

**Instituto Tecnológico de Costa Rica
Universidad Nacional
Universidad Estatal a Distancia**

Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo



**ESTUDIO POBLACIONAL Y ALTERNATIVAS DE
CONTROL PARA EL NEMATODO NODULADOR EN
TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN LA ZONA
OCCIDENTAL DE COSTA RICA**

**Tesis sometida a consideración del tribunal evaluador como
requisito para optar el grado de Doctor en Ciencias Naturales
para el Desarrollo, con énfasis en Sistemas de Producción
Agrícola**

Joaquín Durán Mora.

**Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica
Junio 2018**

**Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR)
Universidad Nacional (UNA)
Universidad Estatal a Distancia (UNED)**



**ESTUDIO POBLACIONAL Y ALTERNATIVAS DE CONTROL PARA EL
NEMATODO NODULADOR EN TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN LA
ZONA OCCIDENTAL DE COSTA RICA**

**Trabajo de graduación sometido a consideración del tribunal
evaluador como requisito para optar el grado de Doctor en
Ciencias Naturales para el Desarrollo, con énfasis en Sistemas de
Producción Agrícola**

Joaquín Durán Mora

**Director
Dr. Tomás de Jesús Guzmán Hernández**

**Cartago, Costa Rica
Junio 2018**

**Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR)
Universidad Nacional (UNA)
Universidad Estatal a Distancia (UNED)**

TEC | Tecnológico
de Costa Rica

UNA
UNIVERSIDAD
NACIONAL
COSTA RICA


UNED
UNIVERSIDAD ESTATAL A DISTANCIA
Institución Benemérita de la Educación y la Cultura

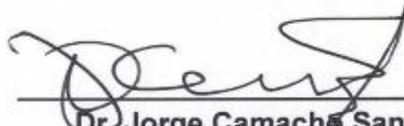
JOAQUIN DURAN MORA

TRIBUNAL EXAMINADOR


Dr. Cristian Moreira Segura, quien preside

Representante Dirección Postgrado del Instituto Tecnológico de Costa Rica


Dr. Tomás de Jesús Guzmán Hernández
Director de Tesis


Dr. Jorge Camacho Sandoval
Asesor


Dr. Ricardo Piedra Naranjo
Asesor


Dr. Freddy Araya Rodríguez
Coordinador del DOCINADE

Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Junio 2018

AGRADECIMIENTOS

“Nada es fácil”, situación que al inicio de esta meta que recién cumplo, plasmé muy claramente ya que en la vida tanto personal, familiar y profesional se presentan tropiezos, que, con la ayuda del Creador y mucha gente involucrada, pudieron ser solventados poco a poco.

Son muchas personas e instituciones que se vieron involucradas para poder concluir esta tarea, dura de pensar, dura de trabajar, dura de desarrollar, dura de ejecutar, pero, al fin y al cabo, concluida.

Mis más sinceros agradecimientos a:

El Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo (DOCINADE), el cual me permitió que junto a mi grupo generacional del 2011 llegáramos para iniciar este proceso de superación personal.

Al convenio formado por el Instituto Tecnológico de Costa Rica, la Universidad de Nacional de Costa Rica (UNA), la Universidad Estatal a Distancia de Costa Rica (UNED), en la representación de los profesores y funcionarios, que mediante su amistad, carisma, aprendizajes, enseñanzas y consejos colaboraron de alguna manera para llegar a cumplir esta meta.

Al Dr. Tomás de Jesús Guzmán Hernández, como asesor principal de esta investigación, agradecido por su confianza, constancia para iniciar estos estudios, el apoyo y seguimiento dedicado para que la ejecución y conclusión de esta propuesta pudiera ser terminada.

De la misma manera, a los Doctores Ricardo Piedra Naranjo y Jorge Camacho Sandoval, que gracias por su tiempo y paciencia formaron parte como jurados y asesores en la revisión del documento final, logrando que la calidad técnica y científica fuera la idónea.

A las Doctoras Claudia Charpentier y Sayra Munguía que, con sus aportes gramaticales y redacción a la revisión general del documento final, se ha logrado la depuración necesaria para la calidad del mismo.

A mis compañeros docentes de la Escuela de Agronomía de la Sede San Carlos del ITCR, en especial a Carlos Ramírez Vargas por su apoyo desde el punto de vista de Ambientes Controlados, a Marlen Camacho Calvo, que, con su apoyo, sugerencias y contribuciones, en el apoyo estadístico, Ingrid Varela en la asistencia en el laboratorio de Nematología.

A los compañeros de promoción DOCINADE 2011, en especial a Fernando Ramirez, Steffany Orozco y Lilliana Piedra (UNA), Jaime Rivera y Luis Aguilera (México), María Fernanda Garrido, Corina Zambrano, Consuelo Sánchez y Jorge Villadiego (Colombia), Cristian Moreira, Daniel Perez, Willy Pineda, Alfonso Navarro, Johan Carvajal (ITCR), Zenón Gomel (Perú), Napoleón Blanco (Nicaragua).

A los Doctores Reyes Peña Santiago, catedrático y responsable del Laboratorio de Nematología de la Universidad de Jaén (España), así como Pablo Castillo Castillo, del Instituto de Agricultura Sostenible del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC, de Córdoba, España), y el Dr. Nahum Marbán Mendoza del Laboratorio de Nematología de la Facultad de Parasitología Agrícola de Universidad Autónoma Chapingo (México), a todos gracias por su confianza y colaboración brindada durante las pasantías profesionales realizadas en España y México.

Al productor de café, señor Luis Barrantes de Sarchí, que, con el aporte de facilitar la finca y las muestras de suelo, se alcanzó a realizar la investigación de invernadero.

A la Dirección de Proyectos de la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica, que con el apoyo económico de la propuesta de investigación “Diagnóstico, determinación de umbrales y dinámica

poblacional de *Meloidogyne* spp. en el cultivo del Tomate (*Lycopersicum esculentum*) en la Zona Central Occidental de Costa Rica, se logró el financiamiento para la investigación.

Al Programa de Movilidad entre Universidades Andaluzas (Salamanca, España) y Latinoamericanas AUIP (Asociación Universitaria Iberoamericana de Postgrado), y el Consejo Nacional para Investigaciones Científicas y Tecnológicas (MICIT-CONICIT) mediante el Fondo de Incentivos, por el financiamiento brindado para realizar las pasantías profesionales en España.

Al sistema de Becas del DOCINADE, que me permitió acceder por la posibilidad de terminar este proceso de superación personal y profesional.

DEDICATORIA

Quiero agradecer primeramente a Dios que con su mano protectora y guía espiritual ha sabido acompañarme hasta esta etapa final.

A mis padres Gladys y Bernardo (que de Dios gocen), que a pesar de los años que en cuerpo no han podido acompañarme por estos ciclos de enriquecimiento personal y profesional, pero que aún se mantienen en alma dándome apoyo espiritual para lograr que mi persona llegara hasta lo que soy hoy en día.

A mi familia, en la figura de mi esposa Gabi, mis hijas Adriana, Susana, Viviana y mi hijo Jose Mario, y a los nietitos, que a veces a pesar de los entreveros y circunstancias, estuvimos acompañados siempre desde los ratos sencillos, hasta los más dificultosos. Muchas gracias por marchar siempre al lado mío, protegiéndonos y manifestando el cariño necesario y esencial necesario en todos los momentos que hemos rodado juntos para culminar esta tarea hasta hoy en día.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	20
1.1 OBJETIVOS (General y Específicos)	25
Objetivo general	25
Objetivos específicos	25
2. REVISION DE LITERATURA	26
2.1 Género <i>Lycopersicum</i>	26
2.1.1 Características nutricionales	27
2.1.2 Cultivo del tomate	27
2.1.3 Aspectos Fitosanitarios del Tomate	28
2.1.4 Control de nematodos.....	28
2.2 Importaciones de plaguicidas en Costa Rica	29
2.3 Fitonematodos del cultivo de tomate.....	29
2.3.1 <i>Meloidogyne</i> spp. (Nematodo agallador).	30
2.3.1.1 Ubicación taxonómica de <i>Meloidogyne</i>	31
2.3.1.2 Características morfológicas de <i>Meloidogyne</i>	32
2.3.1.3 Ciclo de vida de <i>M. incognita</i>	33
2.3.1.4 Hábitos de alimentación.....	35
2.3.1.5 Factores que influyen en su desarrollo	36
2.3.2 Otros nematodos asociados al cultivo del tomate.....	37
2.3.2.1 <i>Pratylenchus</i> spp. (nematodo lesionador).....	37
2.3.2.2 <i>Helicotylenchus</i> spp. (nematodo de la hélice, nematodo de espiral)	39
2.4 Manejo de los Nematodos.....	42
2.5 Productos químicos naturales	50
2.6 Nematóxicos.....	52
3. MATERIALES Y MÉTODOS	57
3.1 Dinámicas poblacionales en campo.....	57
3.2 Muestreo de campo	59

3.3	Análisis de muestras en Laboratorio	59
3.3.1	Sintomatología radical	59
3.3.2	Análisis de muestras de raíces	60
3.3.3	Análisis de muestras de suelo	60
3.3.4	Identificación de nematodos	61
3.4	Dinámicas Poblacionales en Invernadero	61
3.4.1	Manejo agronómico del experimento	61
3.4.2	Determinación de la presencia y distribución del complejo de nematodos noduladores (<i>Meloidogyne</i> spp.).....	62
3.5	Manejo alternativo mediante productos biológicos y extractos naturales en invernadero.....	63
3.5.1	Obtención de los productos para la experimentación	63
3.5.1.1	Recolección y secado de muestras vegetales.....	63
3.5.1.2	Extracción de los aceites	63
3.5.1.3	Establecimiento de los experimentos en invernadero (Primera y segunda siembra)	65
3.5.1.4	Estimación de juveniles de <i>Meloidogyne</i>	67
3.5.1.5	Diseño experimental.....	68
3.6	Opciones de manejo alternativo mediante productos biológicos y extractos naturales en laboratorio	70
3.6.1	Obtención de los nematodos	70
3.6.2	Acondicionamientos de los nematodos	71
3.6.3	Aplicación de los tratamientos	71
3.6.3.1	Diseño experimental.....	72
3.6.4	Análisis Estadísticos	73
3.6.4.1	Dinámicas poblacionales.....	73
3.6.4.2	Mortalidad de <i>Meloidogyne</i> en laboratorio.....	74
4.	RESULTADOS Y DISCUSION	75
4.1.	Experimentación en campo.....	75
4.1.1	Sintomatología radical	75
4.1.2	Dinámicas poblacionales de <i>Meloidogyne</i> spp.	76

