humana como anticancerígeno. Además se usan en cosméticos, conservantes de alimentos y fertilizantes con efectos insecticidas y reforzadores del crecimiento. Westcott (1992) estudió el uso de saponina de palma en compuestos para proteger tanto humanos como animales de granja, contra mosquitos y garrapatas, además sobre ninfas de langosta (*Locusta migratoria*). La actividad antimicrobiana e insecticida de una saponina aislada de la pulpa de fruta, tabaco y semillas de solanáceas es descrita por Okunji *et al.* (2007).

Algunos triterpenoides cumplen una función importante en actividades reguladoras del crecimiento y mortalidad insectil, como respuesta de los insectos a su acción aleloquímica (Céspedes *et al.* 2004).

Otros estudios demuestran la actividad insecticida del Árbol del Paraíso (*Melia azedarach*), la cual se debe a un grupo de triterpenoides biológicamente activos, que tienen efecto antialimentario. En diversos ensayos se han evaluado distintos extractos de *M. azedarach* tanto de las hojas como de los frutos sobre distintas plagas con resultados variables aunque prometedores. Estos terpenos actúan mediante la inhibición de la alimentación (Huerta y Chiffelle 2005). Por otro lado el terpeno limonoide gedunina aislado del arbusto de *Trichilia roka*, posee un fuerte efecto sobre insectos, actuando sobre la regulación del crecimiento de estos mediante los fitoesteroides β -ecdisona, ajugasterona C y ciaesterona (Kubo *et al.* 1981).

2.2 Plantas utilizadas en el experimento

2.2.1 Higuera (*Ricinus communis*)

2.2.1.1 Generalidades de las Euforbiáceas

Esta es una de las familias de espermatófitos más importante y cuenta con más de 5.000 especies. Las especies que componen esta familia son de distribución cosmopolita, pero generalmente se desarrollan con mayor vigor en zonas tropicales y subtropicales. Muchas de sus especies tienen una gran importancia económica: el caucho se obtiene del árbol del caucho (*Hevea brasiliensis*), mientras que la yuca (*Manihot esculenta*) se utiliza en alimentación humana y animal. Otras especies se utilizan en jardinería como el croton y las pasturas. La familia de las euforbiáceas presenta una gran diversidad de formas biológicas que van desde hierbas anuales hasta árboles, arbustos e incluso existen especies con forma de cactus. La presencia de látex es una característica de algunos géneros, entre los que destacan *Euphorbia* y *Hevea* (Font Quer 1985).

2.2.1.2 Descripción botánica

Árbol herbáceo perennifolio de crecimiento rápido, se desarrolla en climas templados y puede medir hasta 10m de altura en zonas subtropicales. En el trópico, con condiciones favorables de clima, suelo y nutrición, puede alcanzar su mayor desarrollo. Sin embargo, cultivado llega escasamente a los 4m de altura (López y Sánchez 1999).

Los tallos son erectos, lampiños, ramificados y rojizos, sin látex. Las hojas son alternas, grandes, pecioladas en forma de palma. Tienen cierto brillo en el haz y son mate en el envés. Están provistas de espículas caducas, lóbulos lanceolados y márgenes dentados, de hasta 50 cm de longitud y un pecíolo de hasta 20 cm (Moncin 2008).

Las flores aparecen dentro de la cápsula floral, donde se alternan masculinas en su base y flores femeninas en la parte superior. El fruto es una cápsula dehiscente de tres valvas, ovoide, de 1-2 cm de diámetro, con la superficie cubierta de espinas color rojo antes de la maduración (Figura 1). Contiene 3 semillas elipsoides grandes y brillantes, de color pardo rojizo, con manchas, de las que se extrae el aceite de ricino (López y Sánchez 1999).



Figura 1. Frutos maduros de *Ricinus communis* utilizados para la elaboración de los extractos. Tomada con cámara digital. Ciudad Quesada, San Carlos (López 2009).

2.2.1.3 Condiciones de cultivo

Este árbol se siembra entre el 16 de julio y el 15 de agosto (Coto 2008). El método de propagación utilizado comúnmente es sexual por medio de semillas. Se siembra de forma directa y la distancia de siembra depende de la variedad y si se va asociar con otro cultivo. Se siembra por sitio de 3-4 semillas a 3-5 cm de profundidad para conseguir un alto porcentaje de germinación (Moncin 2008).

El fruto maduro se puede cosechar al transcurso de 115 y 125 días, realizando una segunda cosecha 45 días después y una tercera 45 días más tarde. Cuando las variedades tienen una producción uniforme se obtiene la cosecha de una sola vez. Algunas de estas variedades se pueden cosechar de

forma mecánica, sin embargo en el 2008, no existía un prototipo de cosechadora de este tipo (Coto 2008).

En Costa Rica, la época de siembra para la región de Guanacaste comprende la segunda quincena de agosto y la primera de setiembre y la del Pacífico Central a partir de setiembre. Cabe recordar que el cultivo debe tener una buena precipitación en la fase de desarrollo vegetativo y una época seca en la época de fructificación y maduración (MAG 1991).

2.2.1.4 Ubicación y distribución en Costa Rica

Se desarrolla en Guanacaste y el Pacífico Central, esto debido especialmente a que requiere de una época seca definida después de la floración y por su requerimiento de agua. También se siembra en zonas de mayor altura, pero con el fin de ofrecer sombra a cafetales de variedades de porte bajo (MAG 1991).

2.2.1.5 Usos populares de la planta

La higuierilla se ha utilizado para el tratamiento de distintas enfermedades del sistema reproductivo. Además suelen utilizarse las hojas como compresas en caso de fiebre y como analgésico, también se ha estudiado su acción farmacológica en el sistema digestivo como purgante (Apecechea *et al.* 1998).

Purohit y colaboradores (1995) demostraron que el extracto etanólico de las hojas de *Ricinus communis* posee efecto hepatoprotector en las hepatitis crónicas inducidas por rifampicina y alcohol. Por otro lado, Apecechea *et al.* (1998) analizaron *in vitro* el efecto anticoagulante de las hojas de esta planta, la cual mostró una evidente acción sobre el coágulo sanguíneo retardando su formación.

2.2.1.6 Análisis químico y actividad biológica

Esta planta es importante en el estudio de compuestos botánicos nematocidas, ya que contiene gran cantidad de aceites (Terpineol) con efectos

sobre ácaros, moscas y nematodos (Pelicano *et al.* 2001). Las secciones de la planta que se utilizan con este propósito son las semillas y las hojas. Cháves (2008) propone que para la extracción de estos compuestos se debe utilizar como método de extracción la destilación. El destilado luego se expone a una relación de 100 ml de alcohol por 1 ml de extracto. El autor propone que para el combate de mosquitos y afidos, el método de aplicación es con bomba de espalda de 16 litros, una vez por semana en la dosis de 150 a 300 ml del extracto.

La ricina que se extrae de esta planta es una toxoalbumina de un polipéptido formado de dos cadenas de aminoácidos, la cual tiene entre otras propiedades ser un veneno protoplasmático, usado como larvicida contra *Anopheles stephensi* y bactericida contra *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* y *Serratia* (Rodríguez 2000). También se han evaluado flavonoides y coumarinas extraídas de ésta en hormigas podadoras (Acacio-Bigi *et al.* 1998) y en la vaquita de los melones (*Epilachna paenulata*) (Pelicano *et al.* 2001).

2.2.2 Pichichio (*Solanum mammosum*)

2.2.2.1 Generalidades de las Solanáceas

Las solanáceas, familia a la que pertenece el pichichio, está formada por 90 géneros y 2.600 especies. Algunos cultivos como la papa, el tomate y el tabaco pertenecen a esta familia, cuyas plantas se caracterizan por tener flores con cinco sépalos, cinco pétalos, cinco estambres y un único pistilo y, en casi todos los casos, producen una baya cuando maduran. Las hojas y el fruto inmaduro de casi todas las especies de esta familia, contienen concentraciones peligrosas del alcaloide esterooidal solanina. Una dosis tóxica de cualquiera de estas partes provoca en mamíferos, aves y otros organismos vivos graves alteraciones digestivas, que pueden ir acompañadas de temblores, debilidad, dificultad para respirar o parálisis (Poveda y León 2000).

Roselló (2009) indica que las solanáceas poseen gran número de especies con alcaloides venenosos (solanina, demisina, nicotina), como la belladona (*Atropa belladonna*), el estramonio (*Datura stramonium*), el árbol de las trompetas (*Datura arborea*), floripondia (*Datura suaveolens*), la papa (*Solanum tuberosum*), la papa silvestre (*Solanum demissum*), el tomate (*Lycopersicon sculentum*) y el tabaco (*Nicotiana tabacum*). Pascual (1998), encontró efectos insecticidas sobre el gorgojo *Tribolium castaneum* utilizando extractos de tabaco de pota (*Nicotina rustica*), tomatillo (*Solanum nigrum*) y poroporo (*Solanum aviculare*), actividad biológica que atribuyó a los alcaloides nicotina, nor nicotina, anabasina, solasonina, solasonina y solanidina presentes en varias especies de la familia solanaceae.

2.2.2.2 Descripción botánica

El pichichio es también conocido como chichigua, chigua, güirito de pasión, güirito espinoso y chucho de vaca. Pertenece a la familia Solanaceae, género *Solanum* y especie *S. mammosum* (Hernández *et al.* 1998).

Poveda y León (2000) la describen como una planta venenosa, subherbácea, anual o perenne de 50 cm a 150 cm de altura, con espinas en los tallos y en las venas de las hojas. Las ramas y el tronco tienen pubescencia larga y espinas curvas hasta de 2 cm de largo, la fruta es una baya ovoide, lisa, en forma de pera, de color amarillo vivo cuando está madura (Figura 2) y termina en una punta obtusa, tiene además semillas no aladas.



Figura 2. Frutos maduros de *Solanum mammosum* utilizados para la elaboración de los extractos
Tomada con cámara digital. Santa Clara, San Carlos (López 2009).

2.2.2.3 Condiciones de cultivo

Se puede cultivar en cualquier tipo de suelo, si se encuentra bien drenado. Soporta acidez extrema y tolera niveles de saturación de aluminio superiores al 60%, además se puede desarrollar en suelos con poca materia orgánica. En condiciones de alta luminosidad, puede cultivarse durante todo el año, preferiblemente al inicio de la época lluviosa.

El ciclo de vida es anual, que comprende un periodo vegetativo de 65 días, luego de éste comienza la floración, para dar paso a la fructificación 45 días después. Los frutos demoran de 70-80 días en alcanzar la maduración, tomando una coloración amarillo-anaranjado. Al madurar estos se da total defoliación, quedando los frutos, que son indehiscentes y persistentes, adheridos a las ramas secas de la planta. La vida útil de una plantación de pichichio puede ser de nueve meses, siendo afectada por virus, como es el caso de la mayoría de las solanaceas, aunque éstos raramente se expanden como para provocar daños significativos (Hernández *et al.* 1998).

2.2.2.4 Ubicación y distribución en Costa Rica

Es una planta nativa del trópico americano, en nuestro país es más frecuente en las sabanas de la vertiente del Pacífico Sur y Atlántico. En San José, Heredia y Puntarenas se encuentra en escombros y tierras abandonadas desarrollándose como “mala hierba” (Poveda y León 2000).

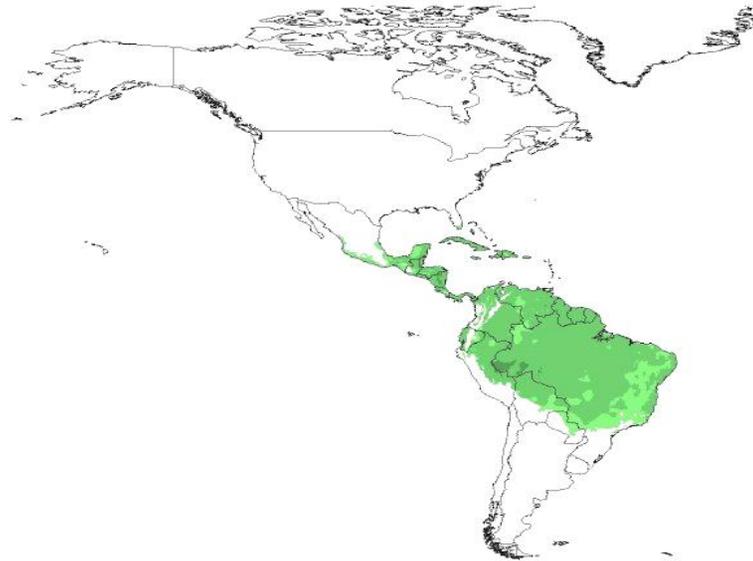


Figura 3. Distribución geográfica de *S. mammosum* en América (Poveda y León, 2000).

2.2.2.5 Usos populares de la planta

En Costa Rica, se utiliza como remedio contra la sinusitis, a manera de vapores del fruto cuando este hierve, en Guatemala se recurre a la decocción del fruto seco para enfermedades de los riñones, fiebre, sudores e infecciones micóticas. El fruto triturado también se emplea para el asma, depurar erupciones cutáneas, escrófulas. La decocción de las flores se utiliza contra la tosferina y para limpiar heridas, la semilla se recomienda para remedios contra el catarro y se ha usado el fruto fresco con azúcar como cebo para matar cucarachas y perros (Hernández *et al.* 1998; Poveda y León 2000).

2.2.2.6 Análisis químico y actividad biológica

Esta planta contiene taninos, flavonoides, glicósidos cardiotónicos y saponínicos, esteroides, triterpenos y sesquiterpenlactona (Hernández *et al.* 1997). También contiene alcaloides esteroidales como la solamargina y tomatina en el fruto, indicándose correlación de la toxicidad con el tipo de aglicona enlazado en la estructura alcaloidal (Alzérreca *et al.* 1981).

Por otro lado, la actividad molusquicida ha sido sobresaliente para extractos metanólicos del fruto del pichichío aislándose el alcaloide solasodina de los mismos. También puede el fruto seco y pulverizado ser almacenado en agua durante 6-8 horas, filtrado y empleado en el combate de moluscos (Alzérreca *et al.* 1981; Poveda y León 2000).

Brack (1999) cita las propiedades insecticidas del pichichio, el cual en Perú es muy utilizado para la eliminación de plagas caseras, como cucarachas y hormigas, pero se desconoce cuales son exactamente las moléculas que causan la mortalidad de estas plagas y si las mismos podrían tener algún efecto sobre nematodos.

2.2.3 Madero negro (*Gliricidia sepium*)

2.2.3.1 Generalidades de las Leguminosas

Las leguminosas son una enorme familia, con distribución en todo el mundo, tiene entre 16.000 y 19.000 especies en casi 750 géneros. La familia está dividida en tres subfamilias, Mimosoideae, Caesalpinoideae y Papilionoideae, basándose fundamentalmente en diferencias florales. Las hojas de las especies pertenecientes a esta familia son generalmente alternadas y compuestas (bipinadas, pinadas, palmeadas o rara vez simples). La inflorescencia varía entre racimos, racimos simples, panículas, espigas o cabezas. La estructura de la flor varía fundamentalmente con la subfamilia: corola con cinco pétalos; estambres de tres a muchos, generalmente diez, libres o unidos; pistilo único, simple y libre.

El fruto es generalmente una vaina (legumbre), dehiscente o indehiscente, con o sin suturas aladas. La raíz puede ser principal y generalmente ramificada, incluso acuática o semi-aérea y casi siempre presenta micorrizas (Sprent 2001).

2.2.3.2 Descripción botánica

Gliricidia sepium (Jacq.) Walp., conocido comúnmente como gliricidia, madero negro, mata-ratón y madre de cacao, es un árbol caducifolio de tamaño pequeño (Figura 4) o mediano y sin espinas, con un tronco corto y una copa esparcida e irregular, florece de febrero- marzo hasta junio (Hughes 1987).



Figura 4. Hojas de *Gliricidia sepium* utilizadas para la elaboración de los extractos. Tomada con cámara digital.. Santa Clara, San Carlos (López 2009).

2.2.3.3 Condiciones de cultivo

La mayoría del área de distribución natural del madero negro se caracteriza por un clima sub-húmedo, con una precipitación anual promedio de entre 900 y 1.500mm y una estación seca de 5 meses de duración entre diciembre y abril, también se desarrolla en áreas más secas, con precipitaciones anuales de 600 a 700mm; estas zonas presentan de 7 a 8 meses de estación seca. Las áreas más húmedas en donde se distribuye naturalmente tienen hasta 3.500mm de

precipitación anual con una estación seca bien definida pero de menor duración (Hughes 1987). El mejor crecimiento ocurre en áreas que reciben entre 1.500 y 2.300mm de precipitación anual, con temperaturas que oscilan entre 22 y 28°C, las temperaturas máximas soportadas van desde 34 a 41°C (Little 1970).

Crece en una variedad de tipos de suelo, desde arenas puras hasta suelos pedregosos sin estratificación y vertisoles negros profundos, se cultiva en suelos desde arcillas hasta francos arenosos. La especie es intolerante a las condiciones pantanosas o a la compactación del suelo en vertisoles y muy alcalinos (Hughes 1987).

2.2.3.4 Ubicación y distribución en Costa Rica

El madero negro es nativo de México y América Central, en un área que abarca desde la 25°30' N. en el noroeste de México hasta la 7°30' N. en Panamá, pero ha sido cultivado extensamente en regiones tropicales y subtropicales fuera de su área de distribución natural. Dentro de su área de distribución natural, el madero negro se distribuye en la mayoría de las posiciones topográficas, desde el nivel del mar hasta una altitud de 1.200 m, y ha sido cultivado a 1.600 m en Guatemala y Costa Rica (Hughes 1987).



Figura 5. Distribución geográfica de *G. sepium* en América (CATIE 1991).

2.2.3.5 Usos populares de la planta

El uso de follaje de árboles y arbustos para la alimentación de rumiantes ha cobrado importancia desde hace varios años, por ser fuente económicamente accesible de nutrientes. El madero negro se cultiva a menudo como una cerca viviente y los vástagos se cortan a intervalos frecuentes para usarse como fertilizante, forraje para el ganado y como combustible. Las hojas se usan como forraje para rumiantes pequeños y grandes.

El uso de este árbol forrajero multipropósito, es una de las opciones en sistemas de alimentación con rumiantes, debido que muestra alto valor competitivo frente a fuentes proteicas de alimentación tradicionales (Romero *et al.* 1996). Aunque su uso como forraje para ganado es debatible, ya que posee un alto contenido nutricional, pero también se han reportado problemas con el sabor y la toxicidad (Clavero 2000).

El madero negro se ha usado también en barreras contra incendios y como rompevientos y para la reforestación de cuencas desnudas (Little 1970). Se utiliza en asocio con otros cultivos, para dar soporte, sombra o como fijador de nitrógeno del suelo, su uso como árbol de sombra para el cacao parece haberse originado en México, donde los aztecas lo llamaban “cacahuanantl” o madre de cacao (Little y Wadsworth 1964).

2.2.3.6 Análisis químico y actividad biológica

La sustancia activa de este árbol se localiza en las hojas. Extractos foliares se han utilizado históricamente como insecticida contra áfidos, pulgas y otras plagas domésticas (Rodríguez 1987). Según el análisis químico descrito por Rodríguez (2000), esta planta contiene alcaloides, taninos, saponinas, esteroides insaturados, flavonoides y polifenoles, en sus hojas.

En la corteza se identifican taninos y triterpenos. Además de la presencia de coumarinas, flavonoides, aminoácidos y azúcares reductores (Jurd 1976).

Se recomienda realizar una infusión de hojas y ramas, luego agregar 100 a 150 ml de alcohol comercial y utilizar una dosis de 200 ml del extracto por bomba de 16 litros cada 8 días, para el combate especialmente de pulgas y garrapatas; por otro lado no se ha estudiado formalmente su uso como nematocida en poblaciones de *R. similis* ni como combate de otras plagas fitófagas (Chávez 2008).

La decocción de las hojas es activa contra hongos como *Microsporium canis* y *Tricophyton mentagrophytes*; la maceración fue probada contra *Neisseria gonorrhoea*, como insecticida contra *Culex* spp., *Diacrisis virginica*, moscas de *Eliothus armigera*, *Hydrellia phillippia*, *Nymphula depunctalis*, *Spodoptera eridania* y contra áfidos y ácaros, por esto se utiliza como barrera biológica repelente de insectos. En las Filipinas, las ramas del madero negro se esparcen sobre las siembras de arroz, en donde ayudan a repeler las plagas, tales como el gusano *Nymphula* sp. y la larva del díptero *Hydrellia* sp. (Rodríguez 2000).

Según Roselló (2009) el extracto acuoso al 10% de *Gliricidia sepium* inhibió la eclosión de las ootecas de *Meloidogyne incognita* en un 100% en evaluaciones *in vitro*. En experimentos desarrollados en invernadero el grado medio de infestación fue 0 cuando se utilizó el extracto y 2,6% para el ensayo realizado con las hojas trituradas respecto al 4% de infestación al utilizar el tratamiento control

2.2.4 Hombre grande (*Quassia amara*)

2.2.4.1 Generalidades de las Simarubáceas

Esta familia se distribuye desde América, África, Asia, Malasia y el noreste de Australia, pero su centro de distribución principal se encuentra en América Tropical. Se divide en seis subfamilias con alrededor de 30 géneros y de 150 a 200 especies arbustivas y arbóreas. Son por lo general plantas leñosas, de hojas pinnado compuestas y sin estípulas; flores regulares dispuestas en panoja; 5 sépalos soldados en la base; 5 pétalos verdosos; 10 estambres cuando más; 2-5

carpelos libres entre sí y no soldados con los verticilos externos; el fruto está formado por varias sámaras y semillas con el embrión recto y con albumen carnoso (Fernando y Quinn 1995, Poveda 1995).

2.2.4.2 Descripción botánica

El arbusto de hombre grande, guabito amargo o cruceta (Figura 6), como se le conoce a la *Quassia amara*, suele crecer de 3-6 m de altura, posee hojas con el pecíolo y raquíis de los folíolos alados, pinnas 7,5-11cm de largo, 4-7 cm de ancho acuminadas, flores vistosas de color rosado vivo o rojas, cáliz 2-3 mm de longitud de segmentos ovados, obtusos ciliados, pétalos 2,5-4,5 cm de longitud, linear o linear lanceolados, glabros, frutos drupáceos ovalados de 1-1,5 cm de longitud (Ocampo 1994).



Figura 6. Hojas de *Quassia amara* utilizadas para la elaboración de los extractos. Tomada con cámara digital. Santa Clara, San Carlos (López 2009).

2.2.4.3 Condiciones de cultivo

Se desarrolla en altitudes inferiores a 500 msnm aunque de modo natural alcance hasta los 800 msnm. Puede crecer en zonas de bosque seco, pero desarrolla todo su potencial únicamente en bosques de galería, donde la humedad del suelo sea adecuada durante todo el año. Por ser una especie del sotobosque

se desarrolla mejor en el bosque tropical seco, pero muestra una baja densidad de germinación cuando se encuentra a poca distancia de siembra. Naturalmente es una especie con una alta agregación en ciertas áreas y completamente ausente en otras (Browder 1992).

La reproducción de este arbusto, para su cultivo puede ser exitosa, tanto asexual como sexualmente. Si se realiza mediante semillas, éstas deben sembrarse en substrato arenoso una vez germinadas, no se deben sombrear demasiado, ya que las plántulas requieren de modo natural zonas de luz en el bosque para desarrollarse (CATIE 1994).