4.1.2.1	Primer muestreo, 1 mes después del trasplante	76
4.1.2.2	Segundo muestreo, 2 meses después del trasplante	77
4.1.2.3	Tercer muestreo, 3 meses después del trasplante	78
4.1.2.4	Cuarto muestreo, 4 meses después del trasplante	79
4.1.2.5	Quinto muestreo, 5 meses después del trasplante.....	80
4.1.2.6	Sexto muestreo, 6 meses después del trasplante	81
4.2.	Manejo alternativo mediante productos biológicos y extractos naturales en invernadero.....	82
4.2.1	Dinámicas poblacionales (Primera siembra).....	82
4.2.1.1	Primer y segundo muestreo, 43 y 65 días después del trasplante (ddt) 82	
4.2.1.2	Tercer muestreo, 119 días después del trasplante (ddt)	84
4.2.1.3	Cuarto muestreo, 138 días después del trasplante (ddt).....	88
4.2.1.4	Estimación de juveniles de <i>Meloidogyne</i> en raíces de tomate.	91
4.2.1.5	Producción de frutos de tomate (Primera siembra)	92
4.2.1.6	Pesos frescos y secos de plantas de tomate (Primera siembra).....	93
4.2.2	Dinámicas poblacionales (Segunda siembra).....	96
4.2.2.1	Primer y segundo muestreo, 33 y 69 días después del trasplante (ddt) 96	
4.2.2.2	Tercer muestreo, 88 días después del trasplante (ddt)	97
4.2.2.3	Cuarto muestreo, 115 días después del trasplante (ddt).....	100
4.2.2.4	Estimación de juveniles de <i>Meloidogyne</i> en raíces de tomate	103
4.2.2.5	Producción de frutos de tomate (Segunda siembra, en gramos)	104
4.2.2.6	Pesos frescos y secos de plantas de tomate (Segunda siembra)	105
4.3	Mortalidad de <i>Meloidogyne</i> mediante extractos naturales en condiciones de laboratorio	107
5.	CONCLUSIONES.....	110
6.	RECOMENDACIONES.....	111
7.	LITERATURA CONSULTADA.....	112
8.	ANEXOS.....	122

LISTA DE CUADROS

Número	Título	Página
Cuadro 1.	Ubicación, coordenadas, productores y grado de asocio de las fincas tomateras consideradas en la investigación. Costa Rica, 2012-2013.	59
Cuadro 2.	Sintomatología radical del cultivo utilizando la evaluación del índice de severidad de nódulos (Adaptado de Barker 1985).	60
Cuadro 3.	Fechas de trasplante de plántulas, inoculaciones de nematodos, aplicación de tratamientos, muestreos destructivos. Primera y segunda siembra de plantas de tomate en condiciones de invernadero. San Carlos, Alajuela. Agosto 2014-Junio 2015.	65
Cuadro 4.	Descripción de los tratamientos en invernadero Primera Siembra. Agosto –Diciembre 2014. San Carlos, Alajuela. 2014.	66
Cuadro 5.	Descripción de los tratamientos en invernadero Segunda Siembra. Noviembre 2014-Junio 2015. San Carlos, Alajuela. 2015.	66
Cuadro 6.	Tratamientos aplicados en el experimento de mortalidad de <i>Meloidogyne</i> en condiciones controladas de laboratorio. Julio 2014-Junio 2015. San Carlos, Alajuela. 2015.	72
Cuadro 7.	Porcentaje de agallas radicales asociadas a <i>Meloidogyne</i> respecto a raíces sanas en el cultivo del tomate, en plantaciones con y sin asocio con café. Costa Rica, 2012-2013.	76
Cuadro 8.	Escala de estimación de <i>Meloidogyne</i> en función de la fecha de siembra (individuos en 25 gramos de raíces) en tomate en condiciones de invernadero. Primera Siembra. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2014.	92
Cuadro 9.	Pesos finales de frutos de tomate bajo distintos tratamientos en condiciones de invernadero. Primera Siembra. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2014.	93

Cuadro 10. Pesos frescos y secos (tallos, hojas y raíces de tomate), en cuatro fechas de muestreo, bajo distintos tratamientos en condiciones de invernadero. Primera Siembra. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2014.	95
Cuadro 11. Escala de estimación de <i>Meloidogyne</i> en función de la fecha de siembra (individuos en 25 gramos de raíces) en tomate en condiciones de invernadero. Primera Siembra. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2014.	104
Cuadro 12. Pesos finales de frutos de tomate bajo distintos tratamientos en condiciones de invernadero. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2015.	105
Cuadro 13. Pesos frescos y secos (tallos, hojas y raíces de tomate), en cuatro fechas de muestreo, bajo distintos tratamientos en condiciones de invernadero. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2015.	106
Cuadro 14. Porcentajes de mortalidad de juveniles de <i>Meloidogyne</i> bajo distintos tratamientos (50 ppm) en condiciones de laboratorio. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2015 (Anexos 5, 6, 7 y 8).	107
Cuadro 15. Porcentajes de mortalidad de juveniles de <i>Meloidogyne</i> bajo distintos tratamientos (100 ppm) en condiciones de laboratorio. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2015 (Anexos 5, 6, 7 y 8).	109

INDICE DE FIGURAS

Número	Título	Página
Figura 1.	Ciclo de Vida del nematodo agallador del género <i>Meloidogyne</i> (Adaptado de Agrios 2005).	35
Figura 2.	Extracción con Soxhlet en el momento en que se produce el sifonamiento del solvente (Según Núñez 2008).	64
Figura 3.	Placa para Microfloculación de Cristal, en la cual se observan las 12 cavidades y el “pescador” utilizado para el traspaso de los nematodos.	71
Figura 4.	Cantidad de individuos de <i>Meloidogyne</i> (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Un mes después del trasplante (30 días DDT). Setiembre 2012.....	77
Figura 5.	Cantidad de individuos de <i>Meloidogyne</i> (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Dos meses después del trasplante (62 días DDT). Octubre 2012.....	78
Figura 6.	Cantidad de individuos de <i>Meloidogyne</i> (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Tres meses después del trasplante (98 días DDT). Noviembre 2012.	79
Figura 7.	Cantidad de individuos de <i>Meloidogyne</i> (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Cuatro meses después del trasplante (122 días DDT). Diciembre 2012.	79
Figura 8.	Cantidad de individuos de <i>Meloidogyne</i> (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Cinco meses después del trasplante (169 días DDT). Enero 2013.....	80
Figura 9.	Cantidad de individuos de <i>Meloidogyne</i> (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Seis meses después del trasplante (198 días ddt). Febrero 2013.	81

- Figura 10. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíz de tomate en condiciones de invernadero. 43 y 65 días después del trasplante (ddt). Agosto y Setiembre 2014. .83
- Figura 11. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 119 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014. 85
- Figura 12. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíces de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 119 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014. 87
- Figura 13. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 138 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014. 89
- Figura 14. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíces de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 138 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014. 90
- Figura 15. Escala de Juveniles de *Meloidogyne* en raíces de tomate. Primera Siembra. Diciembre 2014.....91
- Figura 16. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de tomate en condiciones de invernadero. 33 y 69 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014 y Enero 2015.....97
- Figura 17. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 88 días después del trasplante (ddt). Febrero 2015.98
- Figura 18. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíces de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 88 días después del trasplante (ddt). Febrero 2015.99
- Figura 19. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 115 días después del trasplante (ddt). Marzo 2015.101

Figura 20. Cantidad de individuos de <i>Meloidogyne</i> (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíces de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 115 días después del trasplante (ddt). Marzo 2015.	102
Figura 21. Escala de Juveniles de <i>Meloidogyne</i> en raíces de tomate. Segunda Siembra. Marzo 2015.	103

RESUMEN

Entre los años 2012 y 2015, se evaluaron los extractos naturales de chile picante (*Capsicum annun*), reina de la noche (*Brugmansia*), extracto vegetal formulado de flor de muerto (*Tagetes patula*) (80 SL), un producto comercial a base de algas marinas y ácidos nucleicos (0,55 SL), y el químico comercial (Oxamyl 24 SL), con el propósito de determinar sus efectos nematocidas sobre *Meloidogyne* spp. en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) variedad JR. La investigación se realizó en fincas comerciales, en invernadero y laboratorio, en la zona occidental de Costa Rica. Las investigaciones realizadas en campo fueron en plantaciones de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en asocio con café (*Coffea arabiga*, Caturra). En invernadero se realizaron dos siembras alternadas, mediante un diseño al azar con arreglo trifactorial, se inocularon plántulas de tomate con 100 Juveniles (J₂) y huevos de *Meloidogyne*, y posteriormente fueron tratadas con los extractos antes mencionados, además del químico comercial oxamil y un testigo absoluto (agua). En esta etapa de invernadero se realizaron muestreos en la primera siembra (43, 65, 119 y 138 días después de trasplante (DDT), y en la segunda siembra (33, 69, 88 y 115 DDT). En ambas siembras se midieron las variables de peso parte aérea de la planta, peso raíces, pesos cosecha final, porcentaje de agallamiento y población de nematodos fitoparásitos.

En el laboratorio, J₂ de *Meloidogyne* fueron expuestos en contacto con los extractos naturales para cuantificar la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas después de inoculados los tratamientos (HDDI).

En las plantaciones de tomate en asocio con café se identificaron en mayor cantidad los nematodos noduladores *Meloidogyne*, el nematodo lesionador *Pratylenchus*, y el nematodo de la espiral *Helicotylenchus* y en menor cantidad *Criconemoides* y *Aphelenchoides*. Los niveles de agallas en las parcelas con tomate asociadas con café fueron del 90%, mientras que en las áreas de tomate en monocultivo no se presentaron agallas.

En invernadero, los géneros principales que se identificaron y cuantificaron fueron *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*. Al final de la primera siembra, los tratamientos que presentaron menores poblaciones de *Meloidogyne* en suelo fueron el testigo químico comercial (ambas dosis), y los extractos de reina de la noche (50 ppm), y chile picante (100 ppm y 50 ppm). En raíces, el extracto de tagetes (ambas dosis), y reina de la noche (50 ppm), presentaron menores poblaciones de *Meloidogyne*. Los pesos frescos de raíces más altos al momento de la cosecha final lo presentaron chile picante, y el testigo químico comercial (ambas dosis). En la segunda siembra, los niveles de poblaciones más bajos en suelo fueron obtenidos con el testigo químico comercial (15 cc/litro) y chile picante (100 ppm). A los 88 DDT, los tratamientos con menores dosis (testigo químico comercial, chile picante y extracto de algas), presentaron los mayores pesos de raíces, mientras que en hojas (115 DDT), los tratamientos tagetes y chile picante (dosis altas), presentaron mayores pesos frescos. Las poblaciones obtenidas de *Meloidogyne* en la investigación fueron muy superiores que el umbral de acción determinado por Talavera (2003).

En condiciones *in vitro*, el extracto de tagetes y el testigo químico comercial (50 ppm), presentaron las mortalidades más altas de individuos de *Meloidogyne*, mientras que el extracto de algas, presentó la menor mortalidad (10,6%). En dosis de 100 ppm, el testigo químico comercial mostró la total mortalidad de los individuos durante las 3 evaluaciones, seguido de los extractos de tagetes (60,3%) y reina de la noche (44,2%).

Estos resultados muestran a los extractos de tagetes, el chile picante y la reina de la noche como opciones para el manejo alternativo fitosanitario de nematodos en tomate.

Palabras clave: dinámica poblacional, extractos vegetales, *Meloidogyne*, *Solanum lycopersicum*

ABSTRACT

Between 2012 and 2015, the natural extracts of hot pepper (*Capsicum annun*), queen of the night (*Brugmansia*), vegetal extract formulated of flower of dead (*Tagetes patula*) (80 SL), a commercial product based on marine algae and nucleic acids (0.55 SL), and the conventional chemical (Oxamyl 24 SL), with the purpose of determining its nematicidal effects on *Meloidogyne* spp. in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) variety JR. The research was conducted in commercial farms, in greenhouses and laboratories, in the western zone of Costa Rica. The investigations carried out in the field were in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plantations in association with coffee (*Coffea arabiga*, Caturra). In the greenhouse two alternating sowings were carried out, by means of a random design with trifactorial arrangement, tomato seedlings were inoculated with 100 Juveniles (J₂) and *Meloidogyne* eggs, and later they were treated with the afore mentioned extracts, in addition to the conventional chemical and a absolute treatment (water). In this greenhouse stage, samplings were made in the first sowing (43, 65, 119 and 138 days after transplanting (DAT), and the second planting (33, 69, 88 and 115 DAT). In both sowings the variables: weight aerial part of the plant, weight roots, final harvest weights, percentage of galling and population of phytoparasitic nematodes were measured. In the laboratory, *Meloidogyne*'s J₂ were exposed in contact with natural extracts to quantify mortality at 24, 48 and 72 hours after inoculated treatments (hait).

In tomato plantations in association with coffee, the nodular nematodes *Meloidogyne*, the lesion nematode *Pratylenchus*, and the spiral nematode *Helicotylenchus* were identified in greater quantity, and in smaller amounts *Criconemoides* and *Aphelenchoides*. The levels of galls in the tomato plots associated with coffee were 90%, while in the monoculture tomato areas there were no galls.

In the greenhouse, the main genera that were identified and quantified were *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*. At the end of the first sowing, the

treatments that showed the lowest *Meloidogyne* populations in the soil were the commercial chemical control (both doses), and the extracts of the queen of the night (50 ppm), and hot pepper (100 ppm and 50 ppm). In roots, the extract of tagetes (both doses), and queen of the night (50 ppm), presented lower populations of *Meloidogyne*. Fresh weights of higher roots at the time of the final harvest were presented by hot pepper, and the conventional chemical (both doses).

In the second sowing, the levels of the lowest populations in soil were obtained with the conventional chemical (15 cc/liter) and hot pepper (100 ppm). At 88 DAT, treatments with lower doses (conventional chemical, hot pepper and seaweed extract), presented the highest root weights, while in leaves (115 DAT), the tagetes and hot pepper (high doses) treatments, they presented higher fresh weights. The populations obtained from *Meloidogyne* in the research were much higher than the action threshold determined by Talavera (2003).

Under in vitro conditions, the extract of tagetes and the conventional chemical (50 ppm), presented the highest mortalities of *Meloidogyne* individuals, while the algae extract presented the lowest mortality (10.6%). In a dose of 100 ppm, the conventional chemical showed the total mortality of the individuals during the 3 evaluations, followed by the extracts of tagetes (60.3%) and queen of the night (44.2%).

These results show the extracts of tagetes, hot pepper and queen of the night as options for the alternative phytosanitary management of nematodes in tomato.

Key words: population dynamics, plant extracts, *Meloidogyne*, *Solanum lycopersicum*.

1. INTRODUCCIÓN

En Costa Rica, como en el resto de América Latina, el tomate (*Solanum lycopersicum* L., sin. *Lycopersicum esculentum* Mill.) es un cultivo de gran importancia alimenticia, tanto a nivel económico como a nivel de la sociedad. El tomate es un fruto que por su sabor se consume tanto fresco como procesado. Contiene vitaminas A (provitamina A, o beta-caroteno), C y E (en consumo fresco) y licopeno (colorante natural) de acción antioxidante, así como sales minerales.

En la actualidad se ha incrementado su consumo por la posibilidad y aceptación en el mercado de exportación, generando una gran cantidad de empleos en zonas rurales y alejadas del gran Valle Central, por lo que es fuente de ingresos para miles de agricultores y de divisas para Costa Rica.

Los beneficios económicos dependen del control que se haga de enfermedades y plagas. Los fitonematodos son organismos que causan daños de consideración en áreas agrícolas por la magnitud de las pérdidas que ocasionan y por la dificultad de su combate. En general, las poblaciones de fitonematodos deben ser cuantificadas, tratando de asociar la dinámica poblacional, con los cambios poblacionales relacionados con parámetros biológicos (tamaño, edad, sexo), mecanismos y factores ambientales que regulan las poblaciones.

Los estudios de Álvarez *et al* (2016), señalan que el cultivo del lulo (*Solanum quitoense* Lam.), frutal andino de gran importancia económica en Colombia, ha sufrido una evidente reducción en las áreas sembradas y rendimientos, debido al ataque de patógenos como el nematodo *Meloidogyne* spp., ocasionando pérdidas de hasta 50%.

La determinación de los niveles críticos de fitonematodos y los umbrales de acción, permite contar con varios parámetros para un manejo adecuado de las poblaciones, en razón de un manejo más sostenible y acorde al ambiente. La complejidad de los problemas fitosanitarios que afectan el sistema radical de la

planta, junto con las dificultades de identificación de los fitonematodos, limitan un manejo adecuado y eficiente, generando acciones y medidas que requieran la aplicación de diversas estrategias, de tipo preventivo y control integrado.

Una identificación precisa de los nematodos presentes en un agroecosistema es esencial para desarrollar cualquier estudio fitosanitario, y es básica para comprender el efecto que causan los fitonematodos en los cultivos y el entorno donde se desarrollan. La correcta identificación de las especies de *Meloidogyne* es básica para establecer las estrategias de manejo y control adecuadas.

En Costa Rica, la identificación de fitonematodos, particularmente del género *Meloidogyne*, se ha realizado tradicionalmente sólo hasta nivel de género debido a las limitaciones en relación a la taxonomía tradicional y a la falta de personal capacitado para llevarla a cabo. Además, esta identificación es realizada sólo por unos pocos laboratorios de análisis especializados, lo que dificulta la detección rápida y efectiva de estos patógenos a nivel nacional.

Por otro lado, todos los cultivos agrícolas son afectados por fitonematodos en distinto grado, y sus efectos causan graves daños económicos al disminuir la productividad de los mismos. Algunas especies de *Meloidogyne* detectadas en Costa Rica son *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. salasi* y más recientemente *M. fallax* y *M. chiwoodi*, éstas últimas son especies que se supone han ingresado al país con material vegetativo contaminado. A pesar de la presencia de estos nematodos en una gran variedad de plantas hospederas de Costa Rica y del daño potencial que ocasionan, lo cierto es que la información cuantificable de los daños que provocan prácticamente es inexistente. En el periodo 2000-2004, el país importó unas 4000 toneladas de nematicidas de ingrediente activo (ia), con el fin de combatir muchos de los problemas causados por nematodos en sistemas agrícolas de Costa Rica (Ramírez 2011). Desde el año 2002 se sobrepasó la barrera de los 10 millones de kilogramos de ingrediente activo por año, llegando en el 2008 a importarse más de 13 millones de kilogramos de ingrediente activo, disminuyendo sus importaciones en el año siguiente de cerca de un millón de kilogramos de

ingrediente activo. Este volumen de importación entre el periodo 2005-2009 aumentó considerablemente a un acumulado de 8317 toneladas (Bravo *et al.* 2015).

Los nematodos noduladores del género *Meloidogyne* comprenden más de 80 especies diferentes con un amplio rango de plantas huésped (más de 5.000 especies de plantas) y una gran distribución a nivel mundial (Karssen y Moens 2006), y constituyen uno de los grupos de agentes fitopatógenos de mayor importancia económica en todo el mundo. Algunas de las especies del género *Meloidogyne* están ampliamente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales, tal es el caso de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*. Otras en cambio, se distribuyen en regiones más frías (*M. chitwoodi*, *M. fallax*, y *M. hapla*). Por sus características morfológicas muy similares, las especies de *Meloidogyne* presentan problemas en el momento de la identificación, incluso a especialistas en Nematología.