2.2.4.4 Ubicación y distribución en Costa Rica

Se distribuye desde México al norte de Suramérica hasta el Amazonas y en las islas del Caribe, crece en las regiones bajas húmedas de los trópicos (Ocampo 1994). En Kékoldi, Talamanca, Costa Rica, se realizó una evaluación que indicó que *Quassia amara* es más abundante en los bosques secundarios, tacotales y plantaciones de cacao del Pacífico Sur del país (Brown 1995).

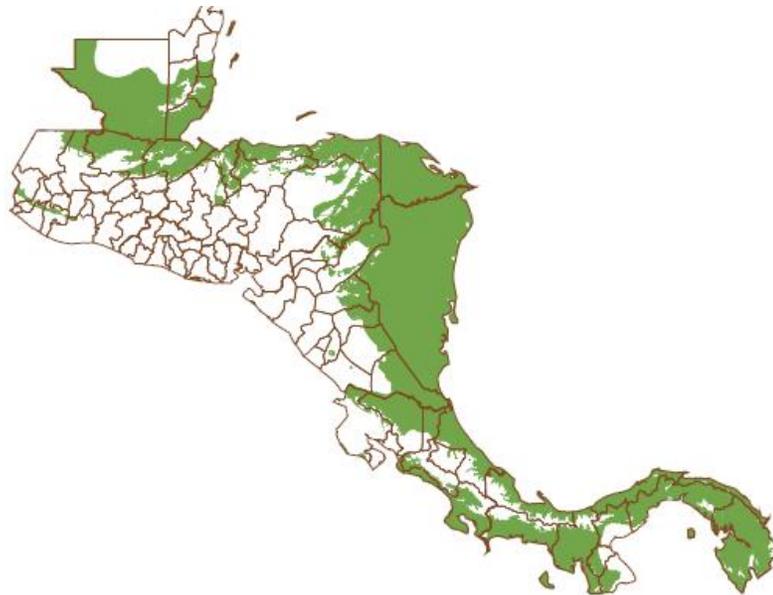


Figura 7. Distribución geográfica de *Q. amara* en América (CATIE 1994).

2.2.4.5 Usos populares de la planta

La *Quassia amara*, se utiliza en maceraciones en agua fría o infusiones, contra alergias y afecciones de la piel. En otras regiones de Costa Rica se usa como tónico amargo estimulante del apetito, además es eficaz para combatir la fiebre, cálculos del hígado, amebas, debilidad, diabetes, gonorrea, infecciones en los riñones, contra parásitos intestinales y para apresurar el parto (Ocampo 1994, Cáceres 1995). Se ha utilizado inclusive para tratar diferentes tipos de cáncer, obteniéndose muy buenos resultados en contra de la leucemia (Brown 1995). También se utiliza en ungüentos para tratar afecciones tópicas como picaduras de ácaros e insectos (Cáceres 1995).

2.2.4.6 Análisis químico y actividad biológica

El principio más importante de esta planta es una lactona amarga, la cuasina, entre otros se encuentran la meocuasina, 18-hidroxicuasina, escopoletina. Estos compuestos son activos contra *Candida albicans*, *Staphylococcus typhi*, *S. aureus* y otras bacterias que afectan el tracto digestivo, además se utiliza como vermífugo contra ascaris (Rodríguez 2000, Ocampo 1994, Salas 1981, Roselló 2009).

El extracto de las ramas y hojas de hombre grande tiene efecto sobre áfidos o pulgones que chupan la savia de tallos y hojas tiernas. También tiene efecto sobre gusanos barrenadores y minadores que hacen túneles o galerías en tallos y hojas, además posee propiedades Nematicidas. La sustancia a la cual se le atribuyen estos efectos se llama quassia, y esta se encuentra en mayor proporción en las ramas y tronco del árbol. El modo de acción de los extractos de *Q. amara*, es por contacto y por digestión, por lo cual se considera un insecticida, afidicida y nematicida sistémico y de contacto contra larvas, nematodos, áfidos, escarabajos, minadores y hormigas (Rodríguez 1987).

La actividad de *Q. amara* ha sido además probada desde 1884 en Inglaterra para el combate de áfidos y luego otros extractos se usaron en Europa para el combate de áfidos y mariposas, además, se ha utilizado la madera para fabricar papel matamoscas y cajas para proteger la ropa de la polilla. Una de las ventajas de este insecticida natural es que no afecta a insectos beneficiosos como abejas o mariquitas (CATIE 1994).

2.3 Nematodos asociados a los cultivos agrícolas

Los nematodos son considerados los organismos multicelulares más numerosos en los agroecosistemas, algunas veces se encuentran en densidades hasta de 30 millones m² (Andres 2003). Se consideran animales cosmopolitas, ya que pueden ocupar cualquier nicho.

2.3.1 Clasificación de nematodos

Los nematodos clasifican de acuerdo a sus hábitos alimenticios en: saprófagos, omnívoros, depredadores y fitoparásitos. De estos grupos los que presentan mayor importancia para la producción agrícola son los fitoparásitos, debido a su acción patogénica (Agrios 1991).

Los nematodos fitoparásitos se clasifican de acuerdo al tipo de parasitismo. Según Crozzoli *et al.* (1993) en los nematodos ectoparásitos todo el cuerpo permanece fuera de los tejidos. Los géneros *Xiphinema*, *Trichodorus*, *Belonolaimus* y *Criconemella* sólo introducen el estilete en la zona cortical de la raíz. Sin embargo, *Xiphinema* afecta el tejido vascular. Los nematodos semiendoparásitos como *Helicotylenchus* y *Aorolaimus* introducen dentro de la raíz, además del estilete, la parte anterior del cuerpo.

Los nematodos endoparásitos migratorios pueden penetrar completamente dentro de las raíces y se mueven inter e intracelularmente (*Radopholus*, *Pratylenchus*, *Scutellonema*) o en la parte aérea (*Ditylenchus*, *Aphelenchoides* y

Rhadinaphelenchus). Los endoparásitos sedentarios, una vez que penetran y establecen un lugar de alimentación, se abultan y pierden la movilidad (*Meloidogyne*, *Globodera*).

2.3.2 Ciclo de vida y hábitos alimenticios de nematodos fitoparásitos

Para la mayoría de nematodos fitoparásitos el ciclo de vida transcurre en el suelo, en el cual se alimentan de raíces y tallos subterráneos. En cuanto a los endoparásitos sedentarios, tanto los huevos, los estadios juveniles preparásitos y los machos se encuentran en el suelo durante toda o mucha parte de su vida (Andres 2003).

Las poblaciones de nematodos son fluctuantes, es decir, tienden a aumentar y a disminuir el número de individuos en cierta área a través del tiempo, su comportamiento varía, por uno o más de los siguientes factores: condiciones de clima y suelo (humedad, temperatura y textura de este), fisiología de la planta, presencia de otros organismos y variaciones patogénicas del nematodo (Jiménez 1991). Por ejemplo, las hembras del género *Meloidogyne* no alcanzan su madurez a temperaturas inferiores a 15,4°C, o superiores a 33,5°C, comprometiendo con esto el desarrollo poblacional (Christie 1979).

Al analizar el suelo, se ha determinado que la profundidad, textura y por lo tanto composición del mismo, también son unos de los factores influyentes para la presencia de poblaciones de nematodos. En los primeros 2cm por lo general no hay nematodos presentes, mientras que en los siguientes 5cm de suelo, compuesto por materia orgánica, se encuentran la gran mayoría de nematodos saprófitos. A 20cm más de profundidad se encuentran los nematodos fitoparásitos, ya sea en la rizósfera de las raíces de las plantas o dentro de las mismas. Esto en el horizonte A o primer horizonte del suelo, en el horizonte B, es posible encontrar nematodos, solamente si existen raíces funcionales de plantas. En cuanto a la influencia de la textura del suelo, los nematodos al moverse de forma ondulatoria, a través de los poros del suelo, mediante los flujos de agua,

alcanzan mayores distancias en suelos arenosos, donde tiene mayor movilidad (Hernández 1981).

La diseminación de los nematodos es un factor de importancia para conocer su comportamiento y poder realizar un combate efectivo. Los medios de diseminación más importantes son por medio de suelo y partes de plantas transportadas de un lugar a otro, siendo el hombre uno de los principales vectores. Además el viento, el agua de lluvia, los animales, así como el movimiento de equipo agrícola determinan muchas veces el traslado de las colonias de nematodos de un lugar a otro (Hernández 1981).

2.3.3 Daños causados y pérdidas asociadas a nematodos fitoparásitos

Los nematodos causan daño tanto en las partes aéreas, como en los órganos subterráneos de la plantas. La sintomatología provocada por ataques de nematodos se puede caracterizar de la siguiente manera:

i. Partes aéreas de la planta

- | | |
|-----------------------|---------------------|
| - Clorosis | - Muerte de tejidos |
| - Marchitez prematura | - Baja producción |
| - Raquitismo | - Defoliación |

ii. Partes subterráneas de la planta

- | | |
|---------------------------|------------------------|
| - Necrosis | - Caída de la corteza |
| - Formación de nódulos | - Distorsión de raíces |
| - Proliferación radicular | - Poda de raíces |

Los síntomas de los órganos aéreos son similares a los que producen muchas otras enfermedades de la raíz o factores ambientales, los cuales disminuyen el volumen de agua disponible para la planta (Hernández 1981).

En la parte subterránea de la planta las raíces infectadas atrofian la zona de invasión y se desarrollan agallas típicas en el nudo de la raíz, las cuales tienen un

diámetro dos o tres veces mayor al de las raíces sanas. Esto difiere dependiendo del género de nematodo que ataca la planta, en algunos casos se producen varias infecciones sobre la misma raíz y las agallas en proceso de desarrollo le dan a la raíz una forma irregular que se asemeja a una masa, con frecuencia se produce la pudrición de las raíces (Jiménez 1991).

Algunos de los cultivos más afectados por los nematodos fitoparásitos en condiciones tropicales son tomate, musáceas, maní, tabaco, café, cacao, algodón, coco y soya. En regiones templadas se ven afectados principalmente los cultivos de cereales, papa, remolacha y maíz (Andrés 2003).

Según Bridge *et al.* (1997), los nematodos que atacan las Musáceas, se caracterizan por estar presentes en todas las fases del cultivo, los huevos son depositados en las raíces y el nematodo se desarrolla completamente en la planta; el ciclo de vida de algunas de estas especies no tarda más de 30 días si se mantienen temperaturas promedio de 25-30°C, estos indicadores varían con cada especie.

Dentro de los síntomas presentados por las plantas de musáceas que son además utilizados para la identificación de nematodos se encuentran:

- a) Falta de crecimiento de las plantas.
- b) Reducción del peso de los racimos.
- c) Alargamiento del ciclo de producción
- d) Caída por desraizamiento

Las pérdidas de cosecha anuales estimadas debidas a nematodos parásitos de plantas en la producción agrícola mundial se aproxima al 11% y en términos absolutos las pérdidas económicas anuales se calculan en torno a los 80 billones de dólares (Agrios 1997).

2.3.4 *Radopholus similis*

Radopholus similis es un nematodo migratorio, este penetra totalmente las células de la corteza de las raíces. Un síntoma clásico para su identificación es observar lesiones rojizas con posterior necrosis extensiva de color negro en los tejidos epidérmicos y corticales de las raíces. También se pueden encontrar lesiones necróticas en el rizoma (Brigde *et al.* 1997).

R. similis es el nematodo más importante de las Musáceas en condiciones de la Costa Caribe de Costa Rica seguido por *Pratylenchus* spp., esto debido tanto a su agresividad como abundancia, ya que según Rivas y Rosales (2003), constituyen más del 70% de la población de nematodos en las raíces. *R. similis* puede atacar todos los genomas de musas: AA, AAA, AB, AAB y ABB y es el único nematodo, para el cual se han logrado establecer niveles críticos para el cultivo. Se afirma que el nivel poblacional crítico de *R. similis* en Centro América es de 10,000 individuos /100 g de raíces (Crozzoli *et al.* 1993).

Además de su agresividad, Jiménez (1972) determinó que las altas densidades de *R. similis* coinciden con los mayores periodos de crecimiento del cultivo, este comportamiento es debido a que cuando la planta tiene su sistema radical mayormente desarrollado, proporciona las condiciones ideales para la alimentación y posterior reproducción de este nematodo.

2.4 Combate de nematodos

El combate de nematodos es uno de los principales rubros en cuanto a costos de producción que una empresa debe de tomar en cuenta, ya que si una plantación se ve afectada por estos, los daños pueden ser irreparables. Araya (1995), determinó que dependiendo de las condiciones agroecológicas y del cultivar, la reducción en el rendimiento de las plantaciones de musas afectadas por nematodos, puede alcanzar hasta un 80%.

Uno de los principales problemas que se tiene al combatir estos es la existencia de razas, por ejemplo, *M. incognita* tiene cuatro razas. Además, muchas poblaciones están compuestas por más de una especie y/o raza; lo cual dificulta la identificación correcta que permita seleccionar cultivares resistentes o el combate más adecuado.

Los nematodos sobreviven de un ciclo a otro de cultivo en las malezas que quedan en el campo y se diseminan a través del agua de riego, viento, suelo hasta el material de trasplante o el terreno preparado para la siembra (Crozzoli 2007), esto hace que sea necesario su combate desde edades tempranas del cultivo e inclusive antes de la siembra del material.

2.4.1 Combate químico

A pesar de las restricciones económicas, ambientales y de seguridad, que conlleva el uso de nematicidas químicos, este ha sido el combate más rentable para los productores bananeros en Costa Rica.

En épocas secas (menos de 1.500mm) se puede utilizar oxamyl (Vydate[®]), ethoprop (Mocap[®]) y en tiempo de alta precipitación (1800 y 3600 mm) terbufos (Counter[®]), fenamifos (Nemacur[®]) y cadusafos (Rugby[®]) (MAG 1991).

2.4.2 Combate por medios físicos

Las prácticas físicas para el combate o disminución de las poblaciones de nematodos es complicado debido a que estas especies tienen un amplio rango de hábitats, ya que tienen gran cantidad de hospederos, como gramíneas y plantas arbustivas. Si se maneja barbecho arbustivo, mantenido por más de un año se puede reducir la densidad en las plantaciones (Bridge *et al.* 1997). La anegación del terreno sembrado, es un método de combate utilizado donde el cultivo lo permita, este se basa en que cuando hay baja concentración de oxígeno, las condiciones anaeróbicas inhiben el desarrollo y oviposición de los nematodos, este método no es utilizado en banano regularmente.

Otras alternativas poco contaminantes para el combate de nematodos en musáceas, como siembra de semilla limpia, agua caliente a 55°C, anegación del terreno y otros, no son muy utilizadas en grandes plantaciones, debido a su baja efectividad (Christie 1979).

Los tratamientos a base de agua caliente, la esterilización del suelo y la siembra en épocas de baja incidencia, son prácticas que basan su efectividad en el hecho en que los nematodos nodulares como el *Meloidogyne* sp. producen unos cuantos huevos viables cuando la temperatura es superior a 35°C, mientras que de 25 a 32°C, son temperaturas óptimas para la oviposición (Hernández 1981).

Un método utilizado para reducir la densidad de nematodos en el material vegetal consiste en eliminar las raíces y pelar los rizomas superficialmente quitando el tejido lesionado. La exposición del material recortado a la luz solar directa permite disminuir la población residual de nematodos, adicionalmente se puede aplicar tratamientos con agua caliente, para eliminar cualquier huevo remanente en los tejidos (Christie 1979).

2.4.3 Combate biológico:

Ciertas especies de hongos como *Nematophthora gynophila*, *Arthrobotrys oligospora*, *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma* sp. y *Verticillium chlamydosporium* son parásitos de nematodos (Martinuz 2006) También se han utilizado bacterias como *Pasteuria penetrans*, pero por la dificultad de reproducir sus esporas en cantidades suficientes, además de la especificidad huésped-bacteria, se ha limitado su uso comercial para el combate de nematodos.

Han sido muchos los intentos infructuosos por desarrollar combates biológicos, y cuando los mismos son producidos se tiene una limitante en el campo, ya que los nematodos asociados a cultivos como el banano, no requieren del suelo para completar su ciclo de vida (Rivas y Rosales 2003).

2.4.3 Extractos naturales para el combate de nematodos

Los extractos naturales son productos a base de sustancias originadas por las plantas, algunos de estos tienen propiedades benéficas para la agricultura, como el fortalecer la planta y repeler o suprimir algún patógeno. Su eficacia depende de muchos factores, en función a la etapa fenológica del cultivo, las condiciones de extracción, la calidad y sanidad de la planta de la cual se extrae la sustancia (Roselló 2009).

Los metabolitos secundarios como alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles ó taninos, poseen diferentes funciones biológicas y han sido utilizados frecuentemente en tratamiento de enfermedades y control de plagas, pero aún no se ha determinado el patrón de máxima producción, ni órganos especiales para el almacenaje de estos metabolitos. Sin embargo, lo común es que la mayor concentración se encuentre en flores, frutos y semillas (Coats 1994; Silva *et al.* 2002).

Existen estudios que comprueban la efectividad del uso de extractos de plantas para el combate de nematodos en diferentes cultivos. Por ejemplo en Filipinas, se ha utilizado plantas como flor de muerto (*Tagetes erecta*), Leucaena (*Leucaena leucocephala*), zacatillo (*Cynodon dactylon*) y dormilona (*Mimosa pudica*), las cuales resultaron eficaces contra la eclosión de huevos de *M. incognita* (De Waele y Davide 1998). También se han evaluado extractos de hojas de kadam (*Anthocephalus chilensis*), lirio de agua (*Eichornia crassipes*), ajo (*Allium sativa*) y cebolla (*Allium alia*) que también resultaron eficaces contra *M. incognita* (Rodríguez 1987).

Las propiedades nematocidas de extractos de corteza como los obtenidos de arbusto del jabón (*Quillaja saponaria*) han sido ampliamente estudiadas; en un estudio realizado por Martinuz (2006), se compararon extractos de este con un producto comercial (Savitan®), elaborado a partir de extractos de plantas de origen desértico rico en ácidos grasos (palmítico, esteárico y oleico) y ácido salicílico, en donde ambos mostraron eficacia en el combate de *R. similis*.

La actividad nematocida de extractos vegetales se puede ver afectada por la presencia de compuestos tóxicos, microbianos, fuerza osmótica o alteraciones en el pH del agua utilizada para la preparación de las disoluciones, o simplemente a la eliminación de oxígeno en las éstas (Isunza *et al.* 2001).

La investigación sobre las características químico-estructurales y los mecanismos de acción de metabolitos, no sólo se puede utilizar para aplicaciones naturales de acción insecticida, sino que también pueden ser utilizados para el diseño molecular de insecticidas sintéticos, con el fin de que los extractos tengan una mayor persistencia y toxicidad en plagas específicas favoreciendo la fitosanidad, inocuidad y seguridad alimentaria (Park *et al.* 2002).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización

La recolección de las plantas, así como los procesos de extracción se realizaron en el Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San Carlos, en la Finca la Esmeralda y el Laboratorio de Química de la Escuela de Ciencias y Letras, ubicado en Santa Clara, San Carlos, provincia de Alajuela, a una altitud de 170msnm, con una temperatura media anual de 26°C. La precipitación pluvial media es de 3.500 mm

El análisis químico preliminar se realizó en el laboratorio 4 de Química Orgánica de la Universidad Autónoma de México (UNAM), ubicada en Cuautitlán Izcalli, estado de México a 19° 40' 50" latitud norte y 99° 12' 25" longitud oeste a a una altitud de 2.260 msnm, con temperaturas medias que van desde los 5°C a los 27,8°C, y una precipitación anual que oscila entre los 600 y 800 mm.

La fase de inoculación de nematodos y evaluación de su mortalidad se realizó en el Laboratorio de Nematología del Centro de Investigaciones Agrícolas La Rita, propiedad de la Corporación Bananera Nacional (CORBANA). Este centro se ubica en La Rita, Pococí, provincia de Limón, con una elevación media de 115 msnm; bajo las coordenadas 10°13' latitud norte y 83°45' longitud oeste, con temperaturas medias de 24 y 33°C y precipitación promedio de 2.100mm al año.

3.2 Manejo del experimento

3.2.1 Fase 1. Metodología de extracción

Se seleccionaron semillas de higuera (*Ricinus communis*), frutos maduros de pichichio (*Solanum mammosum*), hojas de madero negro (*Gliricidia sepium*) y hojas de hombre grande (*Quassia amara*), de lotes vacíos, cercas vivas y zonas de barbecho en la Finca La Esmeralda del Instituto Tecnológico de Costa Rica, sede Regional San Carlos, en Santa Clara.

El material vegetal se secó a temperatura ambiente, el cual se extendió sobre una bolsa plástica en un sitio seco y con ventilación suave. Posteriormente se molieron en un molino para pasto y se almacenaron en refrigeración en recipientes herméticos.

De la molienda obtenida se pesaron 250 g de la muestra en una balanza analítica PCE-LS 500 y se realizó una infusión en hexano (hex) en cantidades necesarias para que el líquido cubriera completamente el material vegetativo, se usaron 500 ml para las hojas molidas de madero negro y hombre grande y 300 ml para los frutos secos y molidos de pichichio e higuerrilla. Luego se almacenaron a temperatura ambiente durante 3 días.

Luego de este tiempo se realizó una filtración por algodón, para así obtener todo el líquido posible. El material remanente del filtrado se volvió a introducir al recipiente y se almacenó otros 3 días con las mismas cantidades de hexano, esto se repitió 3 veces. Luego se recolectaron los filtrados en un envase debidamente rotulado y se almacenó en refrigeración. El procedimiento se repitió para cada disolvente, acetato de etilo (ace) y metanol (met), respectivamente (Figura 8). El filtrado se colocó en un rotavapor Yamato Modelo BM 406 (destilación a presión reducida). La muestra obtenida se almacenó nuevamente para realizar las pruebas posteriores (Anexo A).



Figura 8. Proceso para la obtención de extractos, (A): Almacenamiento con Hex, ace. y met. (B): Filtrados recolectados y almacenados en refrigeración. (C): Destilación a presión reducida. Tomadas con cámara digital, Santa Clara, San Carlos (López 2010).

Con el fin de recoger el producto de la destilación a presión reducida se transfirió el producto de la siguiente manera:

- a) Se pesó el vial o frasco recolector, en donde se transfirió el extracto.
- b) Se adicionaron 2 ml del disolvente de extracción según el caso (Hex, ace. o Met) con movimientos rotativos para que el disolvente estuviera en contacto con toda la pared del balón.
- c) Se utilizó una pipeta volumétrica con pera, para sacar el líquido y colocarlo en el vial o frasco con tapa.
- d) Se repitieron los pasos a) y b) con otros 2 ml de disolvente, dos veces más.
- e) Se dejó abierto el envase recolector por unos 3 días con el fin de evaporar el disolvente utilizado para la transferencia.
- f) Se pesó el frasco para saber exactamente la masa del extracto.

Se realizaron disoluciones en agua al 5%

Al realizar el Experimento 1 se observó que cinco tratamientos (pichichio con metanol y acetato, madero negro con metanol y hombre grande con metanol y acetato) no se podían evaluar debido a la viscosidad y falta de traslucidez de los extractos diluidos, por lo cual mediante filtración al vacío y papel de filtro se logró que estas sustancias adquirieran las cualidades deseadas para poder ser evaluadas en el Experimento 2 (Figura 9).