La determinación de la abundancia de estos organismos lleva a definiciones que deben considerarse en la práctica cultural. Una verdadera plaga es aquella que aumenta su densidad hasta niveles que tienen un impacto económico importante. El nivel de daño económico es la densidad a la cual el costo del combate es igual al beneficio obtenido por éste. El umbral económico corresponde a la densidad en la cual las medidas de combate deben aplicarse, para evitar que la plaga alcance el Nivel de Daño Económico (Stern *et al.* 1959). La densidad mínima implicada en el nivel económico de daño se debe calcular a partir de la relación rendimiento/densidad de la plaga. Esto indica cómo se afecta el rendimiento por cada unidad de densidad de plaga (Hruska y Rosset 1987). En este estudio se consideró fundamental contar con valores estimados de decisión, para que los distintos productores logren un manejo más sostenible del cultivo, antes de recurrir a las prácticas normales de manejo de nematodos, tales como el uso de nematicidas químicos sintéticos que puedan afectar la economía y el medio ambiente.

La complejidad de las patologías ocasionadas por nematodos, conlleva en muchos casos, al empleo de técnicas que de por si no son las más apropiadas, con

la consecuente pérdida en dinero y efectividad por aplicaciones no adecuadas, provocando además daños ambientales.

El estudio de los nematodos debe efectuarse bajo el Manejo Integrado de Plagas (MIP), que involucra el uso combinado, secuencial o simultáneo de todas las medidas de control disponibles. Pero en muchos de los casos, implementar y establecer estos programas para promover cultivos más sanos no es una tarea muy sencilla (Jiménez Díaz *et al.* 2000). Esta toma de decisiones debe estar basada en el conocimiento e información disponible acerca de las características del agroecosistema y de los nematodos que se interrelacionan con el cultivo y el medio. Algunas de las estrategias de manejo integrado de fitonematodos, buscan reducir las poblaciones de la plaga a niveles por debajo del nivel de daño económico, punto en el cual la plaga y el cultivo pueden convivir. Estos niveles pueden reducirse mediante rotación de cultivos, empleo de cultivos trampa, uso de cultivares resistentes, y en el caso extremo, el uso de productos fitosanitarios con la consigna que ocasionen un bajo impacto ambiental.

La complejidad de las enfermedades causadas por nematodos, al igual que todas aquellas que afectan al sistema radical de la planta dificulta el control eficiente de éstas y determinan que las acciones y medidas más adecuadas para ello deban ser de naturaleza preventiva y requieran la aplicación de estrategias de control integrado. El Control Integrado de Enfermedades (CIE), implica la utilización combinada, secuencial o simultánea de todas las medidas de control disponibles. El establecimiento de programas CIE y MIP para promover la sanidad de los cultivos es complejo (Jiménez Díaz *et al.*, 2000). En cualquier caso, la toma de decisiones debe estar basada en el conocimiento e información disponible acerca de las características del patosistema en cuestión y de las especies de nematodos fitopatógenos (*Meloidogyne* spp.) que lo componen.

Así, el éxito en el manejo de los fitonematodos, necesita la implementación de cualquiera de las estrategias de manejo conocidas, pero deben estar basadas en el conocimiento de la etiología y el diagnóstico rápido y correcto del fitonematodo.

Por ello, en esta investigación se efectuó el diagnóstico, determinación, así como la distribución de los niveles poblacionales de *Meloidogyne* spp. que afectan al cultivo del tomate en Costa Rica, en la Región Central Occidental.

El conocimiento de los niveles poblacionales permitió proponer las pautas para un manejo adecuado de los nematodos, de la manera más sostenible y amigable con el ambiente, que sea aplicable a cualquier zona de establecimiento del cultivo en el país.

La implementación de la propuesta incluyó visitas frecuentes al campo a las regiones seleccionadas, con la finalidad de recolectar el material vegetal necesario (principalmente raíces) de plantas hospederas de *Meloidogyne*. Los nematodos se extrajeron de las muestras mediante protocolos de laboratorio establecidos tales como: extracción de juveniles y adultos mediante la técnica de centrifugación en solución azucarada y el embudo de Bearmann.

Se estableció como parámetro el nivel de tolerancia poblacional de nematodos permitido en el cultivo en las primeras etapas fenológicas, y los datos de las cantidades poblacionales de nematodos que afectan el desarrollo del cultivo, con el fin de ser más riguroso con el manejo fitosanitario a partir de la reducción de nematicidas químicos, o si puede usar tecnologías más flexibles, alternando o sustituyendo los químicos por productos de origen natural o biológico, logrando la transición de un cultivo dependiente de nematicidas químicos, a un cultivo sostenible.

1.1 OBJETIVOS (General y Específicos)

Objetivo general

Determinar la dinámica poblacional y alternativas de control para el nematodo nodulador en tomate (*Solanum lycopersicum*) en la zona occidental de Costa Rica

Objetivos específicos

- 1) Establecer dinámicas poblacionales mediante la estimación y cuantificación de los niveles poblacionales de *Meloidogyne* spp. y otras especies de nematodos, en el cultivo de tomate en la Zona Central Occidental de Costa Rica.
- 2) Determinar el nivel daño de las poblaciones de *Meloidogyne* spp., en el cultivo de tomate en la Zona Central Occidental de Costa Rica.
- 3) Evaluar opciones de manejo alternativo mediante productos biológicos y extractos naturales, a nivel de laboratorio e invernadero.

Hipótesis

H_0 = El uso de productos biológicos y extractos naturales no ejercen control contra los nematodos agalladores comparado con el testigo químico comercial a base de nematicidas sintéticos.

H_1 = El uso de productos biológicos y extractos naturales ejercen el mismo control contra los nematodos agalladores comparado con el testigo químico comercial a base de nematicidas sintéticos.

2. REVISION DE LITERATURA

Dentro de los productos hortícolas que forman parte de la canasta básica del costarricense, el tomate es una de las hortalizas con mayor relevancia económica y social y forma parte de los principales ingresos para un grupo de agricultores, y además es una fuente de divisas para Costa Rica (Durán 2011).

En la familia Solanaceae, se encuentran los cultivos de tomate (*Lycopersicum* sp.), chile (*Capsicum* sp.), tabaco (*Nicotiana tabacum*), y plantas como la reina de la noche (*Brugmansia suaveolens*), *Datura stramonium*, *Hyoscyamus niger* y *Lycium barbarum*. Incluye varias plantas melíferas, que tienden a producir abundantes cantidades de néctar, que es una solución acuosa compleja, que contiene azúcares en mayor cantidad, y además aminoácidos, proteínas, flavonoides y alcaloides (Kerchner *et al.* 2015). El néctar de las especies de tabaco contiene el alcaloide nicotina, mientras que el néctar de *B. suaveolens*, *D. stramonium*, *H. niger* y *L. barbarum* contienen escopolamina. Las concentraciones de los alcaloides presentes en los néctares de la mayoría de las especies solanáceas pueden causar disuasión en las abejas melíferas, y el néctar de *N. rustica* y *N. tabacum* se considera tóxico para las abejas (Kerchner *et al.* 2015).

2.1 Género *Lycopersicum*

El origen del tomate se localiza en la región andina, extendida desde el sur de Colombia hasta el norte de Chile, lo que a la postre se fue dispersado al resto del continente americano, a lugares como México y Guatemala donde fue domesticado, lugares donde en la actualidad se encuentra el mayor acervo de genes. Cerca del siglo XVI, los españoles y portugueses propagaron el uso del tomate a Oriente Medio y África, pasando luego a Europa y otros países asiáticos (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria 2009).

2.1.1 Características nutricionales

El tomate posee carotenoides con efecto antioxidante de mayor actividad biológica dentro del organismo, y entre sus componentes principales se encuentra el licopeno, que comprende el 90% de los carotenoides totales; otros componentes presentes son la vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E, ácido fólico, flavonoides, potasio, fibras y proteínas (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria 2011).

2.1.2 Cultivo del tomate

El cultivo del tomate es la hortaliza más cultivada y la de mayor valor. Asia aporta aproximadamente la mitad de la producción mundial, siendo consumida en fresco (pulpa y jugo) y procesado, estimándose en 108 millones de toneladas métricas, y un rendimiento promedio de 36 ton/ha. Entre los mayores productores mundiales de pasta de tomate y procesados se encuentran Estados Unidos seguido por Italia, Turquía, Grecia y China (Facultad de Ciencias Agronómicas de Chile 2009).

En condiciones de Costa Rica, es factible disponer de fruta fresca durante todo el año, dándose un consumo per cápita cercano a los 20 kg por año. Este cultivo genera alrededor de 5.000 empleos directos y unos 20.000 empleos indirectos, distribuidas las explotaciones tomateras a campo abierto en un 90% y el resto en condiciones de ambientes protegidos o invernaderos. Costa Rica produce anualmente alrededor de 58 mil toneladas métricas de fruta, generando cerca de ¢29.300 millones (López 2012).

En nuestro país la explotación tomatera a campo abierto cuenta con un promedio de producción que supera las 50 toneladas de cultivo por hectárea. Esta producción en condiciones de invernadero (ambiente controlado) el promedio de producción ronda las 150 toneladas por hectárea. Ambas explotaciones se distribuyen entre las diferentes regiones productoras del país, con áreas sembradas en la región Central Occidental del 65%, seguido por las regiones Central Oriental (18%), Brunca (12%) y Central Sur (5%) (López 2012).

Según datos de López (2012), el área utilizada en el desarrollo de esta actividad en los últimos años comprende 944,60 hectáreas compuestas por alrededor de unos 920 productores. El costo de producción de una hectárea de tomate a campo abierto ronda los ₡12 millones mientras que una hectárea de tomate bajo ambiente protegido ronda los ₡21 millones, variando según el nivel tecnológico de la infraestructura, manejo, entre otras cosas.

2.1.3 Aspectos Fitosanitarios del Tomate

El cultivo de tomate es hospedero de una gran cantidad de plagas y enfermedades de importancia económica, siendo el nematodo agallador de las raíces *Meloidogyne incognita*, el de mayor importancia por los daños que produce. *Meloidogyne* presenta un amplio rango de hospederos y distribución a nivel mundial con alrededor de 3.000 especies de plantas hospedantes en climas templados, tropicales, subtropicales y mediterráneos (Solano 2014, citado por Curimilma 2015).