Figura 9. Elaboración de disoluciones, (A): Material no evaluable de pichichio-metanol Experimento 1 (B): Filtrado por vacío. (C): Material evaluable pichichio-metanol Experimento 2. Tomadas con cámara digital, La Rita, Pococí (López 2010).

3.2.2 Fase 2. Análisis químico de caracterización

En el laboratorio de Química Orgánica de la Universidad Autónoma de México (UNAM), se analizaron los extractos vegetales de *Solanum mammosum*, *Gliricidia sepium*, *Ricinus communis* y *Quassia amara*, sobre cromatofolios de aluminio con precubierta de gel de sílice 60F254 Merck. Se emplearon cinco fases móviles distintas: C₄H₈O₂: C₆H₁₄ (50:50), C₄H₈O₂: C₆H₁₄ (40:60), C₄H₈O₂: C₆H₁₄ (30:70), C₄H₈O₂: C₆H₁₄ (20:80) y C₄H₈O₂: C₆H₁₄ (10:90). Para contabilizar los componentes del extracto, el revelado se realizó con yodo, luz ultravioleta 365 mm, y sulfato cérico.

Posteriormente para determinar la presencia de diversos compuestos orgánicos como flavonoides, coumarinas, sesquiterpenlactonas y alcaloides, se utilizaron sustancias reveladoras, para la determinación de flavonoides se utilizó una combinación de n-butanol + ácido acético + H₂O (6:1:2) y (4:1:5), para alcaloides se utilizó n-butanol + ácido acético + H₂O (10:2:1) y (4:1:1), para comprobar la presencia de coumarinas se utilizó HCCl₃ + metanol (9:1) y HCCl₃ + acetato de etilo. Para el caso de las sesquiterpenolactonas se utilizó éter + etílico HCCl₃ (1:4) y benceno + acetato de etilo (1:1) (Anexo B).

3.2.3 Fase 3. Comparación *in vitro* de extractos de plantas para el combate de *Radopholus similis* La Rita, Pococí 2010.

Se utilizaron soluciones en agua al 5% de cada uno de los extractos obtenidos de la fase anterior en comparación con un testigo absoluto en agua destilada y un testigo relativo de oxamyl (Vydate®) a 50 mg l⁻¹. Las celdas de cultivo utilizadas fueron de 1,5 cm de diámetro. En cada celda de la cámara se depositaron 2 ml de la solución a evaluar y luego, se trasladaron 10 individuos de *R. similis* aislados originalmente de banano y multiplicados en discos de zanahoria (metodología adaptada de Chitambar 2003 y Pinochet *et al.* 1990), con 10 repeticiones, dando como resultado 140 celdas evaluables (Figura 10), además se repitió el experimento en el tiempo.

La población inicial de nematodos fue de 200 individuos por tratamiento, 100 en el Experimento 1 y 100 en el Experimento 2, para una población total de 2800 nematodos. A las 24, 48, 72 de expuestos a la solución se determinó la mortalidad de los *R. similis*. (Anexo C).

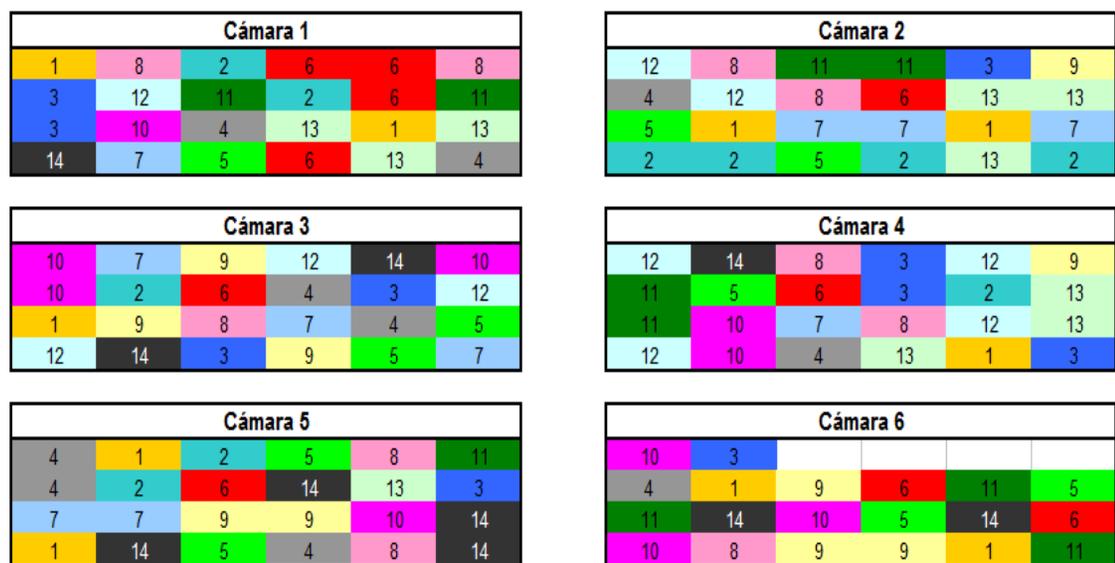


Figura 10. Área experimental y distribución aleatoria de tratamientos. La Rita, Pococí. 2010.

3.3 Tratamientos

Cuadro 1. Identificación de tratamientos, soluciones evaluadas y métodos de extracción utilizados
La Rita, Pococí. 2010

Tratamiento	Soluciones	Disolvente
1*	Agua destilada	-
2**	Oxamyl 50 mg l ⁻¹ en agua destilada.	-
3	Higuerilla (<i>R. communis</i>)	Acetato de etilo
4	Higuerilla (<i>R. communis</i>)	Metanol
5	Higuerilla (<i>R. communis</i>)	Hexano
6	Pichichio (<i>S. mammosum</i>)	Acetato de etilo
7	Pichichio (<i>S. mammosum</i>)	Metanol
8	Pichichio (<i>S. mammosum</i>)	Hexano
9	Madero negro (<i>G. sepium</i>)	Acetato de etilo
10	Madero negro (<i>G. sepium</i>)	Metanol
11	Madero negro (<i>G. sepium</i>)	Hexano
12	Hombre grande (<i>Q. amara</i>)	Acetato de etilo
13	Hombre grande (<i>Q. amara</i>)	Metanol
14	Hombre grande (<i>Q. amara</i>)	Hexano

* Testigo absoluto. ** Testigo relativo a partir de la formulación Oxamilo (Methyl N'N'-dymethyl-N-(methylcarbamoil)-oxi)-1-thiooxamidato, del producto comercial Vydate ®.

3.4 Modelo estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el siguiente modelo completamente al azar:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable dependiente (observación).

μ = Media de la población de nematodos.

T_i = Efecto de la i-ésimo tratamiento.

ϵ_{ij} = Error Experimental

En ambos experimentos los datos de número de individuos de *R. similis* vivos a las 24, 48 y 72 horas, por ser de naturaleza binomial, se sometieron, por aparte, a un análisis de regresión logística. En el primer experimento no se tuvo la

estructura factorial completa, por lo que no se compararon los agentes extractores dentro de cada planta. En el segundo experimento el conjunto de datos si fue completo, por lo que los tratamientos tuvieron una estructura factorial de 4 plantas (higuerilla, pichichio, madero negro y hombre grande) por 3 extractores (hexano acetato y metanol), la cual se consideró en el análisis.

Los datos se procesaron usando el Proc Genmod del paquete estadístico SAS, versión 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Para determinar la media de mortalidad y calcular los límites inferiores y superiores de cada tratamiento se utilizó la siguiente fórmula en el programa del paquete de Office de Microsoft Windows, Excel.

$$100 - 100(e^x / (1 + e^x))$$

Donde x = estimado de sobrevivencia dado por el programa SAS.

3.5 Variables evaluadas

- Mortalidad *in vitro* de *R. similis*.

3.6 Metodología de medición de las variables

En condiciones de laboratorio con la ayuda de un microscopio y aumento de 40X se contaron los nematodos. Con el número de *R. similis* muertos se calculó el porcentaje de mortalidad. Cuando la naturaleza de las sustancias impidió su evaluación se determinó la mortalidad de *R. similis*, mediante un análisis destructivo al finalizar el tiempo de evaluación (72 horas luego de la inoculación). Se filtraron los nematodos de cada celda en una criba de 365 mesh. Posteriormente se trasladaron a beakers de 50ml de capacidad con 20 ml de agua destilada, a los cuales se les aplicó oxígeno por tres horas mediante el uso de un burbujeador. Luego se evaluaron los nematodos en siracusas, mediante el uso de microscopio y un implemento constituido por una hebra fina de brocha incrustada en un trozo de bambú semejante a un pincel para estimular en forma táctil cada nematodo y así determinar si se encontraba muerto.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Determinación de compuestos orgánicos con efecto biocida

El análisis químico de los órganos de cada una de las plantas seleccionadas para la obtención de los extractos, indicó la presencia de variados compuestos orgánicos con efecto biocida.

Cuadro 2. Determinación de alcaloides, coumarinas, flavonoides y sesquiterpenlactonas de los extractos evaluados. Cuautitlán, México. 2010.

Planta	Disolvente	Compuestos orgánicos			
		Alcaloides	Coumarinas	Flavonoides	Sesquiterpen- lactonas
Higuerilla	Acetato			X	
	Metanol			X	
	Hexano				
Pichichio	Acetato	X		X	X
	Metanol		X	X	X
	Hexano	X	X		X
Madero negro	Acetato	X		X	X
	Metanol	X	X	X	X
	Hexano	X	X		X
Hombre grande*	Hexano	X	X		X

* No se determinaron los componentes de los extractos metanólicos y acéticos de hombre grande, debido a la falta de disponibilidad de los mismos.

El efecto de los extractos de plantas sobre la mortalidad de insectos y nematodos ha sido ampliamente estudiado, y se atribuye a los metabolitos secundarios como alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles y taninos (Coats 1994).

La higuera presenta la mayoría de los compuestos orgánicos considerados como biocidas en las semillas y en las hojas (Chaves 2008). Al respecto, Rodríguez (2000) encontró en hojas y frutos toxoalbúminas, terpenos, flavonoides y coumarinas estos dos últimos determinados también en este estudio de los frutos maduros junto con las semillas de dicha planta.

El pichichío presenta compuestos orgánicos con efecto biocida como saponinas, terpenos, coumarinas, flavonoides y sesquiterpenlactonas en sus frutos maduros (Alzérreca *et al.* 1981), estos tres últimos también presentes en las determinaciones realizadas en el presente estudio.

El madero negro contiene componentes orgánicos con función biocida tales como coumarinas, flavonoides y alcaloides (Jurd 1976, Rodríguez 2000), todos ellos determinados también en este estudio.

El hombre grande posee de acuerdo con Ocampo (1994), Salas (1981) y Roselló (2009) un compuesto orgánico con efecto biocida que está incluido dentro del grupo de los terpenos como una lactona y denominado cuasina, la cual también se encontró en el presente estudio.

4.2 Evaluación de extractos sobre *R. similis*

En la evaluación de la mortalidad producida por los 14 tratamientos, de los cuales 12 correspondían a extractos de cuatro diferentes especies de plantas, se obtuvieron efectos varios, los que pueden observarse a través del tiempo, en dos experimentos separados por una semana, en donde se realizaron observaciones a las 24, 48 y 72 horas luego de inoculados (población inicial total fue de 2800 individuos) en el producto específico. Como se mencionó anteriormente, en el Experimento 1 debido a la naturaleza de las sustancias no fue posible evaluar todos los tratamientos, en todos los tiempos de exposición, por lo cual se obtienen resultados estadísticos completos solamente en el Experimento 2.

En el primer intervalo 24 horas después de la inoculación, del Experimento 1, los testigos absoluto y relativo no difirieron entre sí ($P = 0,444$). Sin embargo hubo diferencias entre ambos a las 48 y 72 horas después de la inoculación, ($P=0,0005$ y $P=0,0001$, respectivamente). En ambos casos el mayor porcentaje de mortalidad se obtuvo con el testigo relativo (oxamyl, 50 mg l^{-1}). En el Experimento 2, el porcentaje de mortalidad difirió tanto a las 24 como a las 48 y 72 horas ($P<0,0485$). No obstante, luego de la última evaluación al oxigenar en agua los nematodos procedentes del testigo relativo, se determinó un porcentaje de recuperación de movilidad del 36 y 48%, de 100 individuos en cada caso, en los Experimentos 1 y 2 respectivamente (Cuadro 3).

Lo anterior concuerda con Bunt (1975) citando a varios autores, quienes encontraron que el ingrediente activo de productos nematicidas con acción sistémica en la planta como el antes citado, no afecta la supervivencia de los nematodos bajo condiciones *in vitro*. Tiempos de exposición al oxamyl (1000 mg l^{-1}) de hasta 3 semanas no han causado mortalidad en los nematodos y más bien, los individuos tratados recobraron el movimiento al ser transferidos en agua. Por tal motivo no se consideró en el presente estudio el uso del testigo relativo (Vydate[®], 50 mg l^{-1}), como parte de los datos presentados del experimento.

Cuadro 3 Probabilidades de las comparaciones de extractos de las plantas con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R.similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1 y 2. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Experimento	Tiempos de exposición (horas)		
		24	48	72
TA vs TR	1	0,4443	0,0005	0,0001
TA vs TR	2	0,0238	0,0485	0,0001

TA : Testigo absoluto. TR: Testigo relativo.

4.2.1 Higuierilla (*R. communis*)

En el primer intervalo 24 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con los extractos a partir de acetato (31%) y metanol (25%) (Figura 11), los cuales no difirieron entre ellos ($P=0,4908$) pero si del extracto a partir de hexano ($P>0,0574$) y del testigo ($P>0,0101$) quienes fueron similares entre sí ($P = 0,3307$) (Cuadro 4).

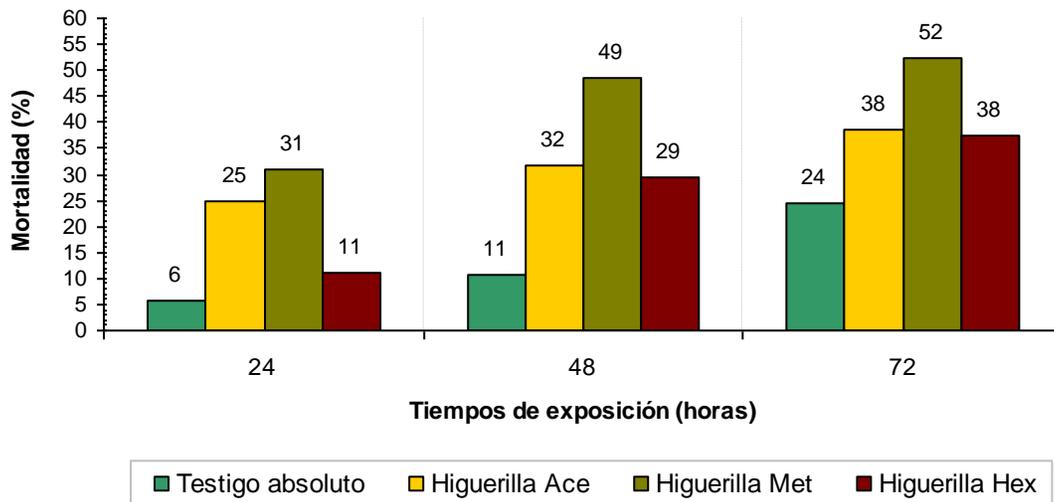


Figura 11. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, bajo tres extractos de higuierilla (*R. communis*), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

En el segundo intervalo, 48 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue mostrado por el extracto a partir de metanol (49%) quien difirió de los extractos a partir de acetato de etilo ($P=0,0039$) y hexano ($P=0,0172$) quienes alcanzaron un 32 y un 29% de mortalidad respectivamente, sin diferir entre sí ($P=0,7557$). Todos los extractos fueron superiores al testigo ($P>0,0033$).

En el tercer intervalo, 72 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con el extracto a partir de metanol (52%) quien difirió del testigo ($P=0,0012$) pero no del acetato (32%; $P=0,1103$) ni del

hexano (38%; $P=0,0862$) con respecto a la mortalidad del nematodo (Figura 11, Cuadro 4).

Cuadro 4. Probabilidades de las comparaciones entre extractos de higuierilla (*R. communis*) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R.similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Tiempos de exposición (horas)		
	24	48	72
Testigo vs. Acetato	0,0101	0,0033	0,0836
Testigo vs. Metanol	0,0021	0,0001	0,0012
Testigo vs Hexano	0,3307	0,0007	0,0988
Acetato vs. Metanol	0,4908	0,0399	0,1103
Acetato vs. Hexano	0,0574	0,7557	0,9197
Metanol vs. Hexano	0,0116	0,0172	0,0862

En el Experimento 2, 24 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido por los extractos a partir de metanol (28%) y hexano (19%) los cuales no difirieron entre ellos ($P=0,2457$) ni del extracto a partir de acetato ($P > 0,1759$), pero si del testigo ($P>0,0222$). (Figura 12, Cuadro 5).

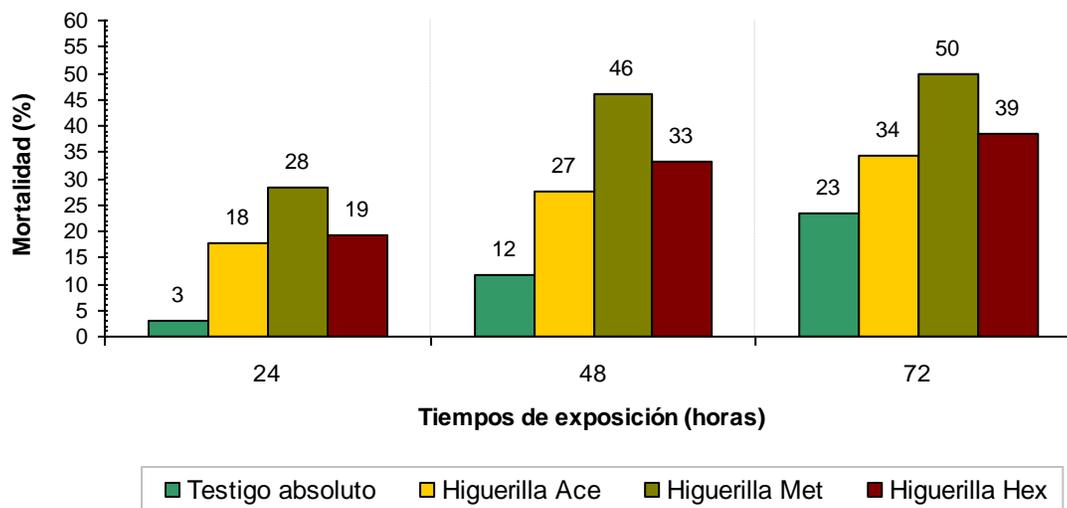


Figura 12. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, bajo tres extractos de higuierilla (*R. communis*), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

En el segundo intervalo, 48 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue mostrado por el extracto a partir de metanol (46%) quien difirió de los extractos a partir de acetato ($P=0,036$) no así de los de hexano ($P=0,1385$). Estos dos últimos alcanzaron un 27 y un 33% de mortalidad respectivamente, sin diferir entre sí ($P=0,5001$). Todos los extractos fueron superiores al testigo ($P>0,033$).

En el tercer intervalo, 72 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con el extracto a partir de metanol (50%) quien difirió del testigo ($P=0,0012$) y del hexano (34%; $P\leq 0,0001$) pero no del acetato (39%; $P=0,061$) (Figura 12, Cuadro 5).

Cuadro 5 Probabilidades de las comparaciones entre extractos de higuera (*R. communis*) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R.similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Tiempos de exposición (horas)		
	24	48	72
Testigo vs. Acetato	0,0222	0,033	0,1504
Testigo vs. Metanol	0,0021	<0,001	0,0012
Testigo vs Hexano	0,0148	0,0061	0,0488
Acetato vs. Metanol	0,1759	0,036	0,061
Acetato vs. Hexano	0,8214	0,5001	0,5978
Metanol vs. Hexano	0,2457	0,1385	<0,0001

Huerta y Chiffelle (2005) indicaron que el terpenol, extraído mediante disolventes polares, de las semillas de higuera, posee efectos nematocidas, pero no fueron probados estos en condiciones *in vitro*. Por otro lado se puede comparar este tipo de compuestos con los extraídos del árbol de *M. azedarach* en donde los terpenos (entre estos el terpenol) actúan mediante la inhibición de la alimentación y elevan la mortalidad de insectos en el campo. Cháves (2008), utilizó secciones de higuera y realizó extractos alcohólicos de la misma, obteniendo altas mortalidades en insectos considerados plagas domésticas.

Adegbite y Adesiyani (2005), al estudiar en condiciones *in vitro* extractos de raíces de higuera (*R. communis*), en *Meloidogyne incognita* procedentes de raíces de soja, determinaron que la mortalidad de los huevos expuestos al extracto fue de 93.2% y de 62.1% sobre adultos luego de 12 horas de aplicación, siendo un menor lapso de tiempo que el evaluado en este estudio.

La diferencia entre el testigo y todos los extractos de higuera, permite inferir que esta planta posee propiedades nematocidas independientemente del disolvente utilizado, por lo tanto los extractos se pueden considerar promisorios para el control de *R. similis*, en condiciones similares a las del experimento.

4.2.2 Pichichio (*S. mammosum*)

Las evaluaciones a partir de hexano, 24 y 72 horas posteriores a la inoculación no presentan diferencias con el testigo ($P=0,1608$ y $P=0,7103$), como si lo hace 48 horas posteriores a la inoculación ($P=0,0637$) (Figura 13, Cuadro 6).

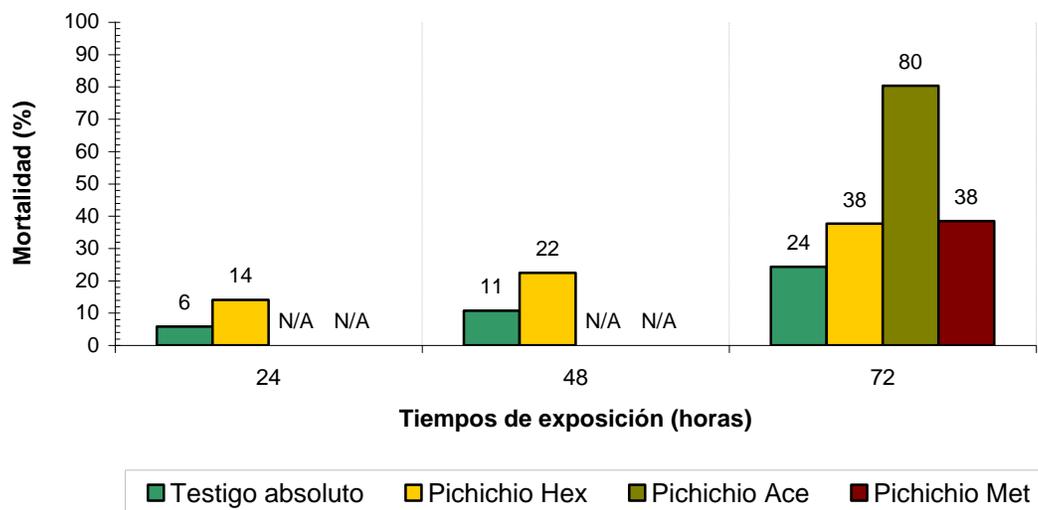


Figura 13. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, bajo tres extractos de pichichio (*S. mammosum*), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

Cuadro 6 Probabilidades de las comparaciones entre extractos de pichichio (*S. mammosum*) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R. similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Tiempos de exposición (horas)		
	24	48	72
Testigo vs. Acetato	-*	-	-
Testigo vs. Metanol	-	-	-
Testigo vs Hexano	0,1608	0,0637	0,7103
Acetato vs. Metanol	-	-	-
Acetato vs. Hexano	-	-	-
Metanol vs. Hexano	-	-	-

* Datos faltantes, debido a la imposibilidad de evaluación, explicada en Materiales y Métodos.

En el Experimento 2, en el primer intervalo 24 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con los extractos a partir de acetato (51%), este difirió del testigo ($P=0,0002$) no así los extractos a partir de metanol y hexano ($P>0,4029$), el acetato fue también diferente al contrastarlo con los otros disolventes utilizados ($P<0,0101$) (Figura 14, Cuadro 7).

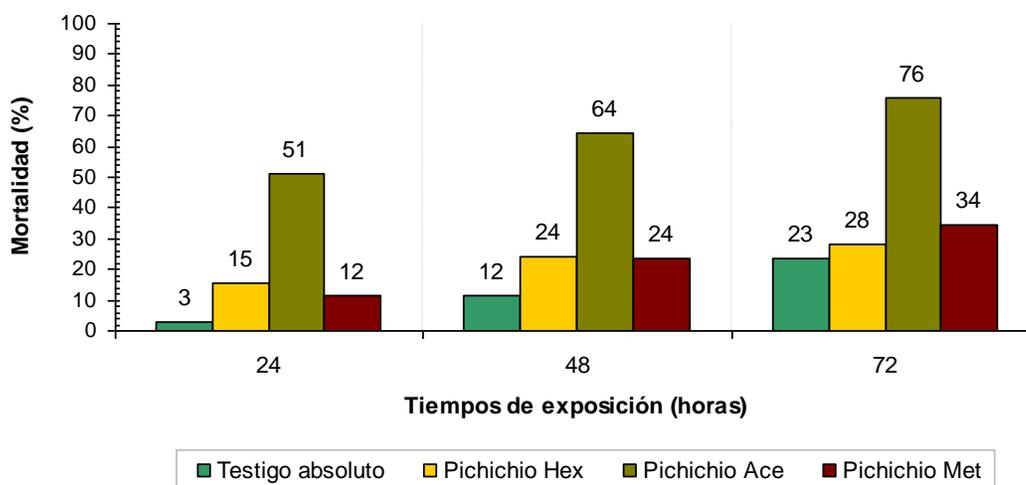


Figura 14. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, bajo tres extractos de pichichio (*S. mammosum*), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

En el segundo intervalo, 48 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue mostrado por el extracto a partir de acetato (64%) quien difirió de los extractos a partir de metanol ($P=0,0146$) y hexano ($P=0,0002$) quienes alcanzaron un 24% de mortalidad, sin diferir entre sí ($P=0,3548$). Solamente el extracto a partir de acetato difirió del testigo ($P<0,0101$) (Cuadro 7).

En el tercer intervalo, 72 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con el extracto a partir de acetato (76%) quien difirió del testigo ($P<0,001$) y del hexano (28%, $P=0,0019$) pero no del metanol (34%, $P=0,1971$) con respecto a la mortalidad del nematodo (Figura 14, Cuadro 6). De lo anterior se infiere que el acetato de etilo es el mejor disolvente para la extracción de compuestos nematocidas de *Solanum mammosum* (Figura 14, Cuadro 7).

Cuadro 7 Probabilidades de las comparaciones entre extractos de pichichio (*S. mammosum*) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R.similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Tiempos de exposición (horas)		
	24	48	72
Testigo vs. Acetato	0,0002	<.0001	<.0001
Testigo vs. Metanol	0,4029	0,0922	0,1504
Testigo vs Hexano	0,7682	0,0712	0,5212
Acetato vs. Metanol	<.0001	0,0146	0,1971
Acetato vs. Hexano	<.0001	0,0002	0,0019
Metanol vs. Hexano	0,0006	0,3548	0,8663

El acetato de etilo, debido a su polaridad, logró en el presente experimento extraer alcaloides y otras sustancias que actuaron como biocidas sobre *R.similis* en condiciones *in vitro*. Alzérreca *et al.* (1981), lograron aislar el alcaloide solasodina, al realizar extractos acuosos de pichichio, y utilizar este como un insecticida y molusquicida efectivo.

El pichichio (*S. mammosum*), según Hernández *et al.* (1997), posee actividad nematocida, atribuida a la presencia de glicoalcaloides esferoidales, lo

cual fue comprobado mediante el análisis fotoquímico preliminar (Cuadro 2), sin embargo el potencial biocida se ve limitado por la concentración del alcaloide en el extracto evaluado.

4.2.3 Madero negro (*G. sepium*)

Los extractos a partir de hexano y acetato en el primer intervalo 24 horas después de la inoculación, mostraron los mayores porcentajes de mortalidad (19%) y (17%) y no difirieron entre ellos ($P=0,1942$).

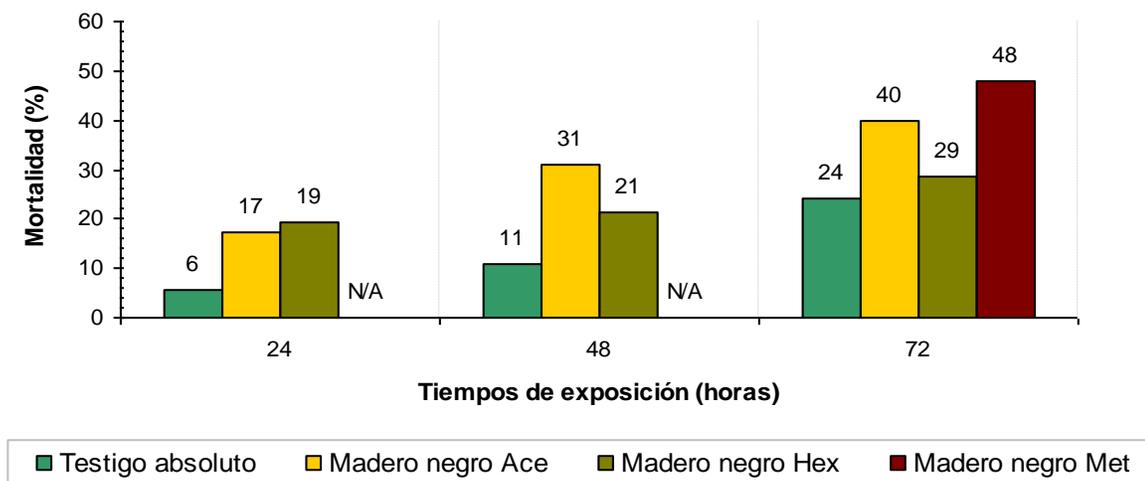


Figura 15. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, bajo tres extractos de madero negro (*G. sepium*), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

En el segundo intervalo, 48 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue mostrado por el extracto a partir de acetato (31%) quien difirió del extracto a partir de hexano ($P=0,0022$), el primero es superior al testigo ($P<0,004$), no así el de hexano (0,088).

En el tercer intervalo, 72 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con el extracto a partir de metanol (40%) que difirió levemente del testigo ($P=0,0541$) pero no del hexano (29%, $P=0,5642$) (Figura 15, Cuadro 8).

Cuadro 8 Probabilidades de las comparaciones entre extractos de madero negro (*G. sepium*) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R. similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Tiempos de exposición (horas)		
	24	48	72
Testigo vs. Acetato	0,0702	0,004	0,0541
Testigo vs. Metanol	-	-	-
Testigo vs Hexano	0,0408	0,088	0,5642
Acetato vs. Metanol	0,1942	0,0022	0,0933
Acetato vs. Hexano	-	-	-
Metanol vs. Hexano	-	-	-

En el Experimento 2 (Figura 16), se obtuvo un comportamiento similar, al obtenido a las 24 y 48 horas del Experimento 1 (Figura 15), respecto a los tratamientos en los que se utilizaron hexano y acetato de etilo. En el primer intervalo 24 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con los extractos a partir de acetato (20%) y metanol (33%) los cuales difirieron entre ellos ($P < 0,0001$) así como del extracto a partir de hexano ($P < 0,0399$). Todos excepto el extracto a partir de hexano difieren del testigo ($P = 0,0132$, $P = 0,0008$ y $P = 0,1543$), acetato, metanol y hexano respectivamente (Figura 16, Cuadro 9).

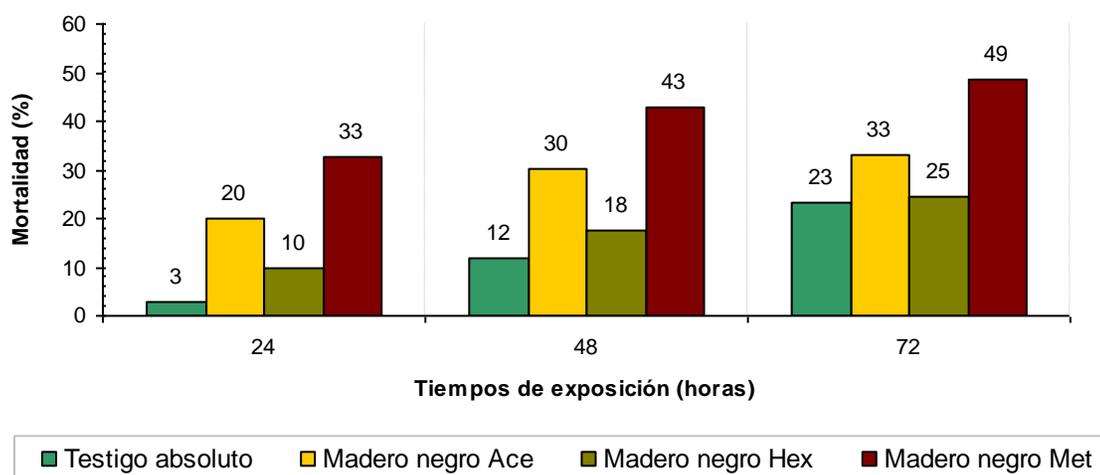


Figura 16. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, bajo tres extractos de madero negro (*G. sepium*), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

En el segundo intervalo 48 horas después de la inoculación, (Figura 16, Cuadro 9), el mayor porcentaje de mortalidad fue mostrado por el extracto a partir de metanol (43%) quien no difirió de los extractos a partir de acetato ($P=0,999$) y hexano ($P=0,0887$) quienes alcanzaron un 30 y un 18% de mortalidad respectivamente, difiriendo entre sí ($P<0,0001$). Los extractos realizados a partir de acetato y metanol son superiores al testigo ($P=0,0146$ y $P=0,0002$), no así el de hexano ($P=0,3548$).

En el tercer intervalo, 72 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con el extracto a partir de metanol (49%) quien difirió del testigo ($P=0,0019$) pero no del acetato (33%, $P=0,99$) ni del hexano (25%, $P=0,1015$) con respecto a la mortalidad del nematodo (Figura 16, Cuadro 9).

Cuadro 9 Probabilidades de las comparaciones entre extractos de madero negro (*G. sepium*) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R. similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Tiempos de exposición (horas)		
	24	48	72
Testigo vs. Acetato	0,0132	0,0146	0,1971
Testigo vs. Metanol	0,0008	0,0002	0,0019
Testigo vs Hexano	0,1543	0,3548	0,8663
Acetato vs. Metanol	<0,0001	0,9995	0,9995
Acetato vs. Hexano	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Metanol vs. Hexano	0,0399	0,0887	0,1015

No se puede afirmar que existe un disolvente superior a todos en esta planta, debido a la similitud entre los valores de mortalidad de los tratamientos con metanol y acetato de etilo.

Según el análisis químico descrito por Rodríguez (2000), coincidente con las pruebas químicas preliminares realizadas, esta planta contiene alcaloides, taninos, saponinas, esteroides insaturados, flavonoides y polifenoles, en sus hojas; utilizados por sus efectos nematocidas. Roselló (2009), comprobó la efectividad de

los metabolitos extraídos del madero negro, sobre la mortalidad de *Meloidogyne incognita* en condiciones *in vitro*, utilizando un extracto acuoso de las hojas de *Gliricidia sepium* al 10%.

Rodríguez (1987) comprobó que la sustancia extraída de las hojas de madero negro (*G. sepium*), es altamente efectiva contra áfidos, pulgas y otras plagas domésticas, especialmente contra el pulgón *Mysus Persicae*, en donde Rodríguez (2000) obtuvo un 100% de mortalidad para extractos alcohólicos de la planta, estos efectos biocidas, con altas mortalidades en insectos podrían establecer una base para ser usados contra nematodos.

4.2.4 Hombre grande (*Q. amara*)

En el primer intervalo 24 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con los extractos a partir de hexano (13%), este no difiere del testigo ($P=0,1948$).

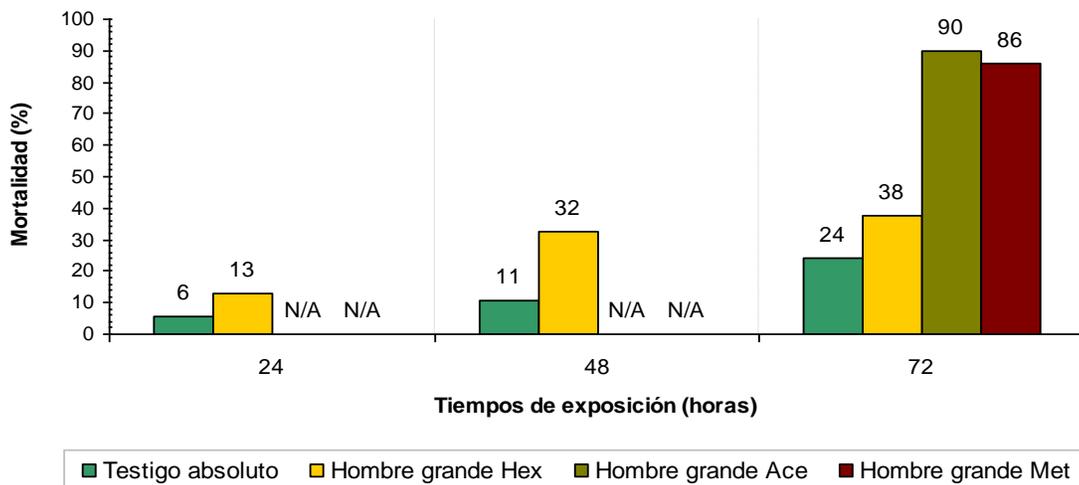


Figura 17. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, bajo tres extractos de hombre grande (*Q. amara*), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

En el segundo intervalo, 48 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue nuevamente mostrado por el extracto a partir de hexano (32%) quien no difirió del testigo ($P=0,5406$).

En el tercer intervalo, 72 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con los extractos a partir de acetato (90%) y metanol (86%) (Figura 17, Cuadro 10).

Cuadro 10. Probabilidades de las comparaciones entre extractos de hombre grande (*Q. amara*) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R.similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Tiempos de exposición (horas)		
	24	48	72
Testigo vs. Acetato	-	-	-
Testigo vs. Metanol	-	-	-
Testigo vs Hexano	0,1942	0,5406	0,0933
Acetato vs. Metanol	-	-	-
Acetato vs. Hexano	-	-	-
Metanol vs. Hexano	-	-	-

En el Experimento 2 (Figura 18), es claro que los extractos que presentaron mayor mortalidad de *R. simillis* en todos los intervalos de evaluación fueron los realizados a partir de acetato y metanol. En el primer intervalo 24 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con los extractos a partir de acetato (91%) y metanol (88%) los cuales no difirieron entre ellos ($P=0,9619$) pero si del extracto a partir de hexano ($P<0,001$). Todos los extractos difieren del testigo ($P=0,0001$, $P=0,0001$ y $P=0,0399$), acetato, metanol y hexano respectivamente (Figura 18, Cuadro 11)

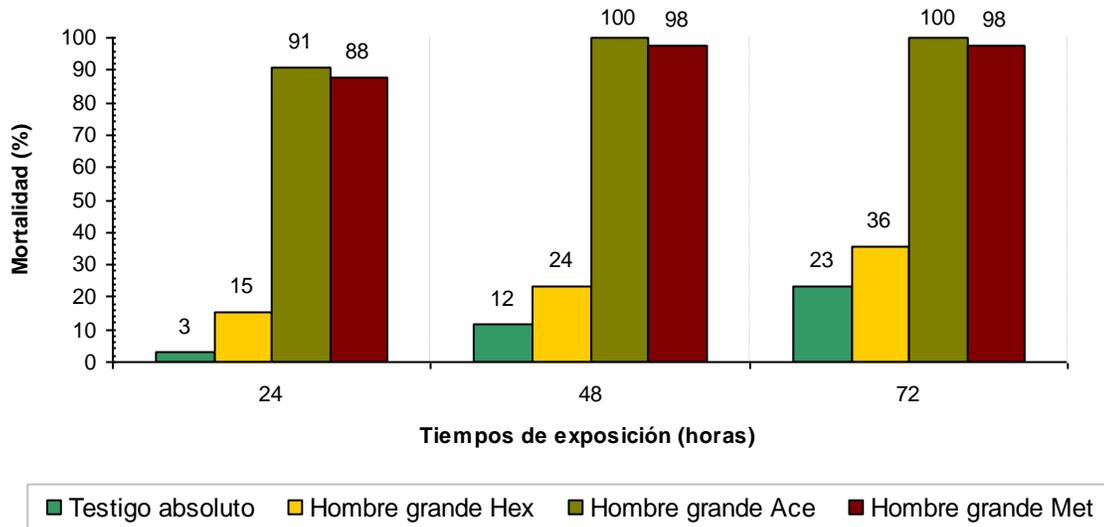


Figura 18. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, bajo tres extractos de hombre grande (*Q. amara*), 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

En el segundo intervalo, 48 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue mostrado por el extracto a partir de acetato (100%) quien no difirió de los extractos a partir de metanol ($P=0,8531$) pero si de los de hexano ($P=0,0225$) quienes alcanzaron un 98 y un 24% de mortalidad respectivamente, difiriendo entre sí ($P=0,0301$). Los extractos realizados a partir de acetato y metanol son superiores al testigo ($P<0,0001$), no así el de hexano ($P=0,0887$).

En el tercer intervalo, 72 horas después de la inoculación, el mayor porcentaje de mortalidad fue obtenido con el extracto a partir de acetato (100%) quien difirió del testigo ($P<0,0001$) y del extracto hexánico (36%, $P<0,0001$), pero no del metanol (98%, $P=0,790$) (Figura 11, Cuadro 9).

Cuadro 11 Probabilidades de las comparaciones entre extractos de hombre grande (*Q. amara*) obtenidos con diferentes disolventes sobre la mortalidad (%) de *R.similis* 24, 48 y 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Tiempos de exposición (horas)		
	24	48	72
Testigo vs. Acetato	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Testigo vs. Metanol	<0,0001	<0,001	<0,0001
Testigo vs Hexano	0,0399	0,0887	0,1015
Acetato vs. Metanol	0,9619	0,8531	0,790
Acetato vs. Hexano	<0,001	0,0225	<0,0001
Metanol vs. Hexano	<0,001	0,0301	0,0283

Según el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (1994), la actividad de *Quassia amara* ha sido probada desde 1884, para el control de áfidos y mariposas, obteniendo resultados positivos, además cita que no afecta insectos benéficos como abejas y mariquitas.

La mortalidad presentada por estos tratamientos puede deberse además a la lactona presente en sus hojas, la cuasina, compuesto activo contra ácaros y nematodos (Rodríguez 2000, Ocampo 1994, Salas 1981, Roselló 2009), el modo de acción de los extractos de *Q. amara*, es por contacto y por digestión, por lo que el tiempo de exposición es fundamental en la efectividad de éste. Rodríguez (1987) evaluó extractos acuosos de esta planta contra diversas plagas donde encontró altas mortalidades sobre áfidos y nematodos, similares a los obtenidos en el experimento.

Las plantas de hombre grande e higuierilla difieren entre sí ($P < 0,0001$), así como el hombre grande y madero negro ($P < 0,0001$) además el hombre grande y el pichichio ($P < 0,0001$), al considerar estos resultados se puede inferir que la planta que produce mayor mortalidad de *R.similis* en condiciones *in vitro* es el hombre grande (*Quassia amara*), para todos los tiempos de evaluación (Anexo C). Por otro lado el madero negro (*Gliricidia sepium*) difiere del pichichio (*S. mammosum*), obteniendo valores de $P = 0,0203$.

Se puede atribuir la actividad nematocida presentada en el ensayo, a los alcaloides y sesquiterpenlactonas presentes en las plantas evaluadas. No se puede determinar que la mortalidad se deba solamente a este tipo de compuesto sino también a la interacción de otros elementos, a la actividad sinérgica de coumarinas y flavonoides, también presentes en los extractos, lo cual coincide con Pascual, que al realizar su investigación en repelencia e inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales sobre larvas de *Tribolium castaneum*, en 1998, comprobó esta interacción. Según Isunza *et al.* (2001) la actividad nematocida de extractos vegetales puede verse afectada por la presencia de compuestos tóxicos, microbianos, fuerza osmótica o alteraciones en el pH del agua utilizada para la preparación de las disoluciones, o simplemente a la eliminación de oxígeno en estos, lo cual se debe tomar en cuenta si se desea repetir este ensayo.

2.5 Disolventes

Algunas de las consideraciones generales de ambos experimentos pueden ser analizadas, mediante las Figuras 19 y 20, en donde se observan los datos finales de mortalidad de *R. similis* al concluir el periodo de evaluación, para todos los tratamientos.

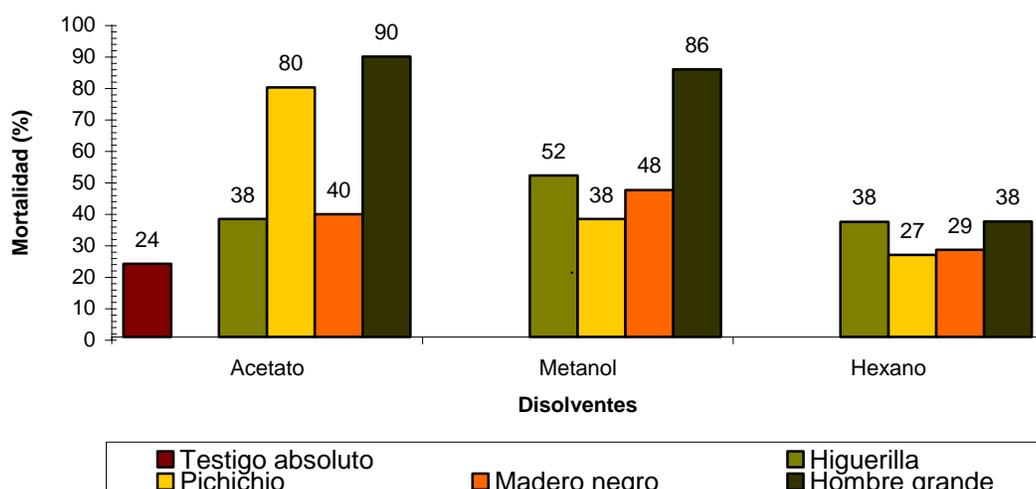


Figura 19. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, según tratamientos utilizados, concluido el tiempo de evaluación. Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

En el Experimento 1, se obtuvo un importante incremento de la mortalidad de los nematodos en el testigo, que llegó a alcanzar el 24%, demostrando con esto lo citado por Bridge *et al.* (1997), al establecer que la falta de oxígeno puede presentar mortalidad en los nematodos si se exponen a condiciones anaeróbicas por periodos de tiempo prolongados. A pesar de esta condición, las diferencias mostradas por los tratamientos al compararlos con el testigo, fueron significativas para todos los tratamientos ($P \leq 0,05$), exceptuando el tratamiento de pichichio con metanol ($P=0,0927$) y madero negro extraído con hexano ($P=0,1543$).