Este nematodo daña a las plantas al debilitar las puntas de las raíces y al inhibir su desarrollo o estimular una formación radicular excesiva, pero principalmente destruye el sistema radicular debido a que forma agallas, las cuales privan a las plantas de sus nutrientes y agua, reduciendo la producción de los cultivos (Agrios 2005). Los síntomas característicos de este nematodo son achaparramiento, falta de vigor, deficiencias nutricionales y marchitamiento (Zaqui *et al.* 2000, citado por Salazar y Guzmán 2014).

Algunos autores consideran que los ataques de los nematodos a nivel radical generan heridas expuestas y rupturas, que provocan en la planta una predisposición importante en la aparición de enfermedades fúngicas y bacteriales (Powell citado por Sasser y Taylor 1983).

2.1.4 Control de nematodos

Para el control de los nematodos, en Costa Rica se han empleado en forma intensiva los nematicidas de origen químico, con los consecuentes riesgos ambientales y contaminaciones derivado por las constantes aplicaciones, a pesar

que muchos de estos agroquímicos han sido prohibidos o restringidos en la agricultura de otros países. Sin embargo, estos productos son ineficaces en altas poblaciones además de eliminar la biodiversidad del ecosistema del suelo y generar resistencia en la plaga a largo plazo (Castro *et al.* 2011).

2.2 Importaciones de plaguicidas en Costa Rica

Costa Rica para el período de 1977 a 2006 importó un total de 184,817 toneladas de plaguicidas y la cantidad de plaguicidas importada por hectárea cultivada en Costa Rica aumentó 3.14 veces y pasó de 8.21 kg de ingrediente activo (i.a.) en 1977 a 25.78 kg (i.a.) en 2006. El porcentaje de importación de agroquímicos en este periodo se distribuyó de la siguiente manera los fungicidas con 46% del total, seguido por los herbicidas con 29%, los insecticidas-nematicidas con un 16% y fumigantes con un 8% (Ramírez *et al.* 2009).

Para el año 2008 el país contaba con una población de 4,579,000 habitantes y aplicaba 2.9 kg de ingrediente activo (i.a.) de plaguicidas por persona y cada hectárea de cultivo recibió en promedio 30 kg (i.a.) de plaguicidas (Ramírez 2010). Los nematicidas más utilizados en el país son terbufos, etoprofos y carbofuran y se encuentran en la lista de los 12 plaguicidas restringidos en la última Reunión del Sector Salud de Centroamérica y República Dominicana; estos fueron limitados en Costa Rica y deben venderse únicamente bajo receta profesional, según decretos de emitidos a finales de 2007 e inicios de 2008 (Ramírez *et al.* 2009).

En la actualidad, existe una enorme discusión por el uso de productos químicos, ya que cada vez son más los consumidores que demandan alimentos libres de agroquímicos y se generan políticas internacionales para reducir las fuentes de contaminación ambiental (Pakeerathan *et al.* 2009, citados por Castro *et al.* 2011).

2.3 Fitonematodos del cultivo de tomate

La importancia económica de muchas especies de nematodos aún se desconoce, sin embargo, en la actualidad se han descrito alrededor de unas 25.000

especies de nematodos de las cuáles unas 4000 especies son fitófagas, también se estima que las pérdidas atribuibles a nematodos fitoparásitos está en el orden de \$100 billones anuales, lo que equivale aproximadamente entre 12% y 15% de pérdida del total de la producción mundial (Esquivel y Peraza 2010).

En la actualidad Costa Rica no cuenta con datos de pérdidas agrícolas debido a los nematodos, sin embargo, su importancia como agentes patógenos se deduce de las cantidades importadas anualmente de nematicidas, las cuales superaron las 4700 toneladas de ingrediente activo en el periodo 2000-2004 (Ramírez 2006, citado por Esquivel y Peraza 2010).

En nuestro país, la identificación de nematodos, se ha realizado sólo hasta nivel de género debido a las limitaciones de la taxonomía y la falta de personal capacitado para ejecutarla. En la realización de un estudio fitosanitario la identificación de los nematodos presentes en el agroecosistema es primordial para así comprender el efecto que causan los mismos en los cultivos y el entorno donde se desarrollan. La correcta identificación de las especies de fitonematodos, así como la determinación de los niveles críticos de los mismos junto con sus umbrales de acción permite contar con varios parámetros para un manejo adecuado de los nematodos, en razón de establecer las estrategias de manejo y control adecuadas, buscando un manejo más sostenible (Durán 2011).

2.3.1 *Meloidogyne* spp. (Nematodo agallador).

El género *Meloidogyne* incluye los nematodos formadores de agallas, y pertenecen a un grupo relativamente pequeño, pero de mucha importancia como patógenos obligados de plantas. Típicamente se reproducen y se alimentan dentro del tejido radical e inducen la formación de agallas pequeñas a grandes. Su hábito endoparásito y forma de alimentación, alteran la fisiología normal de la planta y causan una reducción y calidad del cultivo, motivo por lo que estos nematodos tienen enorme importancia económica (Esquivel y Peraza 2010).

Algunas especies de *Meloidogyne* detectadas en Costa Rica son de las especies *incognita*, *javanica*, *hapla*, *salasi*, *fallax* y *chiwoodi*, en la cuales se supone que éstas últimas especies ingresaron al país con material vegetativo contaminado (Ramírez *et al.* 2001).

Actualmente el agricultor costarricense cuenta con pocos parámetros de decisión, con lo cual definan el momento más adecuado para la toma de decisiones en el uso de alguna medida de control.

Según los autores Sikora y Fernández (2005), en los casos en que la infección por nematodos ha ocurrido a nivel de semillero, numerosas plántulas mueren y no sobreviven al trasplante. Aquellas que logran sobrevivir el trasplante, se produce una fuerte reducción en la floración y fructificación debido al crecimiento deficiente y graves pérdidas causadas por las infecciones radicales, en la cual las agallas pueden ser invadidas por fitopatógenos fúngicos y bacterias, produciendo podredumbres severas. Sasser y Taylor (1985), considera que las estimaciones de las pérdidas de cultivos oscilan entre 17-20% en berenjena, 18-33% en melón, y del 24-38% en el tomate.

Salazar y Guzmán (2013), determinaron que el efecto de la población inicial de *Meloidogyne* sp. en el cultivo del tomate, correlacionó inversamente con el peso de frutos y altura de la planta. Plantas con 200 nematodos (100 g de suelo) presentaban mayor peso de frutos (2,19 kg) y altura (153,20 cm), comparados con plantas con 600 nematodos y que tuvieron menor peso (0,93 kg) y tamaño (135,24 cm).

2.3.1.1 Ubicación taxonómica de *Meloidogyne*

Según Siddiqi (2000), Moens *et al.* (2009) y actualizada por Manzanilla-López y Marbán-Mendoza 2012, el género *Meloidogyne* se clasifica de la siguiente manera:

Clase: Secernentea

Orden: Tylenchida

Suborden: Tylenchina

Superfamilia: Tylenchoidea

Familia: Heteroderidae

Subfamilia: Meloidogyninae

Género: *Meloidogyne*

Especies: *M. exigua* Göldi 1887,

M. arenaria (Neal, 1889) Chitwood, 1949

M. hapla Chitwood, 1949

M. incognita (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949,

M. javanica (Treub, 1885) Chitwood, 1949.

2.3.1.2 Características morfológicas de *Meloidogyne*

Los nematodos agalladores son altamente adaptados y tienen un modo de vida muy especializado por su extrema diferenciación entre ambos sexos. Los adultos presentan un marcado dimorfismo sexual, donde el macho presenta movilidad, forma alargada y cilíndrica (vermiforme) con un tamaño de 1,5 mm, y la hembra se vuelve más sedentaria y se hincha de forma engrosada a piriforme (como una pera) con una longitud de 0,8 mm.

Meloidogyne es un endoparásito sedentario obligado; la hembra lo es durante todo su ciclo excepto en el estado J₁, mientras que el macho es sedentario únicamente durante los estados juveniles (J₂, J₃, y J₄).

A pesar de que superficialmente son similares a los nematodos de los quistes, los nematodos agalladores representan un desarrollo evolucionario separado, con similitudes en morfología y biología debido a su convergencia. Sin embargo, los nematodos de los quistes retienen en su interior todos o la mayor cantidad de huevos dentro del cuerpo de la hembra, mientras que los nematodos

agalladores deposita la mayor cantidad de esos huevos dentro de una matriz gelatinosa externa la cual es secretada por las glándulas rectales de la hembra. Las masas de huevos son grandes y sobresalen a través de la superficie radical, las masas de huevos gelatinosas usualmente coalescen con otras masas de huevos.

Los individuos presentan estilete y nódulos medianos, en el procorpus es visible la abertura de la glándula esofágica dorsal, bulbo medio redondeado sin ocupar todo el diámetro del cuerpo. El procorpus y bulbo medio son diferenciales el uno del otro (separados por una constricción más o menos pronunciada) y la parte basal del esófago es más grande que el bulbo medio. El poro excretor está ubicado antes del bulbo medio; la cutícula es finamente estriada con una anulación irregular y discontinua en la región perineal. El patrón perineal (característico), permite diferenciar las diversas especies de *Meloidogyne* (Taylor *et al.* 1983).

Las hembras juveniles presentan la vulva distante de la parte anterior de la cabeza en un 70 a 80%, con ovario diprodélfico no reflejo. En estado adulto, son piriformes con la vulva y el ano separados, que con el desarrollo dentro de las raíces de la hembra adulta se forman agallas (Sasser *et al.* 1985).

Los machos (J₂) presentan estilete cuya longitud es menor a 20 micras. En su estado adulto presenta un disco labial y aperturas de los anfidios en forma de ranura. Presentan un aparato reproductor con espícula y sin bursa, muy cerca de la parte terminal de la cola que es redondeada (Sasser *et al.* 1985).

2.3.1.3 Ciclo de vida de *M. incognita*

La reproducción es generalmente partenogenética y a veces amfimíctica. La hembra después de la fecundación, deposita sus huevos (200-500 y hasta más de 1000) en una masa mucilaginosa, que puede estar adherida a la hembra, o a los tejidos de la raíz del hospedero. El primer estado juvenil se forma dentro del huevo y sufre su primera muda para convertirse en J₂. Después de la eclosión de los huevos, los J₂ salen al exterior en busca de raíces a la brevedad, debido a que pueden morir en pocas horas (12 horas muere el 90%, a 19 horas el 99%). Los J₂

que logren llegar a las raíces, inician su alimentación inmediatamente en el punto de entrada radical, y mediante su estilete realizan un orificio para introducirse y ubicarse entonces en su sitio definitivo de alimentación (Taylor *et al.* 1983).