Los disolventes acetato y hexano difieren entre sí ($P=0,001$), en donde el acetato presentó los valores más altos de mortalidad lo que sugiere que en los extractos acéticos están presentes compuestos orgánicos que ejercen algún efecto promisorio para el control de *R.similis*. No así de los extractos obtenidos mediante metanol ($P=0,99$), similitud que puede observarse en la Figura 20.

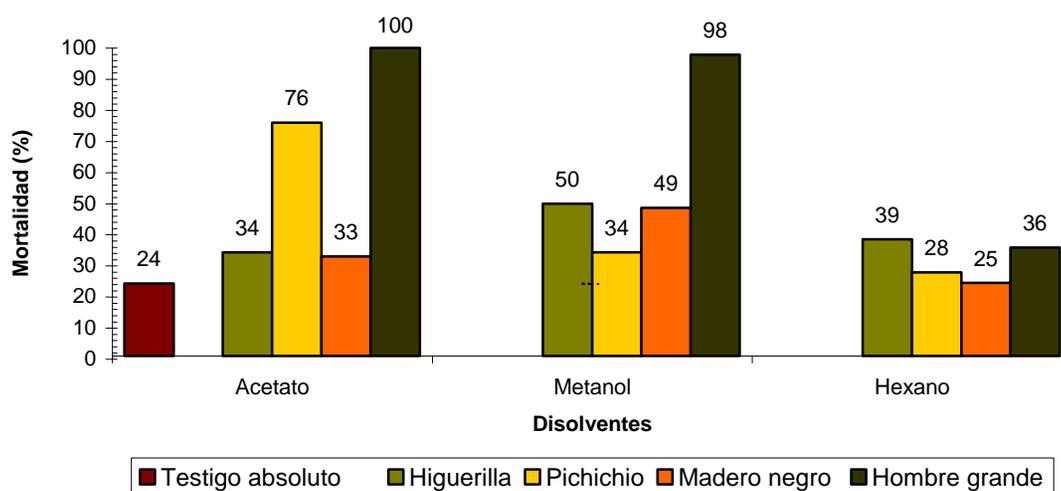


Figura 20. Porcentaje de mortalidad de *R. similis*, según tratamientos utilizados, concluido el tiempo de evaluación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

Harbone (1993), determinó que los flavonoides tienden a ser menos polares y requieren disolventes menos polares para su extracción, tales como éter, acetato de etilo y diclorometano, el acetato de etilo presenta una polaridad media, y el

metanol una muy alta polaridad, por lo cual se infiere que las sustancias biocidas presentes en las plantas son probablemente mejor extraídas con este solvente.

Cuadro 12 Probabilidades de los contrastes entre disolventes sobre la mortalidad (%) de *R.similis* 72 horas después de la inoculación. Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

Contrastes	Probabilidad
Acetato vs Hexano	0,001
Acetato vs. Metanol	0,9996
Hexano vs Metanol	<0,0001

Otro ensayo posterior (2003) realizado por Morimoto y colaboradores, demostró que las flavonas, al ser extraídas con metanol incrementaron en más de un 100% su actividad insecticida, respecto a las mismas extraídas con agua; esto atribuido a que el metanol es menos polar que el agua, pero también debido a que es poco selectivo en cuanto a la extracción de compuestos orgánicos.

Como se mencionó anteriormente, independientemente de la naturaleza de los compuestos presentes en las plantas, los disolventes orgánicos deben tener baja solubilidad en agua y alta capacidad de solvatación hacia la sustancia que se va a extraer, según Bates y Schaefer (1977); es por esto y debido a la diversidad entre los componentes de las plantas, que no se puede determinar realmente cual es el disolvente con mayor poder de extracción.

5. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones que se presentaron en el desarrollo de este estudio se concluye que:

1. Se extrajeron con diferentes disolventes (acetato, metanol y hexano) compuestos orgánicos con efecto biocida de semillas de higuera (*Ricinus communis*), frutos maduros de pichichio (*Solanum mammosum*), hojas de madero negro (*Gliricidia sepium*) y hojas de hombre grande (*Quassia amara*).
2. En la higuera, los compuestos principales con efecto biocida extraídos fueron flavonoides y coumarinas.
3. En el pichichio, los compuestos principales con efecto biocida extraídos fueron coumarinas, flavonoides y sesquiterpenlactonas.
4. En el madero negro los compuestos principales con efecto biocida extraídos fueron coumarinas, flavonoides, y alcaloides.
5. En el hombre grande los compuestos principales con efecto biocida extraídos fueron coumarinas, alcaloides y lactonas.
6. En la higuera (*Ricinus communis*), el uso de metanol y hexano como disolventes presentó mayor mortalidad de *R. similis*, en comparación con el testigo, para todos los intervalos de evaluación. El extracto a partir de acetato de etilo fue similar al testigo 24 y 48 horas después de la inoculación y diferente de éste 72 horas después.
7. No se encontraron diferencias entre los disolventes utilizados para la extracción de los compuestos de higuera.

8. En el pichichio (*S. mammosum*), el uso de hexano como disolvente, presentó diferencias de poca magnitud con el testigo en la mortalidad de *R. similis*, en los dos primeros intervalos de evaluación (24 y 48 horas).
9. El uso de metanol como disolvente para compuestos de pichichio presentó baja mortalidad de *R. similis* con relación al testigo, en todos los intervalos de evaluación (24, 48 y 72 horas).
10. El acetato de etilo, fue el disolvente con mayor potencial de extracción para compuestos nematocidas de pichichio causando una alta mortalidad en todos los intervalos de evaluación, de hasta un 76%.
11. En el madero negro (*G. sepium*) el uso de hexano como disolvente presentó un porcentaje similar de mortalidad de *R. similis* al testigo; en todos los intervalos de evaluación.
12. Los componentes biocidas de madero negro extraídos con acetato de etilo mostraron un mayor porcentaje de mortalidad de *R. similis* con relación al testigo en todos los intervalos de evaluación.
13. El uso de metanol como disolvente para compuestos de madero negro presentó los mayores porcentajes de mortalidad de *R. similis* con relación al testigo y a los demás disolventes; en todos los intervalos de evaluación.
14. No se encontraron diferencias entre los disolventes utilizados para la extracción de los compuestos de madero negro.
15. En el hombre grande (*Q. amara*), los compuestos extraídos fueron los más efectivos en el control de *R. similis*. Todos los extractos presentaron un mayor porcentaje de mortalidad de *R. similis* en comparación con el testigo en todos los intervalos de evaluación.

16. Los extractos acéticos y metanólicos presentaron mortalidades de 91% y 88% respectivamente, manteniendo su efecto en todos los intervalos de evaluación (24, 48 y 72 horas).
17. El hombre grande fue la planta con la que se obtuvieron los porcentajes más altos de mortalidad de *Radopholus similis*, en comparación con las restantes plantas.
18. El acetato de etilo fue el disolvente con el que se obtuvieron los porcentajes más altos de mortalidad de *Radopholus similis*, en comparación con los restantes disolventes.

6. RECOMENDACIONES

1. Determinar para cada uno de los compuestos orgánicos la molécula específica que podría tener potencial nematocida.
2. Determinar las dosis letales (DL₅₀) medias y mínimas, para cada compuesto orgánico extraído de acuerdo con el órgano seleccionado de la planta evaluada.
3. Determinar el efecto de los extractos sobre los distintos estadios inmaduros de los nematodos.
4. Establecer experimentos bajo condiciones de invernadero, con el propósito de evaluar el efecto *in vivo* de los extractos sobre las poblaciones de *Radopholus similis*.
5. Establecer experimentos con el propósito de evaluar el efecto biocida *in situ* de los compuestos orgánicos extraídos, sobre poblaciones de *R. similis* y otros nematodos fitófagos y de vida libre.
6. Determinar la persistencia de los diferentes metabolitos, tanto en la biomasa del nematodo como en el suelo.
7. Investigar sobre aspectos ambientales relacionados con el efecto sobre poblaciones de otros microorganismos asociados al cultivo, la contaminación de fuentes de agua y del suelo así como otros que puedan atribuirse tanto a los compuestos orgánicos extraídos como a los disolventes utilizados.
8. Determinar la residualidad de los compuestos orgánicos y los disolventes sobre productos de consumo humano, en este caso específico, con relación al fruto del banano.

7. LITERATURA CITADA

- Acacio-Bigi, M.; Hebling, O.; Bueno, F.; Pagnocca, M. 1998. Toxicidad de extratos foliares de *Ricinus communis* L. para operarias de *Atta sexdens rubropilosa*. Forel. Rev. Bras. Ent. 41(2-4): 239-243.
- Adegbite, A; Adesiyon, S. 2005. Root Extracts of Plants to Control Root-Knot Nematode on Edible Soybean. [En línea]. World Journal of Agricultural Sciences 1 (1): 18-21, Ibadan, Nigeria. Consultado el 11 mayo de 2010. Disponible en: <http://www.idosi.org/wjas/wjas1%281%29/4.pdf>
- Agrios, GN. 1991. Manual de enfermedades de las plantas. Ed. Limusa, México. V1 (pp. 147); V4 (pp. 677-678).
- _____.1997. Plant Pathology. 4ta edición, Academic Press. EEUU. 635 p.
- Alzérreca, A.; Arboleda, B.; Hart, G. 1981. Molluscicidal activity of natural products. The effect of *Solanum glycosidic* alkaloids on *Limnea cubensis* Snails. J. Agric. Univ. P. R. 65:69-72.
- Andres, M. 2003. Nematodos parásitos de plantas en suelos agrícolas. [En línea]. Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal. (149) pp 33-42. Consultado el 11 mayo de 2009. Disponible en <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=631474>
- Araya, M.; Cheves, A. 1997. Efecto de cuatro nematicidas sobre el combate de nematodos en banano (*MUSA AAA*). CORBANA 22 (47):35-48.
- Araya, M. 1995. Efecto depresivo de ataques de *Radopholus similis* en banano (*MUSA AAA*). CORBANA 20(43):3-6.
- Apecechea, M.; Viamonte, R.; Garrido, M. 1998. Efecto *in vitro* de un extracto acuoso de las hojas de *Ricinus communis* sobre la formación del coágulo sanguíneo. Revista Cubana Plantas Medicinales 3(2):12-14.

- Ávila, Z. 2001. Química Orgánica, experimentos con un enfoque ecológico. México. 112p.
- Bates, R. Schaefer, J. 1977. Técnicas de Investigación en Química Orgánica, Prentice-Hall Internacional, Madrid. 150p.
- Bunt, J. 1975. Effect and mode of action of some systemic. Wageningen: Veenman. EEUU. 128 p.
- Bowers, W. 1993. Phytochemical contributions to pest management. Pest management: Biologically based technologies. 257p.
- Brack, A. 1999. Diccionario enciclopédico de las plantas útiles del Perú. Cuzco. 360p.
- Bridge, J.; Fogain, R.; Speijer, P. 1997. Nematodos lesionadores de los Bananos. [En línea] Instituto de Biodiversidad Internacional. EEUU. Consultado el 11 mayo de 2009. Disponible en: <http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf/publications/Pest2sp.pdf>.
- Browder, J. 1992. The Limits of Extravivism Tropical Forest Strategies Beyond Extravivism. Reserves Bioscience. 42 (3):174 182.
- Brown, N. 1995. The autoecology and agroforestry potential of the bitterwood *Quassia amara* L. ex Blom (Simaroubaceae). Cornell University. 250p.
- Cáceres, N. 1995. Plantas de Uso medicinal en Guatemala. Guatemala. pp. 163 – 165.
- CATIE, 1991. Madreado, *Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth ex Walpers, especie de árbol de uso múltiple en América Central. Serie Técnica. Informe Técnico: 180. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 79p.

- _____. 1994. Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Actas de la Reunión Centroamericana en CATIE, Turrialba, Costa Rica. 6p.
- Céspedes, C.; Torres, P.; Marín, J.; Arciniegas, A.; Pérez-Castorena, A. 2004. Insect growth inhibition by tocotrienols and hydroquinones from *Roldana barba-johannis* (Asteraceae). *Phytochemistry*. 65 (13):1963-1975.
- Cháves, A. 2008. Extractos vegetales con efecto fungicida, insecticida o nematocida. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Costa Rica. 120p.
- Chitambar, J. 2003. Preparing carrot discs for nematode culture [En línea]. California, Department of Food and Agriculture. Consultado el 11 mayo de 2009. Disponible en <http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Methods/CarrotDisc.htm>
- Christie, J. 1979 Nematodos de los vegetales su ecología y combate. Ed. Limusa. Mexico. 275 p.
- Clavero, T. 2000. Los principales resultados obtenidos en plantas perennes leñosas para la alimentación animal en Venezuela. I Curso Internacional “Los Sistemas Silvopastoriles en la Ganadería Tropical” EEPF “Indio Hatuey”, Matanzas, Cuba. [CD-ROM]
- Coats, J. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Revision Entomology EEUU*. 39: pp489-515.
- Coto, O. 2008. Cosecha y Postcosecha de higuierillo, *Ricinus communis* L. Ministerio de agricultura y ganadería centro nacional de tecnología agropecuaria y forestal programa agroindustria El Salvador. Consultado el 06 de abril de 2010. Disponible en: <http://centa.gob.sv/uploads/documentos/Manual%20higuierillo%20cosecha%20poscosecha.pdf>

- Crozzoli, R. 2007. Nematodos. [En línea]. Venez. Consultado el 25 de abril de 2009. Disponible en: <http://www.infoagro.net/shared/docs/a3/1Nematodos.pdf>
- Crozzoli, R.; Graff, R.; Rivas, R. 1993. Nematodos fitoparásitos asociados al cultivo del banano (AAA) en el estado Aragua, Venezuela. Instituto de Zoología Agrícola. Venezuela. 12p.
- De Luca, V.; St. Pierre, B. 2000. Trends Plant. Ed. Sci. 5. EEUU. pp. 168-173.
- De Waele, D.; Davide, G. 1998. Nematodos noduladores de las raíces del Banano. [En línea] Instituto de Biodiversidad Internacional. EEUU. Consultado el 11 mayo de 2009. Disponible en: http://www.bioversityinternational.org/fileadmin/bioversity/publications/pdfs/698_ES.pdf
- Díez, A. 1999. Procedimiento para la extracción con disolventes de compuestos hidrófobos. [En línea] Oficina española de patentes y marcas. España. Consultado el 11 mayo de 2009. Disponible en: http://www.espatentes.com/pdf/2201354_t3.pdf
- Domínguez, X; Domínguez, S. 1990. Química Orgánica Experimental. Limusa-Noriega, México. 350p.
- Fernando, E.; Quinn, C. 1995. Picramniaceae, a new family, and a recircumscription of Simaroubaceae. Taxon 44:177-181.
- Font Quer P. 1985. Plantas Medicinales. El Dioscórides renovado. Ed. Labor. S. A. pp. 187-188.
- Halbrendt, J. 1996. Allelopathy in the management of plant-parasitic nematodes. Journal of Nematology. 28:8-14.

- Harborne, JB. 1993. Introduction to ecological biochemistry. Ed. London, Acad.Press. Londres. 205p.
- Havsteen, B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol. EEUU.* 32(11):41-48.
- Hernández, A.; Sanabria, E.; Barrios, M. 1997. Extractos radicales de *Bidens pilosa* y *Melampodium divaricatum* y su efecto inhibitorio en la eclosión de huevos de *Meloidogyne incognita*. Annual Meeting APS-Caribbean Division, San José, CR. Universidad Nacional de Costa Rica. 25p.
- Hernández C., 1981. Los nematodos fitosanitarios, sus características y métodos de combate. Editorial ROCAP, Guatemala. 127p.
- Hernández, M.; Fuentes, V.; Alfonso, M. 1998. Plaguicidas naturales de origen botánico. (1ª edición). Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt". La Habana, Cuba. 240p.
- Hoagland, R.; Williams R. 2004, *In: Allelopathy. Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals.* Eds. F.A. Macías, J.C.G. Galindo, J.M.G. - Molinillo, H.C. Cutler. CRC Press, Boca Ratón, New York, Washington DC. pp. 183-210.
- Huerta, A.; Chiffelle, I. 2005. Propiedades insecticidas del árbol del paraíso (*Melia azedarach* L.) [En línea] Fac. Cs. Forestales, U. de Chile. 7p. Consultado el 11 mayo de 2010. Disponible en: http://www.forestal.uchile.cl/ambiente_forestal/ambiente_forestal_3/cap5.pdf
- Hughes, C. 1987. Biological considerations in designing a seed collection strategy for *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. (Leguminosae). *Commonwealth Forestry Review.* 66(1):31-48.
- Insunza, V; Aballay, E; Macaya, J. 2001. *In vitro* nematicidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of *Xiphinema americanum sensu lato*. *Nematropica* 31:47-54.

- Jiménez, M. 1972. Fluctuaciones anuales de la población de *Radopholus similis* en la zona bananera de Pococí. Nematológica. Costa Rica. 2(2):33-40.
- Jiménez, A. 1991. Determinación de la densidad poblacional de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo del Plátano (*MUSA AAB*) en La Región Huetar Norte. Informe Bach. Ing. Agr. San Carlos, Costa Rica. ITCR. 53p.
- Jurd, L. 1976. A phenolic isoflav-3-ene from *Gliricidia sepium*. Tetrahedron Lett EEUU. 1741p.
- Kubo, I.; Klocke, J.; Asano, S. 1981. Insect ecdysis inhibitors from the East African medicinal plant, *Ajuga remota* (Labiatae). Agric Biol Chem. EEUU. 45 1925-1927.
- Little, E.; Wadsworth, F. 1964. Common trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agric. Handb. 249. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. 548p.
- Little, E. 1970 Common fuelwood crops: a handbook for their identification. Morgantown, WV: Communi- Tech Associates. 354p.
- López, A. ; Sánchez D. 1999. Árboles de España. Manual de identificación. Ed.Mundi-Prensa. 404p.
- López, P. 2009. Plantas colectadas. (Fotografías). Ciudad Quesada y Santa Clara, San Carlos, CR. 7, color. Sin publicar.
- _____. 2010a. Análisis fotoquímico preliminar. (Fotografías). Cuautitlán Izcalli MX. 3, color. Sin publicar.
- _____. 2010b. Metodología de extracción y evaluación de extractos sobre *Radopholus similis*. (Fotografías). Santa Clara, San Carlos y La Rita Pococí. CR. 6, color. Sin publicar.

- MAG. 1991. Aspectos Técnicos sobre Cuarenta y Cinco Cultivos Agrícolas de Costa Rica. Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica. 15p.
- Martinuz, A. 2006. Análisis de tecnologías alternativas para el combate del nematodo barrenador del banano (*Radopholus similis* Cobb, Thorne): el caso de la Empresa Agrocomercial EARTH. Ed. Turrialba, CATIE, CR. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. 111p.
- Menjívar, R. 2001. Insecticidas naturales. Riesgos y Beneficios. [En línea]. Consultado el 17 de abril 2010. Disponible en www.elsalvador.com/hablemos/Ediciones/290701/actualidad.htm
- Morimoto, M.; Kumeda, S.; Komai, K. 2000. Insect antifeedant flavonoids from *Gnaphlium affine*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48, 1888-1891.
- Morimoto, M.; Tanimoto, K.; Nakano, S.; Ozaki, T.; Nakano, A.; Komai, K. 2003. Insect antifeedant activity of flavones and chromones against *Spodoptera litura*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51:389-393.
- Moncin, M. 2008. Clínica *Ricinus communis*. [En línea]. Consultado el 06 de Abril de 2010. Disponible en http://www.e-rinitis.com/polinosis/pdfzip/3_6_ricinus_comunis.pdf
- Morton, J. 1981. Atlas of medical plants of Middle America. Ed. Thomas. EEUU 1419p.
- Naranjo, J.; López, G. 2010. Los insecticidas en la lucha por la conservación del patrimonio documental en países de clima tropical. Ed. San Isidro. Cuba. 245p.