Las hembras comienzan a adoptar su forma abultada o aperada entre el final del tercer e inicio del cuarto estadio. Por otro lado, los machos mantienen su forma filiforme y pasan el cuarto estadio en el interior de la muda del tercer estadio, para luego de la cuarta muda emerger al suelo como adultos.

Las hembras al madurar, pueden permanecer en el mismo sitio de desarrollo o se movilizan hacia la pared radicular para exponer el cuerpo abultado hacia el exterior. Por su forma de alimentarse, se da la formación de células gigantes y nódulos, induciendo raíces afectadas con síntomas visibles como necrosis, acortamiento, reducción de raíces laterales y pocos pelos radiculares.

Desde el punto de vista fisiológico, los daños incrementan la producción de proteínas en los nódulos, produciendo un mal funcionamiento de los reguladores de crecimiento entre las raíces y el tallo, provocando la disminución del desarrollo y crecimiento de las plantas (Sasser *et al.* 1985).

En el estudio de López y Quesada (1997), encontraron que en las malezas *Asclepias curassavica*, *Acmella oppositifolia*, *Tagetes jalisciensis* y *Tagetes microglossa* y plantas de tomate como testigos, el nematodo *M. incognita* desarrolló la formación de nódulos radiculares.

La formación de las células gigantes se debe a las secreciones inyectadas por el estilete de los nematodos en los tejidos. Éstas son células de masa protoplasmática muy activas y llenas de organelos. Además de las células gigantes, se produce proliferación e hipertrofia de las células corticales, con la consecuente formación de los nódulos (Taylor *et al.*, 1983).

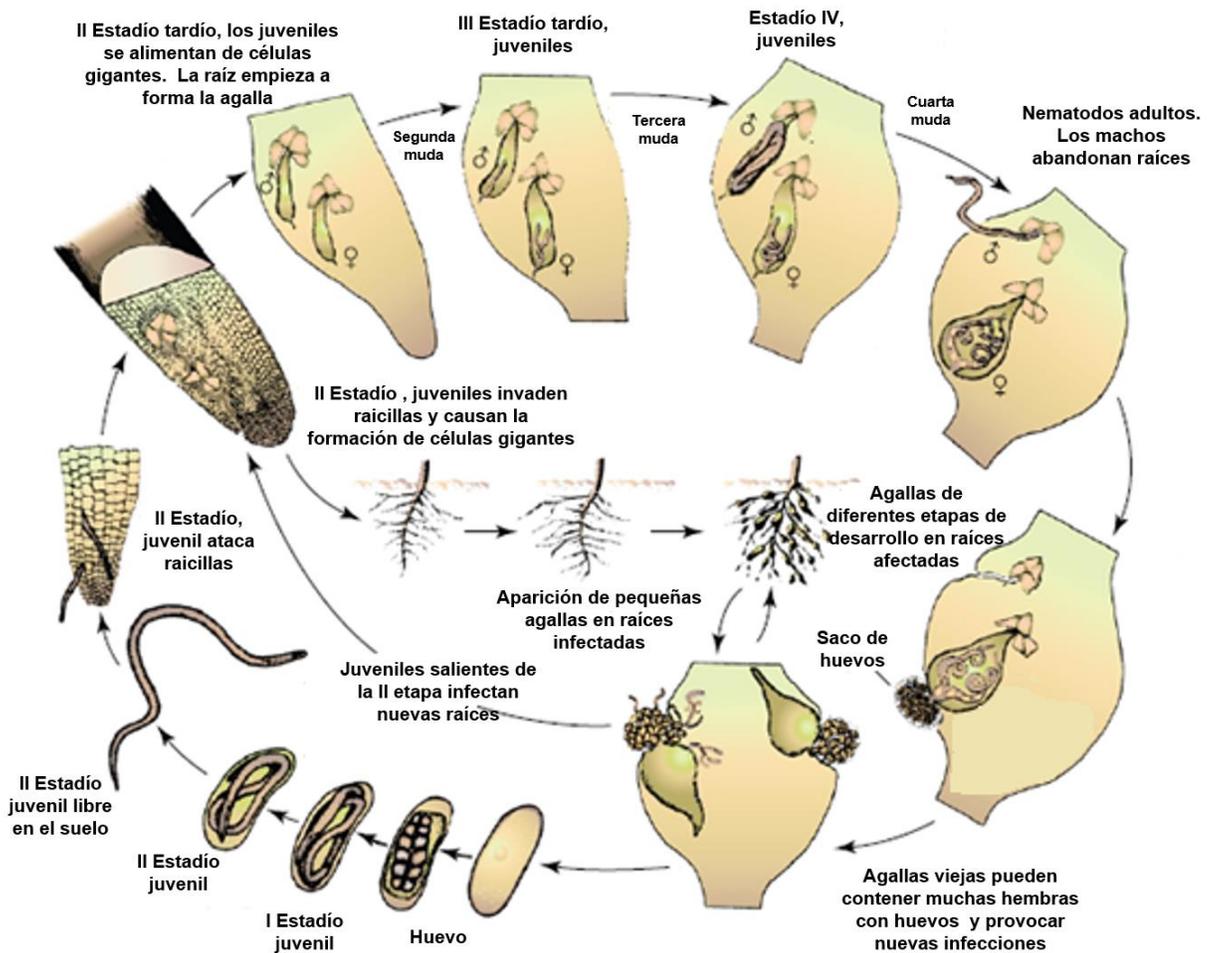


Figura 1. Ciclo de Vida del nematodo agallador del género *Meloidogyne* (Adaptado de Agrios 2005).

2.3.1.4 Hábitos de alimentación

Los juveniles se alimentan de las células epidérmicas fuera de las raíces, luego penetran por la cofia y se establecen dentro de las raíces secundarias, transformándose en parásitos sedentarios. La alimentación se limita a las células que rodean su cabeza. Si la planta no es un hospedante adecuado, se lignifican las células cercanas a la cabeza del parásito (Sasser *et al.* 1977).

2.3.1.5 Factores que influyen en su desarrollo

El desarrollo de los nematodos se ve influida por factores, tales como temperatura, la capacidad de las plantas que sirven como hospedantes y el vigor de la planta (Rohde 1972).

La temperatura es uno de los factores más importantes que afecta su supervivencia, distribución, embriogénesis, eclosión, migración, penetración, desarrollo y expresión de síntomas en la planta. En temperaturas entre 27.5°C y 30°C, las hembras se desarrollan de la etapa juvenil a la etapa de oviposición en 17 días; a 24.5°C en 21 a 30 días; a 20°C en 31 días; y a 15.4°C en 57 días. A temperaturas inferiores a 15.4°C o superiores a 33.5°C las hembras no llegan a alcanzar su madurez (Taylor *et al.* 1983).

Khan (2002), citado por Hernández *et al.* (2012), en el estudio realizado con *M. incognita*, en temperaturas ambientales de 28 a 35°C en el cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.), encontró que la mayoría de las larvas comenzaron a penetrar las raíces pocas horas después de la inoculación (12 horas) y a los 22 días, más del 32% de los especímenes eran hembras bien formadas.

En otra investigación desarrollada a 21-35°C, se encontró que las hembras adultas de *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, surgieron unos 20 días después de ser inoculadas en una variedad de soya susceptible. El ciclo de vida de *Meloidogyne javanica* (Trueb) Chitwood desarrollándose en el hospedante *Impatiens balsamina* L., se completó en solo 23 días (25 y 30°C) (Khan *et al.* 2006).

La humedad del suelo es el segundo factor de importancia, debido a que los nematodos dependen del agua del suelo para completar su ciclo de vida.

Otro factor, la textura del suelo está asociada a la distribución y severidad de los síntomas producidos por estos nematodos, y combinado con la falta de oxígeno en suelos muy húmedos, puede inhibir la emergencia de los juveniles y dificultar la movilidad. El pH (rango de 4-8), facilita que las especies de *Meloidogyne* sobrevivan, eclosionen y se reproduzcan (Evans *et al.* 1993).

2.3.2 Otros nematodos asociados al cultivo del tomate

2.3.2.1 *Pratylenchus* spp. (nematodo lesionador)

Son nematodos ectoparásitos migratorios, popularmente conocidos como lesionadores de raíz o nematodos de praderas, son de distribución mundial, que parasitan gran cantidad de plantas incluyendo cultivos importantes como banano, cereales, cítricos, café, maíz, hortalizas, papa, arroz, tomate y frutales.

Especies como *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. penetrans*, *P. zaeae*, atacan y dañan varios cultivos de importancia agrícola. *Pratylenchus brachyurus* está ampliamente distribuido; sus altas poblaciones causan daños a raíces, y cáscaras en el maní. *Pratylenchus coffeae* es patogénico en café, cítricos y banano (Siddiqi 1964); en Florida (USA), en cítricos puede ser tan patogénico como *Radopholus similis*. *Pratylenchus scribneri* y *P. alleni* son comunes en el medio oeste de Estados Unidos en el cultivo de la soya. *Pratylenchus goodeyi* es de gran importancia en el cultivo del plátano en muchas partes del altiplano oriental de África, donde se considera endémico de la región (Sikora y Fernández 2005). *Pratylenchus penetrans* es plaga en cultivos como alfalfa, manzana, zanahoria, apio, guisante, melocotón, maní, fresa. *Pratylenchus thornei* es una amenaza en países productores de trigo tales como Australia, India, México (Sikora y Fernández 2005).

Autores como Sikora y Fernández (2005), consideran que existen al menos diez especies del nematodo lesionador, presentes en la rizosfera o en raíces de hortalizas. Entre estas especies se denotan *Pratylenchus brachyurus*, *P. barkati*, *P. dasi*, *P. coffeae*, *P. delattrei*, *P. loosi*, *P. singhi*, *P. thornei* y *P. zaeae*. Todas las especies de *Pratylenchus* son consideradas de importancia potencial, debido a que se pueden encontrar en los tejidos de las raíces, son fitoparásitos de muchos cultivos y forman complejos con diversos hongos parásitos de plantas, aunque existen pocos estudios sobre su impacto en la producción. La poca investigación y quizás principalmente a que *Meloidogyne* es de mayor importancia en la producción,

se ha limitado el estudio y conocimientos sobre la importancia exacta de los nematodos lesionadores en la producción de hortalizas.

Pratylenchus es una especie que no presenta dimorfismo sexual, alcanzan tamaños de 0.4-0.7 milímetros y diámetros de 20-25 micrómetros.

Los Pratylenchidae tienen básicamente glándulas esofágicas subventrales. *Pratylenchus* presenta la superposición dorsal del intestino por las glándulas esofágicas (Siddiqi 2000), además de una región cefálica baja, en la parte anterior aplanada a ampliamente redondeada, anulada; con el borde fuertemente esclerotizado; disco labial discreto, en forma de campana. No hay marcado dimorfismo sexual en la región anterior. Campos laterales cada uno con cuatro a seis incisiones, ocasionalmente con marcas medianas oblicuas (Siddiqi 2000). Las especies identificadas poseen un estilete de 20 μm o menos, con nódulos basales redondos, previamente planos o indentados. Bulbo medio ovalado a redondo, muy musculoso. Las glándulas esofágicas por lo general menos de dos anchos de cuerpo de largo, extendiéndose sobre el intestino principalmente ventral. Vulva en la región posterior (generalmente en 70-80%), pseudo-mono-prodelficos, con sólo ovario anterior funcional. Sacos uterinos postvulvales presentes, con o sin rudimentos de ovario posterior. Espermateca grande, redondeada, generalmente axial. Cola de la hembra subcilíndrica a conoide, alrededor de dos a tres anchos de cuerpo en la sección anal; sin mucro. Bursa en la sección terminal de la cola. Espículas con poro subterminal en el lado dorsal. Gubernáculo simple, en forma de canal.

Los *Pratylenchus* permanecen en las raíces infectadas o en el suelo en estadios de huevos, juveniles o adultos. Los estadios jóvenes y adultos pueden infectar las raíces y luego migrar a otros sistemas radicales. Las hembras (con o sin fertilización), ponen sus huevos por separado o en pequeños grupos dentro de las raíces infectadas. Los huevos eclosionan en las raíces o en el suelo, liberándose cuando los tejidos radicales se rompen. El estadio que emerge (segunda etapa juvenil) se convierte en un juvenil que sobrevive la estación dentro de las raíces o

en suelo y mediante varias etapas de desarrollo, se llega a completar en adulto. Penetran en las raíces jóvenes de las plantas huéspedes, y migran a través de las raíces, a menudo destruyendo células. Las hembras depositan los huevos de uno en uno en el tejido radicular o en suelo y pueden producir hasta 100 huevos a lo largo de su vida. El ciclo de vida se completa generalmente en tres o cuatro semanas dependiendo de la temperatura del suelo, por lo que pueden producir varias generaciones por estación (Talavera 2003). En otras condiciones, el ciclo de vida de algunas especies de *Pratylenchus* puede completarse entre 45 y 65 días.

Los síntomas en planta son los mismos que en el caso de *Meloidogyne*. En las raíces, la penetración de los nematodos ocasiona pequeñas lesiones necróticas que sirven de entrada a otros patógenos (*Verticillium*, *Rhizoctonia*, bacterias). Las plantas infectadas por nematodos lesionadores, generalmente tienen sistemas radiculares reducidos y las raíces alimenticias destruidas.

2.3.2.2 *Helicotylenchus* spp. (Nematodo de la hélice, nematodo de espiral)

El nematodo *Helicotylenchus* (*H. multicinctus* y *H. dyhistera*), se ha identificado en diversos cultivos tanto de importancia alimenticia como hospederos alternos. Las especies de *Helicotylenchus* se han determinado en hospederos como arroz, cacao, café, caña de azúcar, forestales, maíz, maní, olivo, papa, piña, sorgo, té y arvenses asociadas a dichos cultivos (Siddiqi 1972). Los autores Gowen (1976) y Zem *et al.* (1981), citados por Guzmán (2011) han determinado que la mayoría de cultivares de musáceas (principalmente banano y plátano comestibles de diferente ploidia) son atacados por *H. multicinctus*. Las variedades de exportación de Musa AAA (Grande Naine, Valery y Williams del Subgrupo Cavendish) son susceptibles a *H. multicinctus* y *H. dyhistera*, siendo afectado por otros fitonematodos cosmopolitas (*Radopholus similis*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* y *P. coffeae*) (Barekye *et al.*, 2000; Moens *et al.*, 2006, citados por Guzmán 2011). Estos nematodos dañan el sistema radical del banano y reducen la producción entre 19 y 34% (Guzmán 2011).

Quénéhervé *et al.* (1995) citados por Guzmán (2011), detallan que el ataque de *H. multincinctus* en los cultivos de banano y plátano ocasionan enanismo, prolongan el ciclo vegetativo y después de 3 años reducen la vida productiva del cultivo. Estas pérdidas se reflejan en la reducción del peso del racimo, menor tamaño de los frutos, madurez retardada y disminuciones de las ganancias en la producción. Otro de los problemas por altas infestaciones de este nematodo es el volcamiento de las plantas en el campo (Gowen *et al.* 2005, citados por Guzmán 2011).

Debido al daño en las células parenquimatosas del córtex de la raíz de banano por efecto de la alimentación de *Helicotylenchus* spp., se presentan pequeñas lesiones longitudinales (entre 3 y 10 cm) de color castaño rojizo a negro, que por lo general no profundizan al parénquima cortical (Araya, 2004, citado por Guzmán 2010). En altas infestaciones, estas lesiones radicales pueden fusionarse, causando necrosis extensiva en la capa más externa del córtex, y la consecuente muerte de las raíces; estas lesiones también pueden presentarse en cormos de banano (Quénéhervé & Cadet 1985, citados por Guzmán 2010). Según McSorley (1986) y Gowen (2000), citados por Guzmán (2010), cuando el ataque se presenta, las infecciones de las raíces terciarias se muestran necróticas, con fácil desprendimiento de la corteza al manipularlas. Guzmán (2010) ha encontrado que raíces terciarias (plántulas en vivero como de plantas adultas de plátano cv. Dominico-Hartón parasitadas por *Helicotylenchus*) spp., presentan como síntoma característico una coloración violeta.

En la actualidad, el nematodo de la espiral, se puede localizar en los cultivos hortícolas, a pesar de existir más de 14 especies de *Helicotylenchus* en la rizosfera de diversas hortalizas, no se ha demostrado la importancia en el campo.

Es un nematodo con dimorfismo sexual, de tamaño pequeño a mediano (0,4-1,2 mm). Las hembras de *H. multincinctus* posee dimensiones en longitud de 0,47-0,53 mm (promedio de 0,50 mm), las cuales se identifican porque cuando están en reposo se notan en espiral o raramente arqueadas. Los campos laterales no

areolados, tiene 4 incisuras, aproximadamente una cuarta parte del ancho del cuerpo. Presentan la región labial hemisférica, ligeramente compensada y una depresión oral prominentemente terminal, región cefálica fuertemente esclerotizada, con conspicuas márgenes exteriores extendiéndose posteriormente a través de 3 a 4 anulaciones del cuerpo, las cuales son mucho más estrechas en esa región que en las otras (Guzmán 2010). La glándula esofágica dorsal un cuarto a un poco más de la mitad de la longitud del estilete, por detrás de la base del estilete. La región cefálica es baja o elevada, continua o raramente compensada, con o sin anulación; sin muescas longitudinales en los anillos. Tubo guía del estilete prominente, bulboso, estilete robusto (21-24 μm de longitud, con nódulos basales prominentes con un diámetro de 5-6 μm) y bien desarrollado, alrededor de tres a cuatro veces el ancho máximo de la región cefálica (Siddiqi 2000). Ovarios, extendidos, anfídelficos, con oocitos principalmente en una sola fila (Siddiqi 1973). Cola curvada dorsalmente, de forma convexa a conoide, con terminación hemiesférica a elongada ventralmente, la cual puede formar una proyección leve, con 8-12 anulaciones ventralmente. Fasmidios pequeños cerca del ano (Guzmán 2010).

El macho raramente encontrado, es similar a la hembra, pero sin presentar el cuerpo en forma espiralada, no son esenciales para la reproducción. Medidas del estilete, espícula y gubernáculo de 22-27, 20-23 y 7-8 μm , respectivamente (Guzmán 2010). Cola del macho cónica y corta (menos de dos cuerpos anales), con una porción hialina terminal distintiva. Bursa que envuelve completamente la punta de la cola, raramente subterminal. Gubernaculum en forma de barra, el telamon no visible (Siddiqi 2000).

El bulbo postcorporal bien desarrollado, por lo general ligeramente desplazado del precorpus (estilete y bulbo ligeramente reducido en los machos de algunas especies). Poro excretor detrás de hemizonido, cerca de la base del istmo. Las glándulas esofágicas se forman alrededor de la parte anterior del intestino, siendo la superposición más larga ventral. Unión esofágico-intestinal con una

pequeña válvula cuticular. Intestino rara vez con fascículos; no sobreponiéndose al recto (Siddiqi 2000).

H. multincinctus, a diferencia de otras especies de *Helicotylenchus*, es considerada una especie semi-endoparásita, ya que dentro del tejido cortical de la raíz se pueden encontrar todos los estados de desarrollo (Zuckerman y Strich-Harari 1963, citados por Guzmán (2011)). Se desarrollan en las raíces, pero el daño puede ocurrir en los tejidos corticales (*H. multincinctus*) aunque sin migrar por la corteza, y en algunos casos, se alimentan por períodos prolongados en sitios específicos, extrayendo sustancias nutritivas de los tejidos más internos de las raíces sin provocar daños evidentes (Hunt *et al.* 2005; Decraemer y Geraert, 2006, citados por Guzman 2011). Los Hoplolaimidae penetran el tejido de las raíces intracelularmente y alcanzan las capas internas del tejido cortical por la penetración del estilete y luego el extremo anterior del cuerpo, pero no establecen un sitio de alimentación permanente. Su alimentación produce un daño celular con lesiones necróticas y parduscas, capaz de formar cavidades en la corteza radicular (Siddiqi 2000).