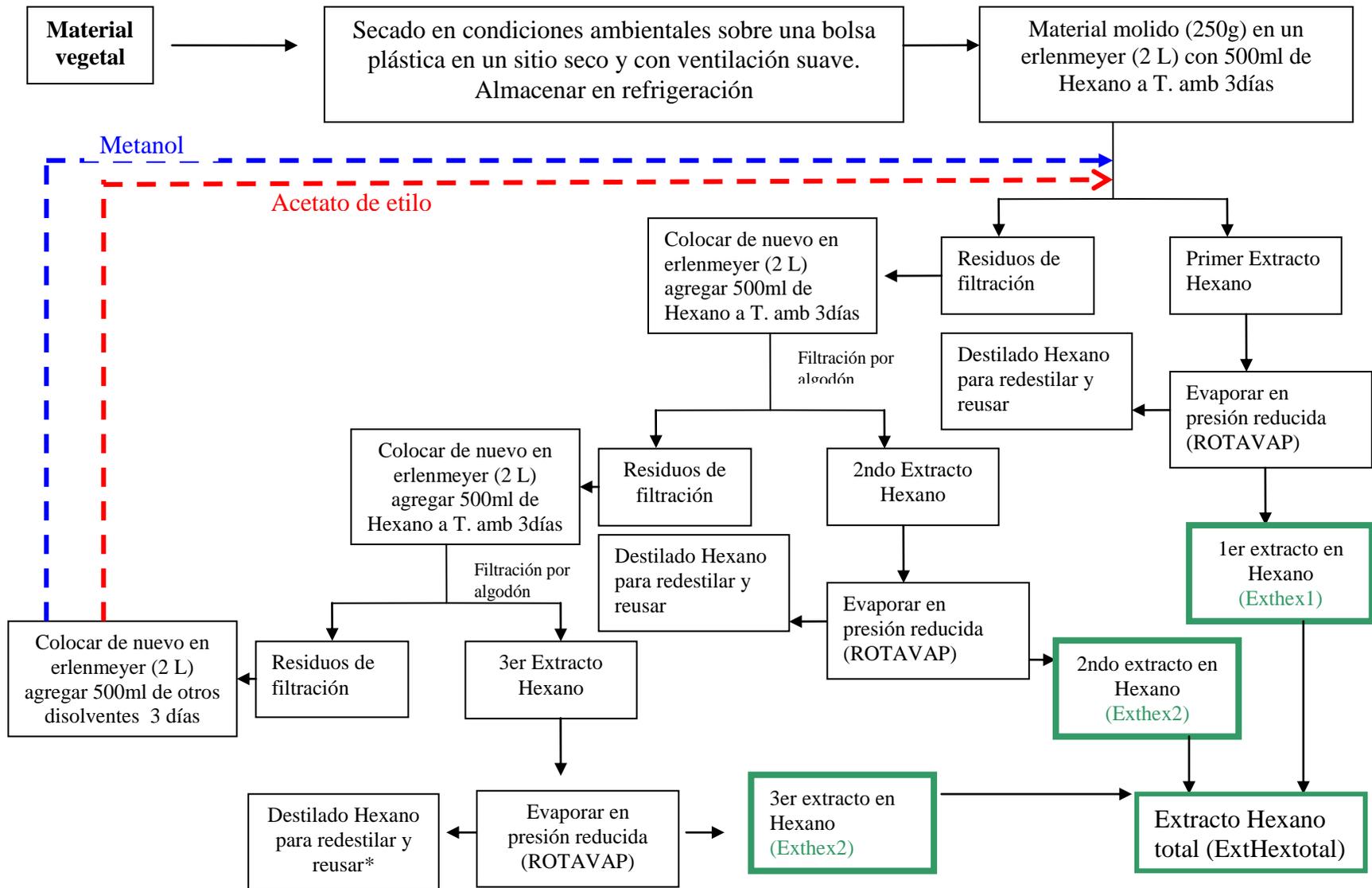
- Ocampo, R. 1994. Estudios etno-botánico de las palmas empleadas por los indígenas en Talamanca, Costa Rica, *Revista Forestal (CR)* 7:1-6.
- Okunji, C.; Komarnytsky, S.; Fear, G.; Poulev, A. 2007. Preparative isolation and identification of tyrosinase inhibitors from the seeds of *Garcinia kola* by high-speed countercurrent chromatography. *Revista J. Chromatog.* 1151:45-50.
- Oliva, A.; Kimudini, M.; Wedge, D.; Harries, D.; Hale, A.; Aliotta, G.; Duke, S. 2003. Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry EEUU.* 51:890-896.
- Park, K.; Lee, S.; Shin, S.; Park, J.; Ahn, Y. 2002. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry EEUU.* 50:1866-1870.
- Pascual M. 1998. Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Revista Bol San Veg Plagas. Bolivia.* 24:143-54.
- Pelicano, A.; Rodríguez, S.; Caffarini, P.; Delfino, S. y Canepa, D. 2001. Efecto del extracto de ricino sobre larvas de *Epilachna paenulata*. XXIV Congreso Nacional de Horticultura. Jujuy, Argentina. *Revista de la Asoc. Argentina de Horticultura. (Argentina)* 20(48): 23.
- Pinochet, J; Verdader, S. 1990. Reproduction of the nematode *Otylenchus guevarai* (Nemata: Pratylenchidae) in monoxenic cultures. [En línea]. Consultado el 06 de Abril de 2010. Disponible en http://www.bondy.ird.fr/pleins_textes/pleins_textes_5/pt5/nemato/34699.pdf
- Poveda, L. 1995. Taxonomía de *Quassia amara* y su distribución en el Neotrópico. In: Ocampo, R.A. (ed.). Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Informe Técnico No. 267. CATIE, Turrialba, Costa Rica. pp. 11-13.

- Poveda, L.; León, J. 2000. Nombres comunes de las plantas en Costa Rica. (1ª edición). Editorial Guayacán. Herbario UNA-EDECA. Costa Rica. 551p.
- Purohit, A.; Grand, N.; Mardekar, S. 1995. The role of *Ricinus communis* leaf as a hepatoprotective herbal drug chronic hepatitis induced due to rifampicin and ethanol. Int. Sem Rec. Tre. In Farmaceuticals Science, Otacomund Inglaterra. (A3) 18-20.
- QuimiNet. 2010. Tipos de solventes. [En línea]. México D.F. Consultado el 10 mayo 2010. Disponible en: [bhttp://www.e-industria.com/ar2/ar_vcdvcdadddsaarm-tipos-de-solventes-y-sus-aplicaciones.htm](http://www.e-industria.com/ar2/ar_vcdvcdadddsaarm-tipos-de-solventes-y-sus-aplicaciones.htm)
- Ramírez, F.; Chaverri, F.; Wesseling, C.; Castillo, L; Bravo, V. 2009. Importación de plaguicidas en Costa Rica; periodo 1977-2006. Heredia, C. R. Universidad Nacional, IRET. 58 p.
- Rivas, G.; Rosales, F. 2003. Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas en los trópicos. Guayaquil, Ecuador. 20p.
- Roberts, M.; Wink, M. 1998. En: Alkaloids. Biochemistry, ecology, and medicinal applications. Ed. Plenum Press. EEUU. pp. 1-7.
- Rodríguez, H. 1987. Combate biológico en hortalizas. EUNA Universidad Nacional. Costa Rica. 25p.
- Rodríguez, H. 2000. La utilidad de las plantas medicinales en Costa Rica. EUNA Universidad Nacional. Costa Rica. 213p.

- Romero, E.; Escobar, A.; Combellas, J. 1996. Efecto de la densidad de siembra y la altura de corte sobre la producción de follaje, madera, composición química y fijación de CO₂ de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. [En línea] Revista Investigación Agrícola-DANAC. Volumen 1. Disponible en: <http://www.redpavfpolar.info.ve/danac/viewarticle.php?id=4&layout=html>
- Roselló, Josep. 2009. Extractos Naturales utilizadas en Agricultura Ecológica. [En línea] Cuba. 20p. Disponible en: <http://www.gobcan.eu/agricultura/doc/calidadagr/jornadasycursos/cursoAE/1820.pdf>
- Salas, J. 1981. Investigación Sobre Plantas Medicinales en el Departamento de Managua. Ed. IRENA. Managua, Nicaragua. 14p.
- Silva, G.; Lagunes, A.; Rodríguez, C.; Rodríguez, D. 2002. Insecticidas vegetales; una vieja-nueva alternativa en el combate de plagas. Revista Manejo Integrado de Plagas (CR) 66:4-12.
- Sprent, J. 2001. Nodulation in Legumes. Royal Botanical Gardens, Kew. Londres. pp. 146-150.
- Westcott, A. 1992. A guide to the genera of beetles of South Australia. Ed. Myrmecia. Australia. pp. 304-309.

8. ANEXOS

ANEXO A Extracción de compuestos



* La recuperación de los disolventes es de aproximadamente 85%.

Figura A1. Metodología de extracción esquematizada, modificada del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Fuente: Dr. Floria Roa. 2009.

ANEXO B Determinación de compuestos orgánicos con efecto biocida

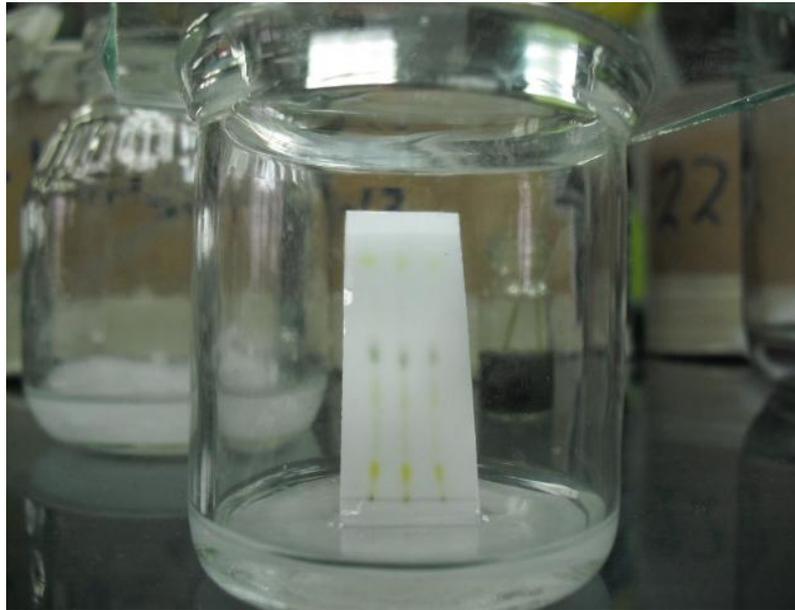


Figura B 1. Miigracion de componente del extracto de pichichio (*S. mammosum*) con ace. en la fase móvil $C_4H_8O_2$: C_6H_{14} (50:50). Tomada con cámara digital., Cuautitlán Izcalli. México (López 2010a).

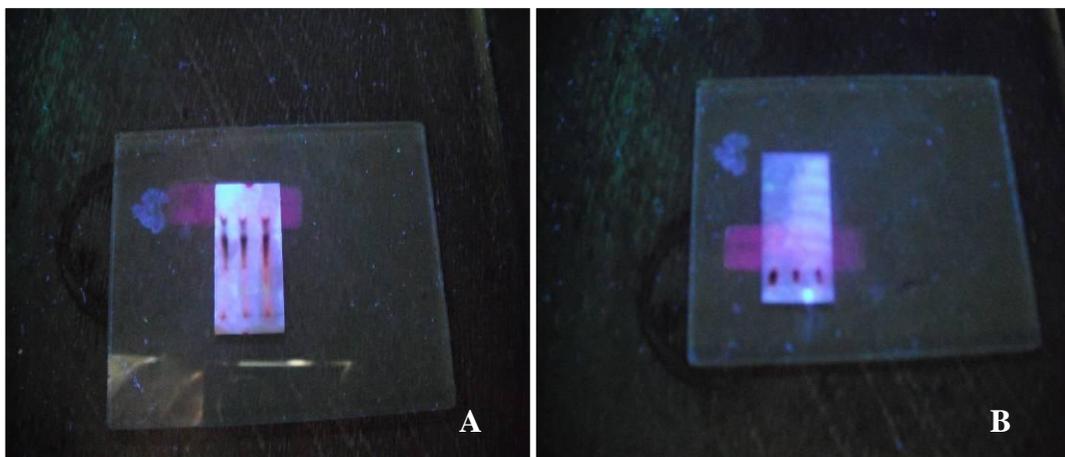


Figura B 2. Prueba de alcaloides (A): madero negro (*G. sepium*) con hex. (B): hombre grande (*Q. amara*) con hex. Tomadas con cámara digital, Cuautitlán Izcalli. México (López 2010a).

ANEXO C. Evaluación de extractos sobre *R. similis*



Figura C1. Evaluación de la mortalidad de *R. similis*, (A): Discos de zanahoria donde se criaron los especímenes evaluados. (B): Cámaras de evaluación, con los diferentes extractos inoculados con los *nematodos*. (C): Evaluación de la mortalidad mediante microscopio invertido. La Rita, Pococí (López 2010b).

Cuadro C1. Datos de sobrevivencia para el análisis estadístico general de los extractos evaluados en el Experimento 1. La Rita, Pococí. 2010.

Trat *	_FREQ_	Vivos0	Vivos24	Vivos48	Vivos72
1	10	103	97	92	78
2	10	102	92	64	42
3	10	104	78	71	64
4	10	107	74	55	51
5	10	109	97	77	68
6	10	107	-**	-	12
7	10	108	-	-	56
8	10	107	92	83	78
9	10	110	91	76	66
10	10	106	-	-	46
11	10	108	87	85	77
12	10	102	-	-	8
13	10	109	-	-	10
14	10	114	99	77	71

* Los números corresponden a la identificación de los tratamientos del Cuadro 16.

** Datos faltantes, debido a la imposibilidad de evaluación, explicada en Materiales y Métodos, pág 38.

Cuadro C2. Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Criterio	GL	Value	Value/GL
Desviación	81	168.4054	2.0791
Scaled Desviación	81	89.7372	1.1079
Chi-Cuadrado de Pearson	81	152.0088	1.8767
Scaled Pearson X2	81	81.0000	1.0000
Log Likelihood		-218.2373	

Cuadro C 3. Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Tratamiento	Estimado	Error Estándar	Media (% mortalidad)	Limite inferior	Limite superior
Testigo absoluto	2.783	0,5763	6	2	16
Testigo Vydate	2.2192	0,4561	10	4	21
Higuerilla Ac	1.0986	0,3102	25	15	38
Higuerilla Met	0,8076	0,2868	31	20	44
Higuerilla Hex	2.0898	0,4192	11	5	22
Pichichio Hex	1.8137	0,3815	14	7	26
Madero negro Ac	1.5664	0,3455	17	10	29
Madero negro Hex	1.4214	0,3331	19	11	32
Hombre grande Hex	1.8871	0,3796	13	7	24

Cuadro C 4. Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Trat	_Trat	Estimado	Error estándar	GL	Chi-Square	Pr > ChiSq	Alpha	Límites de confianza	
1	2	0,5637	0,7350	1	0,59	0,4431	0,05	-0,8768	2.0043
1	3	1.6843	0,6545	1	6.62	0,0101	0,05	0,4016	2.9671
1	4	1.9754	0,6437	1	9.42	0,0021	0,05	0,7138	3.2370
1	5	0,6931	0,7126	1	0,95	0,3307	0,05	-0,7036	2.0899
1	8	0,9692	0,6911	1	1.97	0,1608	0,05	-0,3853	2.3238
1	9	1.2165	0,6719	1	3.28	0,0702	0,05	-0,1005	2.5335
1	11	1.3616	0,6656	1	4.18	0,0408	0,05	0,0570	2.6662
1	14	0,8959	0,6901	1	1.69	0,1942	0,05	-0,4566	2.2484
2	3	1.1206	0,5516	1	4.13	0,0422	0,05	0,0394	2.2018
2	4	1.4116	0,5388	1	6.86	0,0088	0,05	0,3556	2.4676
2	5	0,1294	0,6195	1	0,04	0,8345	0,05	-1.0848	1.3436
2	8	0,4055	0,5946	1	0,46	0,4953	0,05	-0,7600	1.5709
2	9	0,6528	0,5722	1	1.30	0,2540	0,05	-0,4688	1.7744
2	11	0,7978	0,5648	1	2.00	0,1578	0,05	-0,3092	1.9048
2	14	0,3321	0,5934	1	0,31	0,5757	0,05	-0,8309	1.4952
3	4	0,2911	0,4225	1	0,47	0,4908	0,05	-0,5369	1.1190
3	5	-0,9912	0,5215	1	3.61	0,0574	0,05	-2.0133	0.0309
3	8	-0,7151	0,4917	1	2.12	0,1458	0,05	-1.6788	0.2485
3	9	-0,4678	0,4644	1	1.01	0,3137	0,05	-1.3779	0.4423
3	11	-0,3228	0,4552	1	0,50	0,4782	0,05	-1.2149	0.5693
3	14	-0,7885	0,4902	1	2.59	0,1077	0,05	-1.7492	0.1723
4	5	-1.2822	0,5079	1	6.37	0,0116	0,05	-2.2777	-0,2868
4	8	-1.0062	0,4772	1	4.45	0,0350	0,05	-1.9415	-0,0709
4	9	-0,7589	0,4490	1	2.86	0,0910	0,05	-1.6389	0.1212
4	11	-0,6138	0,4395	1	1.95	0,1625	0,05	-1.4752	0.2476
4	14	-1.0795	0,4757	1	5.15	0,0233	0,05	-2.0119	-0,1471
5	8	0,2761	0,5668	1	0,24	0,6262	0,05	-0,8348	1.3869
5	9	0,5234	0,5433	1	0,93	0,3353	0,05	-0,5414	1.5881
5	11	0,6684	0,5354	1	1.56	0,2119	0,05	-0,3810	1.7178
5	14	0,2027	0,5655	1	0,13	0,7200	0,05	-0,9056	1.3111
8	9	0,2473	0,5147	1	0,23	0,6309	0,05	-0,7614	1.2561
8	11	0,3924	0,5064	1	0,60	0,4385	0,05	-0,6002	1.3849
8	14	-0,0733	0,5381	1	0,02	0,8916	0,05	-1.1280	0.9814
9	11	0,1450	0,4799	1	0,09	0,7625	0,05	-0,7956	1.0857
9	14	-0,3206	0,5133	1	0,39	0,5322	0,05	-1.3267	0.6854
11	14	-0,4657	0,5050	1	0,85	0,3564	0,05	-1.4554	0.5241

Cuadro C 5. Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Contrast	Num GL	Den GL	F Value	Pr > F	Chi-Square	Pr > ChiSq	Type
entre 3-4-5	2	81	3.72	0,0284	7.44	0,0242	LR
entre 9 y11	1	81	0,09	0,7631	0,09	0,7624	LR

Cuadro C 6. Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Criterio	GL	Value	Value/GL
Desviación	81	129.2076	1.5952
Scaled Desviación	81	88.5444	1.0931
Chi-Cuadrado de Pearson	81	118.1986	1.4592
Scaled Pearson X2	81	81.0000	1.0000
Log Likelihood		-383.8893	

Cuadro C 7. Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Tratamiento	Estimado	Error Estándar	Media (% mortalidad)	Limite inferior	Limite superior
Testigo absoluto	2.1239	0,3854	11	5	20
Testigo Vydate	0,5213	0,2474	37	27	49
Higuerilla Ac	0,7662	0,2545	32	22	43
Higuerilla Met	0,0561	0,2337	49	37	60
Higuerilla Hex	0,8781	0,2541	29	20	41
Pichichio Hex	1.2408	0,28	22	14	33
Madero negro Ac	0,8044	0,2492	31	22	42
Madero negro Hex	1.3072	0,2839	21	13	32
Hombre grande Hex	0,7329	0,2416	32	23	44

Cuadro C 8. Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Trat	Estimado	Error estándar	GL	Chi-Square	Pr > ChiSq	Alpha	Límites de confianza	
1	2	1.6026	1	12.25	0,0005	0,05	0,7050	2.5002
1	3	1.3577	1	8.64	0,0033	0,05	0,4525	2.2629
1	4	2.0678	1	21.05	<.0001	0,05	1.1845	2.9511
1	5	1.2458	1	7.28	0,0070	0,05	0,3411	2.1505
1	8	0,8831	1	3.44	0,0637	0,05	-0,0505	1.8167
1	9	1.3195	1	8.27	0,0040	0,05	0,4200	2.2191
1	11	0,8167	1	2.91	0,0880	0,05	-0,1215	1.7549
1	14	1.3910	1	9.35	0,0022	0,05	0,4995	2.2825
2	3	-0,2449	1	0,48	0,4902	0,05	-0,9405	0,4508
2	4	0,4652	1	1.87	0,1716	0,05	-0,2017	1.1322
2	5	-0,3568	1	1.01	0,3144	0,05	-1.0518	0,3383
2	8	-0,7195	1	3.71	0,0541	0,05	-1.4518	0,0128
2	9	-0,2831	1	0,65	0,4202	0,05	-0,9714	0,4052
2	11	-0,7859	1	4.35	0,0369	0,05	-1.5239	-0,0478
2	14	-0,2116	1	0,37	0,5406	0,05	-0,8894	0,4662
3	4	0,7101	1	4.22	0,0399	0,05	0,0329	1.3872
3	5	-0,1119	1	0,10	0,7557	0,05	-0,8167	0,5929
3	8	-0,4746	1	1.57	0,2097	0,05	-1.2162	0,267
3	9	-0,0382	1	0,01	0,9146	0,05	-0,7364	0,66
3	11	-0,5410	1	2.01	0,1560	0,05	-1.2883	0,2063
3	14	0,0333	1	0,01	0,9244	0,05	-0,6546	0,7211
4	5	-0,8220	1	5.67	0,0172	0,05	-1.4985	-0,1454
4	8	-1.1847	1	10,55	0,0012	0,05	-1.8994	-0,47
4	9	-0,7483	1	4.80	0,0285	0,05	-1.4179	-0,0787
4	11	-1.2511	1	11.58	0,0007	0,05	-1.9718	-0,5304
4	14	-0,6768	1	4.05	0,0441	0,05	-1.3356	-0,018
5	8	-0,3627	1	0,92	0,3374	0,05	-1.1037	0,3783
5	9	0,0737	1	0,04	0,8360	0,05	-0,6239	0,7713
5	11	-0,4291	1	1.27	0,2601	0,05	-1.1758	0,3177
5	14	0,1452	1	0,17	0,6788	0,05	-0,5420	0,8324
8	9	0,4364	1	1.36	0,2443	0,05	-0,2983	1.1711
8	11	-0,0664	1	0,03	0,8678	0,05	-0,8479	0,7152
8	14	0,5079	1	1.89	0,1696	0,05	-0,2170	1.2327
9	11	-0,5028	1	1.77	0,1832	0,05	-1.2433	0,2377
9	14	0,0715	1	0,04	0,8369	0,05	-0,6089	0,7519
11	14	0,5743	1	2.37	0,1235	0,05	-0,1565	1.305

Cuadro C 9. Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Contrast	Num GL	Den GL	F Value	Pr > F	Chi-Square	Pr > ChiSq	Type
entre 3-4-5	2	81	3.44	0,0368	6.88	0,0320	LR
entre 9y11	1	81	1.80	0,1839	1.80	0,1802	LR

Cuadro C 10. Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Criterio	GL	Value	Value/GL
Desviación	81	144.3715	1.7824
Scaled Desviación	81	90,5494	1.1179
Chi-Cuadrado de Pearson	81	129.1459	1.5944
Scaled Pearson X2	81	81.0000	1.0000
Log Likelihood		-387.9470	

Cuadro C 11. Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Tratamiento	Estimado	Error Estándar	Media (% mortalidad)	Limite inferior	Limite superior
Testigo absoluto	1.1378	0,2902	24	15	36
Testigo Vydate	-0,3567	0,254	59	46	70
Higuerilla Ac	0,47	0,2545	38	28	51
Higuerilla Met	-0,0935	0,2444	52	40	64
Higuerilla Hex	0,5059	0,2497	38	27	50
Pichichio Hex	0,9894	0,2746	27	18	39
Madero negro Ac	0,4055	0,2458	40	29	52
Madero negro Hex	0,9098	0,2686	29	19	41
Hombre grande Hex	0,5015	0,244	38	27	49

Cuadro C 12. Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Trat	_Trat	Estimado	Error estándar	GL	Chi-Square	Pr > ChiSq	Alpha	Límites de confianza	
Trat	1	2	1.4945	1	15.02	0,0001	0,05	0,7386	2.2504
Trat	1	3	0,6678	1	2.99	0,0836	0,05	-0,0887	1.4244
Trat	1	4	1.2314	1	10,53	0,0012	0,05	0,4877	1.975
Trat	1	5	0,6319	1	2.72	0,0988	0,05	-0,1184	1.3822
Trat	1	8	0,1484	1	0,14	0,7103	0,05	-0,6347	0,9315
Trat	1	9	0,7324	1	3.71	0,0541	0,05	-0,0130	1.4777
Trat	1	11	0,2280	1	0,33	0,5642	0,05	-0,5470	1.003
Trat	1	14	0,6364	1	2.82	0,0933	0,05	-0,1068	1.3795
Trat	2	3	-0,8267	1	5.29	0,0215	0,05	-1.5315	-0,1219
Trat	2	4	-0,2631	1	0,56	0,4554	0,05	-0,9541	0,4278
Trat	2	5	-0,8626	1	5.87	0,0154	0,05	-1.5607	-0,1645
Trat	2	8	-1.3461	1	12.95	0,0003	0,05	-2.0793	-0,6129
Trat	2	9	-0,7621	1	4.65	0,0311	0,05	-1.4549	-0,0694
Trat	2	11	-1.2665	1	11.74	0,0006	0,05	-1.9911	-0,5419
Trat	2	14	-0,8582	1	5.94	0,0148	0,05	-1.5485	-0,1678
Trat	3	4	0,5635	1	2.55	0,1103	0,05	-0,1281	1.2551
Trat	3	5	-0,0359	1	0,01	0,9197	0,05	-0,7347	0,6628
Trat	3	8	-0,5194	1	1.92	0,1654	0,05	-1.2533	0,2144
Trat	3	9	0,0645	1	0,03	0,8553	0,05	-0,6289	0,758
Trat	3	11	-0,4398	1	1.41	0,2346	0,05	-1.1650	0,2854
Trat	3	14	-0,0315	1	0,01	0,9289	0,05	-0,7225	0,6596
Trat	4	5	-0,5995	1	2.94	0,0862	0,05	-1.2842	0,0853
Trat	4	8	-1.0829	1	8.68	0,0032	0,05	-1.8035	-0,3624
Trat	4	9	-0,4990	1	2.07	0,1500	0,05	-1.1783	0,1803
Trat	4	11	-1.0033	1	7.63	0,0057	0,05	-1.7151	-0,2916
Trat	4	14	-0,5950	1	2.97	0,0849	0,05	-1.2719	0,0819
Trat	5	8	-0,4835	1	1.70	0,1927	0,05	-1.2109	0,244
Trat	5	9	0,1005	1	0,08	0,7743	0,05	-0,5862	0,7871
Trat	5	11	-0,4039	1	1.21	0,2707	0,05	-1.1226	0,3148
Trat	5	14	0,0045	1	0,00	0,9898	0,05	-0,6798	0,6887
Trat	8	9	0,5839	1	2.51	0,1131	0,05	-0,1384	1.3063
Trat	8	11	0,0796	1	0,04	0,8358	0,05	-0,6733	0,8325
Trat	8	14	0,4879	1	1.76	0,1841	0,05	-0,2321	1.208
Trat	9	11	-0,5044	1	1.92	0,1659	0,05	-1.2179	0,2092
Trat	9	14	-0,0960	1	0,08	0,7816	0,05	-0,7748	0,5827
Trat	11	14	0,4083	1	1.27	0,2605	0,05	-0,3029	1.1195

Cuadro C 13. Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 1. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Contrast	Num GL	Den GL	F Value	Pr > F	Chi-Square	Pr > ChiSq	Type
entre 3-4-5	2	81	1.86	0,1616	3.73	0,1550	LR
entre 9 y11	1	81	1.94	0,1675	1.94	0,1637	LR

Cuadro C 14. Datos de sobrevivencia para el análisis estadístico general de los extractos evaluados en el Experimento 2. La Rita, Pococí. 2010.

Trat	TYPE	FREQ	Vivos0	Vivos24	Vivos48	Vivos72
1	0	10	103	100	91	79
2	0	10	104	86	77	45
3	0	10	102	84	74	67
4	0	10	102	73	55	51
5	0	10	109	88	73	67
6	0	10	104	51	37	25
7	0	10	102	90	78	67
8	0	10	111	94	84	80
9	0	10	106	85	74	71
10	0	10	107	72	61	55
11	0	10	102	92	84	77
12	0	10	107	10	0	0
13	0	10	105	13	7	7
14	0	10	106	90	81	68

Cuadro C 15. Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Criterio	GL	Value	Value/GL
Desviación	126	252.4102	2.0033
Scaled Desviación	126	140,3630	1.1140
Chi-Cuadrado de Pearson	126	226.5817	1.7983
Scaled Pearson X2	126	126.0000	1.0000
Log Likelihood		-361.7324	

Cuadro C 16. Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Tratamiento	Estimado	Error Estándar	Media (% mortalidad)	Limite inferior	Limite superior
Testigo absoluto	3.5066	0,7858	3	1	12
Testigo Vydate	1.564	0,3476	17	10	29
Higuerilla Ac	1.5404	0,3483	18	10	30
Higuerilla Met	0,9232	0,2944	28	18	41
Higuerilla Hex	1.4328	0,3257	19	11	31
Pichichio Ac	-0,0385	0,263	51	38	64
Pichichio Met	2.0149	0,4121	12	6	23
Pichichio Hex	1.7101	0,3534	15	8	27
Madero negro Ac	1.3981	0,3268	20	12	32
Madero negro Met	0,7213	0,2763	33	22	46
Madero negro Hex	2.2192	0,4465	10	4	21
Hombre grande Ac	-2.2721	0,4454	91	80	96
Hombre grande Met	-1.9568	0,3973	88	76	94
Hombre grande Hex	1.7272	0,3638	15	8	27

Cuadro C 17. Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Effect	Treatment	Comparison	Estimated	Standard Error	GL	Chi-Square	Pr > ChiSq	Alpha	Limits of confidence	
Trat	1	2	1.9426	0,8592	1	5.11	0,0238	0,05	0,2586	3.6266
Trat	1	3	1.9661	0,8595	1	5.23	0,0222	0,05	0,2815	3.6507
Trat	1	4	2.5834	0,8391	1	9.48	0,0021	0,05	0,9388	4.2279
Trat	1	5	2.0737	0,8506	1	5.94	0,0148	0,05	0,4067	3.7408
Trat	1	6	3.5450	0,8286	1	18.30	<.0001	0,05	1.9210	5.1691
Trat	1	7	1.4917	0,8873	1	2.83	0,0927	0,05	-0,2474	3.2307
Trat	1	8	1.7965	0,8616	1	4.35	0,0371	0,05	0,1078	3.4851
Trat	1	9	2.1084	0,8510	1	6.14	0,0132	0,05	0,4405	3.7763
Trat	1	10	2.7852	0,8329	1	11.18	0,0008	0,05	1.1527	4.4177
Trat	1	11	1.2874	0,9038	1	2.03	0,1543	0,05	-0,4840	3.0587
Trat	1	12	5.7787	0,9032	1	40,93	<.0001	0,05	4.0084	7.5489
Trat	1	13	5.4634	0,8805	1	38.50	<.0001	0,05	3.7376	7.1891
Trat	1	14	1.7793	0,8659	1	4.22	0,0399	0,05	0,0822	3.4765
Trat	2	3	0,0235	0,4921	1	0,00	0,9619	0,05	-0,9409	0,9880
Trat	2	4	0,6408	0,4555	1	1.98	0,1595	0,05	-0,2519	1.5335
Trat	2	5	0,1312	0,4763	1	0,08	0,7830	0,05	-0,8024	1.0647
Trat	2	6	1.6024	0,4359	1	13.51	0,0002	0,05	0,7481	2.4568
Trat	2	7	-0,4509	0,5391	1	0,70	0,4029	0,05	-1.5076	0,6057
Trat	2	8	-0,1461	0,4957	1	0,09	0,7682	0,05	-1.1177	0,8255
Trat	2	9	0,1658	0,4771	1	0,12	0,7281	0,05	-0,7692	1.1009
Trat	2	10	0,8427	0,4440	1	3.60	0,0577	0,05	-0,0276	1.7130
Trat	2	11	-0,6552	0,5659	1	1.34	0,2469	0,05	-1.7643	0,4538
Trat	2	12	3.8361	0,5650	1	46.10	<.0001	0,05	2.7288	4.9434
Trat	2	13	3.5208	0,5279	1	44.48	<.0001	0,05	2.4861	4.5555
Trat	2	14	-0,1632	0,5032	1	0,11	0,7456	0,05	-1.1495	0,8230
Trat	3	4	0,6173	0,4560	1	1.83	0,1759	0,05	-0,2765	1.5111
Trat	3	5	0,1076	0,4768	1	0,05	0,8214	0,05	-0,8270	1.0422
Trat	3	6	1.5789	0,4365	1	13.09	0,0003	0,05	0,7235	2.4344
Trat	3	7	-0,4745	0,5396	1	0,77	0,3792	0,05	-1.5320	0,5831
Trat	3	8	-0,1696	0,4962	1	0,12	0,7325	0,05	-1.1422	0,8029
Trat	3	9	0,1423	0,4776	1	0,09	0,7657	0,05	-0,7938	1.0784
Trat	3	10	0,8191	0,4446	1	3.39	0,0654	0,05	-0,0523	1.6905
Trat	3	11	-0,6788	0,5663	1	1.44	0,2307	0,05	-1.7887	0,4312
Trat	3	12	3.8126	0,5654	1	45.47	<.0001	0,05	2.7044	4.9207
Trat	3	13	3.4973	0,5284	1	43.81	<.0001	0,05	2.4617	4.5329
Trat	3	14	-0,1868	0,5037	1	0,14	0,7108	0,05	-1.1740	0,8004
Trat	4	5	-0,5097	0,4390	1	1.35	0,2457	0,05	-1.3700	0,3507
Trat	4	6	0,9616	0,3948	1	5.93	0,0149	0,05	0,1879	1.7353
Trat	4	7	-1.0917	0,5064	1	4.65	0,0311	0,05	-2.0843	-0,0991
Trat	4	8	-0,7869	0,4599	1	2.93	0,0871	0,05	-1.6884	0,1146
Trat	4	9	-0,4750	0,4398	1	1.17	0,2802	0,05	-1.3370	0,3870
Trat	4	10	0,2018	0,4037	1	0,25	0,6171	0,05	-0,5895	0,9931
Trat	4	11	-1.2960	0,5348	1	5.87	0,0154	0,05	-2.3442	-0,2478
Trat	4	12	3.1953	0,5339	1	35.82	<.0001	0,05	2.1489	4.2416
Trat	4	13	2.8800	0,4945	1	33.92	<.0001	0,05	1.9108	3.8492
Trat	4	14	-0,8041	0,4680	1	2.95	0,0858	0,05	-1.7213	0,1132
Trat	5	6	1.4713	0,4186	1	12.35	0,0004	0,05	0,6508	2.2918
Trat	5	7	-0,5821	0,5253	1	1.23	0,2678	0,05	-1.6116	0,4474
Trat	5	8	-0,2773	0,4806	1	0,33	0,5640	0,05	-1.2192	0,6647
Trat	5	9	0,0347	0,4614	1	0,01	0,9401	0,05	-0,8696	0,9389
Trat	5	10	0,7115	0,4271	1	2.78	0,0957	0,05	-0,1256	1.5486
Trat	5	11	-0,7864	0,5527	1	2.02	0,1548	0,05	-1.8696	0,2968
Trat	5	12	3.7049	0,5518	1	45.09	<.0001	0,05	2.6235	4.7864
Trat	5	13	3.3897	0,5138	1	43.53	<.0001	0,05	2.3827	4.3966
Trat	5	14	-0,2944	0,4883	1	0,36	0,5466	0,05	-1.2515	0,6626
Trat	6	7	-2.0534	0,4889	1	17.64	<.0001	0,05	-3.0116	-1.0951
Trat	6	8	-1.7485	0,4406	1	15.75	<.0001	0,05	-2.6120	-0,8850
Trat	6	9	-1.4366	0,4195	1	11.73	0,0006	0,05	-2.2588	-0,6144

Trat	6	10	-0,7598	0,3815	1	3.97	0,0464	0,05	-1.5075	-0,0121
Trat	6	11	-2.2577	0,5182	1	18.98	<.0001	0,05	-3.2734	-1.2420
Trat	6	12	2.2337	0,5173	1	18.65	<.0001	0,05	1.2199	3.2475
Trat	6	13	1.9184	0,4765	1	16.21	<.0001	0,05	0,9844	2.8523
Trat	6	14	-1.7657	0,4490	1	15.47	<.0001	0,05	-2.6456	-0,8857
Trat	7	8	0,3048	0,5429	1	0,32	0,5745	0,05	-0,7593	1.3689
Trat	7	9	0,6168	0,5260	1	1.38	0,2409	0,05	-0,4141	1.6476
Trat	7	10	1.2936	0,4962	1	6.80	0,0091	0,05	0,3211	2.2661
Trat	7	11	-0,2043	0,6076	1	0,11	0,7367	0,05	-1.3952	0,9866
Trat	7	12	4.2870	0,6068	1	49.91	<.0001	0,05	3.0977	5.4763
Trat	7	13	3.9717	0,5725	1	48.14	<.0001	0,05	2.8497	5.0937
Trat	7	14	0,2877	0,5497	1	0,27	0,6008	0,05	-0,7898	1.3651
Trat	8	9	0,3120	0,4814	1	0,42	0,5169	0,05	-0,6315	1.2554
Trat	8	10	0,9888	0,4486	1	4.86	0,0275	0,05	0,1095	1.8681
Trat	8	11	-0,5091	0,5695	1	0,80	0,3713	0,05	-1.6252	0,6070
Trat	8	12	3.9822	0,5686	1	49.05	<.0001	0,05	2.8678	5.0966
Trat	8	13	3.6669	0,5318	1	47.55	<.0001	0,05	2.6247	4.7092
Trat	8	14	-0,0171	0,5072	1	0,00	0,9730	0,05	-1.0113	0,9770
Trat	9	10	0,6768	0,4280	1	2.50	0,1138	0,05	-0,1620	1.5156
Trat	9	11	-0,8211	0,5533	1	2.20	0,1378	0,05	-1.9056	0,2634
Trat	9	12	3.6703	0,5524	1	44.14	<.0001	0,05	2.5876	4.7530
Trat	9	13	3.3550	0,5145	1	42.53	<.0001	0,05	2.3467	4.3633
Trat	9	14	-0,3291	0,4890	1	0,45	0,5010	0,05	-1.2876	0,6294
Trat	10	11	-1.4979	0,5251	1	8.14	0,0043	0,05	-2.5271	-0,4687
Trat	10	12	2.9934	0,5241	1	32.62	<.0001	0,05	1.9662	4.0207
Trat	10	13	2.6782	0,4840	1	30,62	<.0001	0,05	1.7296	3.6267
Trat	10	14	-1.0059	0,4569	1	4.85	0,0277	0,05	-1.9013	-0,1105
Trat	11	12	4.4913	0,6307	1	50,72	<.0001	0,05	3.2552	5.7274
Trat	11	13	4.1760	0,5977	1	48.82	<.0001	0,05	3.0046	5.3475
Trat	11	14	0,4920	0,5760	1	0,73	0,3930	0,05	-0,6369	1.6209
Trat	12	13	-0,3153	0,5969	1	0,28	0,5973	0,05	-1.4851	0,8545
Trat	12	14	-3.9993	0,5751	1	48.36	<.0001	0,05	-5.1265	-2.8722
Trat	13	14	-3.6841	0,5387	1	46.76	<.0001	0,05	-4.7400	-2.6281

Cuadro C 18. Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Contrast	Num GL	Den GL	F Value	Pr > F	Chi-Square	Pr > ChiSq	Type
entre 3-4-5	2	126	1.10	0,3345	2.21	0,3313	LR
entre 6-7-8	2	126	13.73	<.0001	27.45	<.0001	LR
entre 9-10-11	2	126	4.77	0,0101	9.54	0,0085	LR
entre 12-13-14	2	126	49.72	<.0001	99.43	<.0001	LR

Cuadro C 19. Análisis factorial de las diferencias de las medias de mínimos cuadrados de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 24 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Effect	Planta	disolv	_Planta	_disolv	Estimado	Error estándar	Chi-Square	Pr > Chi Sq
Planta	Higueri		HombreG		2.1327	0,3057	48.66	<.0001
Planta	Higueri		MadNegr		-0,1474	0,2848	0,27	0,6047
Planta	Higueri		Pichich		0,0700	0,2810	0,06	0,8033
Planta	HombreG		MadNegr		-2.2801	0,3185	51.25	<.0001
Planta	HombreG		Pichich		-2.0628	0,3151	42.86	<.0001
Planta	MadNegr		Pichich		0,2174	0,2948	0,54	0,4609
disolv		Acetato		Hexano	-1.6153	0,2633	37.64	<.0001
disolv		Acetato		Metanol	-0,2686	0,2542	1.12	0,2906
disolv		Hexano		Metanol	1.3467	0,2627	26.28	<.0001
Planta*disolv	Higueri	Acetato	Higueri	Hexano	0,1076	0,4882	0,05	0,8255
Planta*disolv	Higueri	Acetato	Higueri	Metanol	0,6173	0,4668	1.75	0,1861
Planta*disolv	Higueri	Acetato	HombreG	Acetato	3.8126	0,5788	43.39	<.0001
Planta*disolv	Higueri	Acetato	HombreG	Hexano	-0,1868	0,5156	0,13	0,7172
Planta*disolv	Higueri	Acetato	HombreG	Metanol	3.4973	0,5409	41.80	<.0001
Planta*disolv	Higueri	Acetato	MadNegr	Acetato	0,1423	0,4889	0,08	0,7710
Planta*disolv	Higueri	Acetato	MadNegr	Hexano	-0,6788	0,5797	1.37	0,2417
Planta*disolv	Higueri	Acetato	MadNegr	Metanol	0,8191	0,4552	3.24	0,0719
Planta*disolv	Higueri	Acetato	Pichich	Acetato	1.5789	0,4468	12.49	0,0004
Planta*disolv	Higueri	Acetato	Pichich	Hexano	-0,1696	0,5080	0,11	0,7384
Planta*disolv	Higueri	Acetato	Pichich	Metanol	-0,4745	0,5524	0,74	0,3904
Planta*disolv	Higueri	Hexano	Higueri	Metanol	0,5097	0,4494	1.29	0,2568
Planta*disolv	Higueri	Hexano	HombreG	Acetato	3.7049	0,5649	43.02	<.0001
Planta*disolv	Higueri	Hexano	HombreG	Hexano	-0,2944	0,4999	0,35	0,5559
Planta*disolv	Higueri	Hexano	HombreG	Metanol	3.3897	0,5259	41.54	<.0001
Planta*disolv	Higueri	Hexano	MadNegr	Acetato	0,0347	0,4723	0,01	0,9415
Planta*disolv	Higueri	Hexano	MadNegr	Hexano	-0,7864	0,5658	1.93	0,1646
Planta*disolv	Higueri	Hexano	MadNegr	Metanol	0,7115	0,4372	2.65	0,1037
Planta*disolv	Higueri	Hexano	Pichich	Acetato	1.4713	0,4286	11.79	0,0006
Planta*disolv	Higueri	Hexano	Pichich	Hexano	-0,2773	0,4920	0,32	0,5731
Planta*disolv	Higueri	Hexano	Pichich	Metanol	-0,5821	0,5377	1.17	0,2790
Planta*disolv	Higueri	Metanol	HombreG	Acetato	3.1953	0,5465	34.18	<.0001
Planta*disolv	Higueri	Metanol	HombreG	Hexano	-0,8041	0,4791	2.82	0,0933
Planta*disolv	Higueri	Metanol	HombreG	Metanol	2.8800	0,5062	32.37	<.0001
Planta*disolv	Higueri	Metanol	MadNegr	Acetato	-0,4750	0,4502	1.11	0,2915
Planta*disolv	Higueri	Metanol	MadNegr	Hexano	-1.2960	0,5475	5.60	0,0179
Planta*disolv	Higueri	Metanol	MadNegr	Metanol	0,2018	0,4133	0,24	0,6253
Planta*disolv	Higueri	Metanol	Pichich	Acetato	0,9616	0,4041	5.66	0,0173
Planta*disolv	Higueri	Metanol	Pichich	Hexano	-0,7869	0,4709	2.79	0,0947
Planta*disolv	Higueri	Metanol	Pichich	Metanol	-1.0917	0,5185	4.43	0,0352
Planta*disolv	HombreG	Acetato	HombreG	Hexano	-3.9993	0,5888	46.14	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Acetato	HombreG	Metanol	-0,3153	0,6110	0,27	0,6059
Planta*disolv	HombreG	Acetato	MadNegr	Acetato	-3.6703	0,5655	42.12	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Acetato	MadNegr	Hexano	-4.4913	0,6456	48.39	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Acetato	MadNegr	Metanol	-2.9934	0,5366	31.12	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Acetato	Pichich	Acetato	-2.2337	0,5295	17.79	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Acetato	Pichich	Hexano	-3.9822	0,5821	46.81	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Acetato	Pichich	Metanol	-4.2870	0,6212	47.63	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Hexano	HombreG	Metanol	3.6841	0,5515	44.62	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Hexano	MadNegr	Acetato	0,3291	0,5007	0,43	0,5110
Planta*disolv	HombreG	Hexano	MadNegr	Hexano	-0,4920	0,5896	0,70	0,4041
Planta*disolv	HombreG	Hexano	MadNegr	Metanol	1.0059	0,4677	4.63	0,0315
Planta*disolv	HombreG	Hexano	Pichich	Acetato	1.7657	0,4596	14.76	0,0001
Planta*disolv	HombreG	Hexano	Pichich	Hexano	0,0171	0,5193	0,00	0,9737
Planta*disolv	HombreG	Hexano	Pichich	Metanol	-0,2877	0,5628	0,26	0,6092
Planta*disolv	HombreG	Metanol	MadNegr	Acetato	-3.3550	0,5267	40,58	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Metanol	MadNegr	Hexano	-4.1760	0,6119	46.58	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Metanol	MadNegr	Metanol	-2.6782	0,4955	29.22	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Metanol	Pichich	Acetato	-1.9184	0,4878	15.46	<.0001

Planta*disolv	HombreG	Metanol	Pichich	Hexano	-3.6669	0,5444	45.37	<.0001
Planta*disolv	HombreG	Metanol	Pichich	Metanol	-3.9717	0,5861	45.93	<.0001
Planta*disolv	MadNegr	Acetato	MadNegr	Hexano	-0,8211	0,5665	2.10	0,1472
Planta*disolv	MadNegr	Acetato	MadNegr	Metanol	0,6768	0,4381	2.39	0,1224
Planta*disolv	MadNegr	Acetato	Pichich	Acetato	1.4366	0,4295	11.19	0,0008
Planta*disolv	MadNegr	Acetato	Pichich	Hexano	-0,3120	0,4928	0.40	0,5267
Planta*disolv	MadNegr	Acetato	Pichich	Metanol	-0,6168	0,5384	1.31	0,2520
Planta*disolv	MadNegr	Hexano	MadNegr	Metanol	1.4979	0,5376	7.76	0,0053
Planta*disolv	MadNegr	Hexano	Pichich	Acetato	2.2577	0,5305	18.11	<.0001
Planta*disolv	MadNegr	Hexano	Pichich	Hexano	0,5091	0,5830	0.76	0,3825
Planta*disolv	MadNegr	Hexano	Pichich	Metanol	0,2043	0,6221	0.11	0,7426
Planta*disolv	MadNegr	Metanol	Pichich	Acetato	0,7598	0,3906	3.78	0,0517
Planta*disolv	MadNegr	Metanol	Pichich	Hexano	-0,9888	0,4593	4.63	0,0313
Planta*disolv	MadNegr	Metanol	Pichich	Metanol	-1.2936	0,5080	6.49	0,0109
Planta*disolv	Pichich	Acetato	Pichich	Hexano	-1.7485	0,4510	15.03	0,0001
Planta*disolv	Pichich	Acetato	Pichich	Metanol	-2.0534	0,5005	16.83	<.0001
Planta*disolv	Pichich	Hexano	Pichich	Metanol	-0,3048	0,5558	0.30	0,5834

Cuadro C 20. Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Criterio	GL	Value	Value/GL
Desviación	126	233.2216	1.8510
Scaled Desviación	126	137.0395	1.0876
Chi-Cuadrado de Pearson	126	214.4340	1.7019
Scaled Pearson X2	126	126.0000	1.0000
Log Likelihood		-440,8237	

Cuadro C 21. Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Tratamiento	Estimado	Error Estándar	Media (% mortalidad)	Limite inferior	Limite superior
Testigo absoluto	2.026	0,4007	12	6	22
Testigo Vydate	1.048	0,2918	26	17	38
Higuerilla Ac	0,9719	0,2894	27	18	40
Higuerilla Met	0,1572	0,2591	46	34	59
Higuerilla Hex	0,7069	0,2657	33	23	45
Pichichio Ac	-0,5938	0,2672	64	52	75
Pichichio Met	1.1787	0,3045	24	14	36
Pichichio Hex	1.135	0,2886	24	15	36
Madero negro Ac	0,8383	0,276	30	20	43
Madero negro Met	0,2822	0,2547	43	31	55
Madero negro Hex	1.5404	0,3388	18	10	29
Hombre grande Ac	-26.8521	47463.91	100		100
Hombre grande Met	-3.8146	0,5104	98	96	100
Hombre grande Hex	1.1756	0,2985	24	15	36

Cuadro C 22. Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Effect	Trat	_Trat	Estimado	Error estándar	Chi-Square	Pr > ChiSq	Límites de confianza	
Trat	1	2	0,9780	0,4956	3.89	0,0485	0,0066	1.9494
Trat	1	3	1.0541	0,4943	4.55	0,0330	0,0853	2.0228
Trat	1	4	1.8688	0,4772	15.34	<.0001	0,9336	2.8040
Trat	1	5	1.3190	0,4807	7.53	0,0061	0,3768	2.2612
Trat	1	6	2.6197	0,4816	29.59	<.0001	1.6758	3.5636
Trat	1	7	0,8473	0,5032	2.83	0,0922	-0,1390	1.8336
Trat	1	8	0,8910	0,4938	3.26	0,0712	-0,0768	1.8588
Trat	1	9	1.1876	0,4865	5.96	0,0146	0,2341	2.1412
Trat	1	10	1.7437	0,4748	13.49	0,0002	0,8132	2.6743
Trat	1	11	0,4855	0,5247	0,86	0,3548	-0,5429	1.5139
Trat	1	12	27.7025	47463.91	0,00	0,9995	-92999.8	93055.25
Trat	1	13	4.6650	0,6489	51.69	<.0001	3.3933	5.9367
Trat	1	14	0,8504	0,4996	2.90	0,0887	-0,1288	1.8296
Trat	2	3	0,0761	0,4110	0,03	0,8531	-0,7294	0,8816
Trat	2	4	0,8908	0,3902	5.21	0,0225	0,1259	1.6556
Trat	2	5	0,3410	0,3946	0,75	0,3875	-0,4324	1.1145
Trat	2	6	1.6417	0,3956	17.22	<.0001	0,8663	2.4172
Trat	2	7	-0,1307	0,4217	0,10	0,7567	-0,9573	0,6959
Trat	2	8	-0,0870	0,4104	0,04	0,8321	-0,8914	0,7174
Trat	2	9	0,2096	0,4016	0,27	0,6017	-0,5776	0,9968
Trat	2	10	0,7657	0,3873	3.91	0,0481	0,0066	1.5249
Trat	2	11	-0,4925	0,4471	1.21	0,2707	-1.3689	0,3839
Trat	2	12	26.7245	47463.91	0,00	0,9996	-93000.8	93054.28
Trat	2	13	3.6870	0,5879	39.33	<.0001	2.5348	4.8393
Trat	2	14	-0,1276	0,4174	0,09	0,7598	-0,9457	0,6905
Trat	3	4	0,8147	0,3885	4.40	0,0360	0,0532	1.5761
Trat	3	5	0,2649	0,3929	0,45	0,5001	-0,5051	1.0350
Trat	3	6	1.5656	0,3939	15.80	<.0001	0,7936	2.3377
Trat	3	7	-0,2068	0,4201	0,24	0,6226	-1.0302	0,6166
Trat	3	8	-0,1631	0,4087	0,16	0,6898	-0,9642	0,6380
Trat	3	9	0,1335	0,3999	0,11	0,7385	-0,6504	0,9174
Trat	3	10	0,6896	0,3856	3.20	0,0737	-0,0661	1.4454
Trat	3	11	-0,5686	0,4456	1.63	0,2020	-1.4420	0,3048
Trat	3	12	26.6484	47463.91	0,00	0,9996	-93000.9	93054.20
Trat	3	13	3.6109	0,5867	37.87	<.0001	2.4609	4.7609
Trat	3	14	-0,2037	0,4158	0,24	0,6242	-1.0186	0,6112
Trat	4	5	-0,5498	0,3711	2.19	0,1385	-1.2772	0,1777
Trat	4	6	0,7510	0,3722	4.07	0,0436	0,0214	1.4805
Trat	4	7	-1.0215	0,3999	6.53	0,0106	-1.8052	-0,2378
Trat	4	8	-0,9778	0,3879	6.36	0,0117	-1.7380	-0,2176
Trat	4	9	-0,6811	0,3786	3.24	0,0720	-1.4232	0,0609
Trat	4	10	-0,1250	0,3634	0,12	0,7308	-0,8373	0,5872
Trat	4	11	-1.3833	0,4266	10,52	0,0012	-2.2193	-0,5472
Trat	4	12	25.8337	47463.91	0,00	0,9996	-93001.7	93053.39
Trat	4	13	2.7962	0,5724	23.86	<.0001	1.6744	3.9181
Trat	4	14	-1.0184	0,3953	6.64	0,0100	-1.7931	-0,2437
Trat	5	6	1.3007	0,3768	11.92	0,0006	0,5622	2.0392
Trat	5	7	-0,4717	0,4041	1.36	0,2431	-1.2638	0,3204
Trat	5	8	-0,4280	0,3923	1.19	0,2752	-1.1969	0,3408
Trat	5	9	-0,1314	0,3831	0,12	0,7316	-0,8823	0,6195
Trat	5	10	0,4247	0,3681	1.33	0,2486	-0,2967	1.1461
Trat	5	11	-0,8335	0,4306	3.75	0,0529	-1.6774	0,0104

Trat	5	12	26.3835	47463.91	0,00	0,9996	-93001.2	93053.94
Trat	5	13	3.3460	0,5754	33.82	<.0001	2.2183	4.4737
Trat	5	14	-0,4686	0,3996	1.38	0,2409	-1.2518	0,3145
Trat	6	7	-1.7724	0,4051	19.14	<.0001	-2.5665	-0,9784
Trat	6	8	-1.7288	0,3933	19.32	<.0001	-2.4996	-0,9579
Trat	6	9	-1.4321	0,3842	13.90	0,0002	-2.1850	-0,6792
Trat	6	10	-0,8760	0,3692	5.63	0,0177	-1.5996	-0,1524
Trat	6	11	-2.1342	0,4315	24.46	<.0001	-2.9800	-1.2885
Trat	6	12	25.0828	47463.91	0,00	0,9996	-93002.5	93052.63
Trat	6	13	2.0453	0,5761	12.60	0,0004	0,9162	3.1744
Trat	6	14	-1.7693	0,4006	19.51	<.0001	-2.5545	-0,9842
Trat	7	8	0,0437	0,4195	0,01	0,9171	-0,7786	0,8660
Trat	7	9	0,3403	0,4110	0,69	0,4076	-0,4652	1.1458
Trat	7	10	0,8964	0,3970	5.10	0,0240	0,1183	1.6746
Trat	7	11	-0,3618	0,4556	0,63	0,4271	-1.2547	0,5311
Trat	7	12	26.8552	47463.91	0,00	0,9995	-93000,7	93054.41
Trat	7	13	3.8177	0,5943	41.26	<.0001	2.6529	4.9826
Trat	7	14	0,0031	0,4264	0,00	0,9942	-0,8326	0,8388
Trat	8	9	0,2967	0,3993	0,55	0,4576	-0,4860	1.0793
Trat	8	10	0,8527	0,3850	4.91	0,0267	0,0983	1.6072
Trat	8	11	-0,4055	0,4451	0,83	0,3623	-1.2778	0,4669
Trat	8	12	26.8115	47463.91	0,00	0,9995	-93000,7	93054.36
Trat	8	13	3.7740	0,5863	41.43	<.0001	2.6249	4.9232
Trat	8	14	-0,0406	0,4152	0,01	0,9221	-0,8543	0,7732
Trat	9	10	0,5561	0,3756	2.19	0,1387	-0,1801	1.2923
Trat	9	11	-0,7021	0,4370	2.58	0,1081	-1.5587	0,1544
Trat	9	12	26.5149	47463.91	0,00	0,9996	-93001.0	93054.07
Trat	9	13	3.4774	0,5802	35.92	<.0001	2.3402	4.6146
Trat	9	14	-0,3372	0,4065	0,69	0,4068	-1.1340	0,4595
Trat	10	11	-1.2582	0,4239	8.81	0,0030	-2.0891	-0,4274
Trat	10	12	25.9588	47463.91	0,00	0,9996	-93001.6	93053.51
Trat	10	13	2.9213	0,5704	26.23	<.0001	1.8033	4.0393
Trat	10	14	-0,8933	0,3924	5.18	0,0228	-1.6624	-0,1242
Trat	11	12	27.2170	47463.91	0,00	0,9995	-93000,3	93054.77
Trat	11	13	4.1795	0,6126	46.55	<.0001	2.9788	5.3802
Trat	11	14	0,3649	0,4515	0,65	0,4191	-0,5201	1.2499
Trat	12	13	-23.0375	47463.91	0,00	0,9996	-93050,6	93004.51
Trat	12	14	-26.8521	47463.91	0,00	0,9995	-93054.4	93000,70
Trat	13	14	-3.8146	0,5912	41.63	<.0001	-4.9735	-2.6558

Cuadro C 23. Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Contrast	Num GL	Den GL	F Value	Pr > F	Chi-Square	Pr > ChiSq	Type
entre 3-4-5	2	126	2.38	0,0964	4.77	0,0923	LR
entre 6-7-8	2	126	14.30	<.0001	28.60	<.0001	LR
entre 9-10-11	2	126	4.77	0,0101	9.53	0,0085	LR
entre 12-13-14	2	126	61.08	<.0001	122.16	<.0001	LR

Cuadro C 24. Análisis factorial de las diferencias de las medias de mínimos cuadrados de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 48 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Effect	Planta	disolv	_Planta	_disolv	Estimado	Error estándar	Chi-Square	Pr > ChiSq
Planta	Higueri		HombreG		9.6587	16432.46	0,00	0,9995
Planta	Higueri		MadNegr		-0,2750	0,2392	1.32	0,2503
Planta	Higueri		Pichich		0,0387	0,2371	0,03	0,8703
Planta	HombreG		MadNegr		-9.9337	16432.46	0,00	0,9995
Planta	HombreG		Pichich		-9.6200	16432.46	0,00	0,9995
Planta	MadNegr		Pichich		0,3137	0,2456	1.63	0,2015
disolv		Acetato		Hexano	-7.2545	12324.34	0,00	0,9995
disolv		Acetato		Metanol	-5.8598	12324.34	0,00	0,9996
disolv		Hexano		Metanol	1.3947	0,2384	34.22	<.0001

Cuadro C 25. Criterios para determinar la calidad del ajuste estadístico de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Criterio	GL	Value	Value/GL
Desviación	126	195.5596	1.5521
Scaled Desviación	126	134.6540	1.0687
Chi-Cuadrado de Pearson	126	182.9913	1.4523
Scaled Pearson X2	126	126.0000	1.0000
Log Likelihood		-563.0775	

Cuadro C 26. Medias de mínimos cuadrados de supervivencia, porcentaje de mortalidad y límites inferiores y superiores, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Tratamiento	Estimado	Error Estándar	Media (% mortalidad)	Limite inferior	Limite superior
Testigo absoluto	1.1914	0,2809	23	15	35
Testigo Vystate	-0,2709	0,2385	57	45	68
Higuerilla Ac	0,6493	0,2513	34	24	46
Higuerilla Met	0	0,2386	50	39	61
Higuerilla Hex	0,467	0,2372	39	28	50
Pichichio Ac	-1.1506	0,2765	76	65	84
Pichichio Met	0,6493	0,2513	34	24	46
Pichichio Hex	0,948	0,255	28	19	39
Madero negro Ac	0,7073	0,2489	33	23	45
Madero negro Met	0,0561	0,2331	49	37	60
Madero negro Hex	1.1249	0,2774	25	16	36
Hombre grande Ac	-25.6766	43846.2	100	100	
Hombre grande Met	-3.8146	0,4715	98	85	97
Hombre grande Hex	0,5819	0,2441	36	26	47

Cuadro C 27. Diferencias de las medias de mínimos cuadrados de supervivencia, de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Effect	Trat	_Trat	Estimado	Error estándar	Chi-Square	Pr > ChiSq	Limites de confianza	
Trat	1	2	1.4623	0,3685	15.75	<.0001	0,7400	2.1845
Trat	1	3	0,5420	0,3769	2.07	0,1504	-0,1967	1.2808
Trat	1	4	1.1914	0,3686	10.45	0,0012	0,4690	1.9138
Trat	1	5	0,7244	0,3676	3.88	0,0488	0,0038	1.4449
Trat	1	6	2.3420	0,3942	35.30	<.0001	1.5694	3.1145
Trat	1	7	0,5420	0,3769	2.07	0,1504	-0,1967	1.2808
Trat	1	8	0,2434	0,3793	0,41	0,5212	-0,5001	0,9868
Trat	1	9	0,4841	0,3753	1.66	0,1971	-0,2515	1.2196
Trat	1	10	1.1353	0,3650	9.67	0,0019	0,4199	1.8507
Trat	1	11	0,0665	0,3948	0,03	0,8663	-0,7073	0,8402
Trat	1	12	26.8680	43846.20	0,00	0,9995	-85910,1	85963.84
Trat	1	13	3.8305	0,5488	48.71	<.0001	2.7548	4.9061
Trat	1	14	0,6095	0,3721	2.68	0,1015	-0,1199	1.3388
Trat	2	3	-0,9202	0,3465	7.05	0,0079	-1.5993	-0,2411
Trat	2	4	-0,2709	0,3374	0,64	0,4221	-0,9322	0,3904
Trat	2	5	-0,7379	0,3364	4.81	0,0283	-1.3972	-0,0786
Trat	2	6	0,8797	0,3652	5.80	0,0160	0,1639	1.5955
Trat	2	7	-0,9202	0,3465	7.05	0,0079	-1.5993	-0,2411
Trat	2	8	-1.2189	0,3491	12.19	0,0005	-1.9032	-0,5346
Trat	2	9	-0,9782	0,3447	8.05	0,0045	-1.6539	-0,3025
Trat	2	10	-0,3270	0,3335	0,96	0,3269	-0,9806	0,3267
Trat	2	11	-1.3958	0,3658	14.56	0,0001	-2.1128	-0,6788
Trat	2	12	25.4057	43846.20	0,00	0,9995	-85911.6	85962.38
Trat	2	13	2.3682	0,5284	20.09	<.0001	1.3326	3.4038
Trat	2	14	-0,8528	0,3413	6.24	0,0125	-1.5217	-0,1839
Trat	3	4	0,6493	0,3466	3.51	0,0610	-0,0300	1.3286
Trat	3	5	0,1823	0,3456	0,28	0,5978	-0,4950	0,8596
Trat	3	6	1.7999	0,3737	23.20	<.0001	1.0675	2.5323
Trat	3	7	0,0000	0,3554	0,00	1.0000	-0,6967	0,6967
Trat	3	8	-0,2987	0,3580	0,70	0,4041	-1.0004	0,4030
Trat	3	9	-0,0580	0,3537	0,03	0,8698	-0,7513	0,6353
Trat	3	10	0,5933	0,3428	3.00	0,0835	-0,0786	1.2651
Trat	3	11	-0,4756	0,3743	1.61	0,2039	-1.2093	0,2581
Trat	3	12	26.3259	43846.20	0,00	0,9995	-85910,6	85963.30
Trat	3	13	3.2884	0,5343	37.88	<.0001	2.2412	4.3356
Trat	3	14	0,0674	0,3504	0,04	0,8474	-0,6193	0,7541
Trat	4	5	-0,4670	0,3365	1.93	0,1651	-1.1265	0,1924
Trat	4	6	1.1506	0,3653	9.92	0,0016	0,4346	1.8665
Trat	4	7	-0,6493	0,3466	3.51	0,0610	-1.3286	0,0300
Trat	4	8	-0,9480	0,3492	7.37	0,0066	-1.6325	-0,2636
Trat	4	9	-0,7073	0,3448	4.21	0,0402	-1.3832	-0,0315
Trat	4	10	-0,0561	0,3336	0,03	0,8665	-0,7099	0,5978
Trat	4	11	-1.1249	0,3659	9.45	0,0021	-1.8421	-0,4077
Trat	4	12	25.6766	43846.20	0,00	0,9995	-85911.3	85962.65
Trat	4	13	2.6391	0,5284	24.94	<.0001	1.6033	3.6748
Trat	4	14	-0,5819	0,3414	2.91	0,0883	-1.2510	0,0871
Trat	5	6	1.6176	0,3643	19.71	<.0001	0,9035	2.3317
Trat	5	7	-0,1823	0,3456	0,28	0,5978	-0,8596	0,4950
Trat	5	8	-0,4810	0,3482	1.91	0,1672	-1.1635	0,2015
Trat	5	9	-0,2403	0,3438	0,49	0,4846	-0,9142	0,4335
Trat	5	10	0,4109	0,3326	1.53	0,2166	-0,2409	1.0627
Trat	5	11	-0,6579	0,3650	3.25	0,0715	-1.3733	0,0574
Trat	5	12	26.1436	43846.20	0,00	0,9995	-85910,8	85963.12
Trat	5	13	3.1061	0,5278	34.64	<.0001	2.0717	4.1405
Trat	5	14	-0,1149	0,3403	0,11	0,7357	-0,7820	0,5522
Trat	6	7	-1.7999	0,3737	23.20	<.0001	-2.5323	-1.0675
Trat	6	8	-2.0986	0,3761	31.13	<.0001	-2.8358	-1.3614
Trat	6	9	-1.8579	0,3721	24.94	<.0001	-2.5871	-1.1287
Trat	6	10	-1.2067	0,3617	11.13	0,0008	-1.9155	-0,4978
Trat	6	11	-2.2755	0,3917	33.75	<.0001	-3.0432	-1.5078
Trat	6	12	24.5260	43846.20	0,00	0,9996	-85912.4	85961.50
Trat	6	13	1.4885	0,5466	7.42	0,0065	0,4172	2.5598
Trat	6	14	-1.7325	0,3689	22.06	<.0001	-2.4554	-1.0096
Trat	7	8	-0,2987	0,3580	0,70	0,4041	-1.0004	0,4030
Trat	7	9	-0,0580	0,3537	0,03	0,8698	-0,7513	0,6353
Trat	7	10	0,5933	0,3428	3.00	0,0835	-0,0786	1.2651

Trat	7	11	-0,4756	0,3743	1.61	0,2039	-1.2093	0,2581
Trat	7	12	26.3259	43846.20	0,00	0,9995	-85910,6	85963.30
Trat	7	13	3.2884	0,5343	37.88	<.0001	2.2412	4.3356
Trat	7	14	0,0674	0,3504	0,04	0,8474	-0,6193	0,7541
Trat	8	9	0,2407	0,3563	0,46	0,4993	-0,4576	0,9391
Trat	8	10	0,8919	0,3455	6.67	0,0098	0,2149	1.5690
Trat	8	11	-0,1769	0,3768	0,22	0,6387	-0,9153	0,5616
Trat	8	12	26.6246	43846.20	0,00	0,9995	-85910,4	85963.60
Trat	8	13	3.5871	0,5360	44.79	<.0001	2.5366	4.6376
Trat	8	14	0,3661	0,3530	1.08	0,2996	-0,3257	1.0579
Trat	9	10	0,6512	0,3410	3.65	0,0562	-0,0171	1.3196
Trat	9	11	-0,4176	0,3727	1.26	0,2625	-1.1481	0,3129
Trat	9	12	26.3839	43846.20	0,00	0,9995	-85910,6	85963.36
Trat	9	13	3.3464	0,5331	39.40	<.0001	2.3014	4.3913
Trat	9	14	0,1254	0,3486	0,13	0,7190	-0,5578	0,8087
Trat	10	11	-1.0688	0,3623	8.70	0,0032	-1.7790	-0,3587
Trat	10	12	25.7326	43846.20	0,00	0,9995	-85911.2	85962.71
Trat	10	13	2.6951	0,5260	26.26	<.0001	1.6643	3.7260
Trat	10	14	-0,5258	0,3375	2.43	0,1192	-1.1873	0,1357
Trat	11	12	26.8015	43846.20	0,00	0,9995	-85910,2	85963.78
Trat	11	13	3.7640	0,5470	47.34	<.0001	2.6918	4.8362
Trat	11	14	0,5430	0,3695	2.16	0,1417	-0,1812	1.2672
Trat	12	13	-23.0375	43846.20	0,00	0,9996	-85960,0	85913.94
Trat	12	14	-26.2585	43846.20	0,00	0,9995	-85963.2	85910,72
Trat	13	14	-3.2210	0,5309	36.81	<.0001	-4.2615	-2.1804

Cuadro C 28. Prueba de contrastes polinomiales de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Contrast	Num GL	Den GL	F Value	Pr > F	Chi-Square	Pr > ChiSq	Type
entre 3-4-5	2	126	1.91	0,1518	3.83	0,1476	LR
entre 6-7-8	2	126	20,57	<.0001	41.15	<.0001	LR
entre 9-10-11	2	126	4.71	0,0106	9.42	0,0090	LR
entre 12-13-14	2	126	54.27	<.0001	108.54	<.0001	LR

Cuadro C 29. Análisis factorial de las diferencias de las medias de mínimos cuadrados de los extractos evaluados en el Experimento 2. Evaluación 72 horas posteriores a la inoculación. La Rita, Pococí. 2010.

Effect	Planta	disolv	Planta	disolv	Estimado	Error estándar	Chi-Square	Pr > ChiSq
Planta	Higueri		HombreG		9.6167	14395.07	0,00	0,9995
Planta	Higueri		MadNegr		-0,2573	0,1996	1.66	0,1973
Planta	Higueri		Pichich		0,2232	0,2027	1.21	0,2708
Planta	HombreG		MadNegr		-9.8740	14395.07	0,00	0,9995
Planta	HombreG		Pichich		-9.3935	14395.07	0,00	0,9995
Planta	MadNegr		Pichich		0,4805	0,2071	5.38	0,0203
disolv		Acetato		Hexan	-7.1481	10796.30	0,00	0,001
disolv		Acetato		Metan	-5.8842	10796.30	0,00	0,9996
disolv		Hexano		Metan	1.2639	0,1992	40,25	<.0001

ANEXO D Desglose de costos del proyecto

Cuadro D1. Costos de implementación y materiales del proyecto, por etapas. La Rita, Pococí. 2010.

Rubro	Unidad	Cantidad	Precio \$ USD	Total \$ USD
Extracción de compuestos biocidas *				
Metanol acs	l	8	2,38	38,00
Hexano acs	l	8	3,38	54,00
Acetato de etilo acs	l	8	11,50	184,00
Evaluación <i>in vitro</i> de extractos sobre <i>R. similis</i>				
Cámara de cultivo de células		20	5,00	100,00
<i>R. similis</i> en discos de zanahoria	Indv	250	2,00	500,00
Total				876,00

* Los disolventes utilizados presentan un porcentaje de recuperación cercano al 70%, por lo que fueron reutilizados en las repeticiones realizadas en la etapa de extracción.