2.4 Manejo de los Nematodos

El tomate es uno de los cultivos que han demostrado más susceptibilidad al ataque de *Meloidogyne*, y debido a esto, debe hacerse un manejo integrado con el fin de reducir al máximo los efectos que favorezcan su presencia en el cultivo. Algunos autores aconsejan prácticas culturales como aporca de plantas, riegos oportunos, la eliminación y destrucción de las raíces de plantas severamente afectadas (Chitwood 2002). Entre otras opciones se considera una preparación profunda del terreno para que los nematodos sean expuestos al calor, el uso de variedades resistentes, y la rotación de cultivos para lograr romper los ciclos biológicos de la plaga (Canto 2001). El empleo de fuentes de desinfestación del suelo mediante vapor, biofumigación o con agentes fumigantes son prácticas poco viables en muchas áreas agrícolas, pero es una solución a considerar (Fraga 1984).

En la actualidad se buscan nuevos nematocidas más amigables con el ambiente tales como: uso de extractos botánicos y cultivos trampa (Stoll 2000), control biológico con microorganismos, variedades resistentes, biosolarización, plantas alelopáticas y materiales orgánicos frescos (Castro, *et al.* 2011, citado por Curimilma (2015)). Los extractos botánicos presentan ventajas sobre los plaguicidas sintéticos. Por su origen provienen de recursos renovables, las plantas presentan compuestos que las plagas no pueden inactivar, son de menor concentración por lo que son menos tóxicos que los compuestos puros, por su naturaleza sufren una rápida biodegradación, poseen múltiples modos de acción aumentando su amplio espectro por su acción selectiva dentro de cada tipo de plaga (Quarles 1992, citado por Vinueza *et al.* 2006).

Diversos autores consideran que los plaguicidas botánicos, pueden ser empleados en áreas de cultivos protegidos, viveros, en tratamientos de semillas y manejo de plagas en áreas de almacenamiento. La combinación de extractos de plantas con otros tipos de productos fitosanitarios tradicionalmente utilizados por los agricultores cubanos, mejora la eficacia, la estabilidad de algunos agentes de control biológico, así como la reducción de la frecuencia de aplicación y la dosis de los plaguicidas químicos sintéticos. Además, el potencial de los metabolitos secundarios como inductores de resistencia pueden facilitar el manejo de problemas fitosanitarios complejos mediante el uso de estos extractos vegetales (Pino *et al.* 2013).

Los autores Regnault y colaboradores (2004), citados por Curimilma (2015) consideran que los usos de los extractos botánicos presentan ventajas sobre los plaguicidas tradicionales. Los extractos son menos concentrados y menos tóxicos, sufren de una biodegradación rápida; y en muchos de los casos pueden poseer múltiples modos de acción, facilitando su amplio uso, y la acción selectiva.

Autores como Stoll (2000), Sukul (1992) citado por Salazar y Guzmán (2014) han determinado cerca de 60 familias de plantas que contienen compuestos fitoquímicos (terpenos, alcaloides, esteroides, taninos y aceites esenciales) con

potencial para ser usados en el combate de plagas y enfermedades en los cultivos. Otros investigadores, han validado que unas treinta especies de plantas provenientes de catorce familias botánicas, presentan diferentes niveles de efectividad contra nematodos (Insunza *et al.*, 2001, citado por Salazar y Guzmán (2014).

En Costa Rica, algunas plantas comunes con propiedades biocidas, insecticidas y nematicidas pertenecen al *Capsicum chinensis* (chile picante), *Brugmansia suaveolens* L. (reina de la noche) y *Tagetes erecta* (flor de muerto) (Stoll 2000), así como la papaya (*Carica papaya*), nim (*Azadirachta indica*), ajo (*Allium sativum*), higuera (*Ricinus communis*) (Gruber y López (2004), citado por Durán (2011).

La higuera (*Ricinus communis* L.), presenta semillas tóxicas debido a los metabolitos secundarios (albúminas, ricina), y alcaloides (ricinina), que son utilizados como nematicida e insecticida para el control de plagas en los cultivos (Kouri *et al.* 2006 y Corpoica, 2008, citados por Arboleda *et al.* 2012).

Los compuestos tóxicos, alcaloides, fenoles, terpenoides, entre otros, y las lectinas tales como la ricina y la ricinus-aglutinina, tienen la capacidad para adherirse fuertemente a los anfidios de los nematodos fitoparásitos agalladores como *Meloidogyne* spp. Goeldi, modificando así su comportamiento quimiotáctico (Marbán *et al.* 1987; Rich *et al.* 1989, citados por Arboleda *et al.* 2012).

Los metabolitos secundarios más diversos son los alcaloides, de los cuales se dividen en varios subgrupos: los alcaloides indólicos (derivados del triptófano, Roberts y Wink 1998); la vinblastina (del tipo bisindólico) y usado en el tratamiento del mal de Hodgkin; la vincristina empleada en el tratamiento de la leucemia; y 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, citados por (Pino *et al.* 2013).

Existe gran diversidad de plantas que contienen alcaloides, pero las familias Apocinaceae, Loganiaceae y Rubiaceae, presentan alcaloides en grandes cantidades (De Luca y St. Pierre 2000). La familia Solanaceae posee diversos alcaloides (glucoalcaloides y nicotina), con potencial a usarse como insecticidas (Pascual 1998). En los cultivos de papa, tomate y berenjena, 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 (Maggi 2004).

El alcaloide rianodina (extraída de tallos y raíces de *Riania*, *Ryania speciosa* Fam: Flacourtiaceae) actúa por contacto e ingestión, afectando directamente los músculos impidiendo su contracción y generando parálisis; empleada para el combate de plagas en maíz y larvas de lepidópteros que atacan frutos (Silva *et al.* 2002; Naranjo y López 2010).

La flor de muerto (*Tagetes*) es conocida además de belleza estética, tiene propiedades plaguicidas. Los compuestos alelopáticos que posee pueden ser liberados por volatilización, exudados radiculares, lixiviación desde las plantas o residuos y por descomposición de residuos. Estos compuestos producidos son por lo general metabolitos secundarios que actúan como defensa química ante enfermedades y parásitos (Halbrendt 1996, citado por Llive 2009). Dentro de esos metabolitos se encuentran las estructuras policetilénicas y los derivados de tiophenos, de los cuales el más representativo es el α -Tertienilo que es un compuesto tóxico para los nematodos (López y Estévez 1992, Vasudevan *et al.* 1997, citados por Llive 2009).

Rodríguez (2005), citado por Arboleda (2012), encontró que la higuera combate nematodos como *Aphelenchus avenae* Bastian, *Hoplolaimus indicus* Sher, *Pratylenchus delattrei* Luc, *Tylenchorhynchus brassicae* Cobb, *Helicotylenchus dihystera* (Cobb) Sher., y *Rotylenchus reniformis* Lindford & Oliveira.

Entre las investigaciones realizadas recientemente que implementa la utilización de extractos vegetales como controladores de nematodos se encuentran

Morimoto *et al.* (2000) citado por Durán (2011) utilizando extractos de (*Gnaphalium affine*) lograron analizar la actividad de cuatro flavonoides. López (2010) y Guzmán *et al.* (2013), evaluaron la mortalidad de *Radophulus similis* en condiciones de laboratorio utilizando distintos extractos vegetales procedentes 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*). Por su parte Fallas (2011) evaluó la extracción de compuestos biocidas a partir de tubérculo de jengibre (*Zingiber officinale*), hojas de orégano (*Origanum vulgare*), y bulbo de ajo (*Allium sativum*). Castro *et al.* (2011) evaluó el efecto de la aplicación de vermicompost de estiércol bovino y su enriquecimiento con quitina, sobre la infección de *Meloidogyne incognita* en plantas de tomate.

En dicha investigación, se determinó que la torta deshidratada de higuera (1,5; 2,0 y 3,0%) al ser incorporada al suelo en plántulas de café (60 días de edad), redujeron las poblaciones de *Pratylenchus coffeae* en 61, 70 y 76%, respectivamente; mientras que el nematicida químico Carbofuran redujo la población en 54%.

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*. Oliva *et al.* (2003), realizando pruebas con extractos, encontraron 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). En otro orden, se ha comprobado el uso efectivo de alcaloides de quinolina y quinolona para evitar el crecimiento de *Colletotrichum* sp. (Oliva *et al.* (2003).

Hoagland y Williams (2004), consideran que los alcaloides quitinolíticos inhiben los receptores de los canales de sodio y potasio, y tienen un papel en la transcripción del ADN, como la inhibición de la polimerasa y la transcriptasa. Otro efecto adicional, corresponde a la inhibición de la síntesis proteica y afectan la permeabilidad de la membrana celular.

Naranjo y López (2010), en su documento citan que existen otros alcaloides con actividad biológica aislado de plantas, entre ellos están los sesquiterpenos (antialimentarios), maitansinoides (insecticidas), alcaloides sesquiterpénicos piridínicos (antialimentaria e inmunosupresora), poliésteres sesquiterpénicos (promotores antitumorales), triterpenoquinonas, dímeros triterpénicos y nortiterpeno metilénquinonas (antimicrobiales).

La familia Solanaceae incluye principalmente las plantas *Brugmansia* y *Nicotiana*, capaces de producir grandes cantidades de néctar a partir de sus abundantes flores. El néctar, desde su composición química, es una solución acuosa compleja, que contiene azúcares, y otros componentes menores (aminoácidos, proteínas, flavonoides y alcaloides). Kerchner *et al.* (2015), en su estudio demostraron la presencia de la nicotina en el néctar de todas las especies de tabaco analizadas. La escopolamina (alcaloide tropánico, conocida como burundanga) estaba presente en mayor cantidad en el néctar de *Brugmansia suaveolens*, que en las otras plantas analizadas (*Datura stramonium*, *Hyoscyamus niger* y *Lycium barbarum*). Estos alcaloides por su forma de actuar, pueden causar disuasión en las abejas melíferas, en la que puede considerarse el néctar de *N. rustica* y *N. tabacum* tóxico para las abejas (Kerchner *et al.* 2015).

El uso de organismos biológicos mediante hongos parásitos de nematodos se ha implementado en los últimos años, debido principalmente a los problemas que han generado los productos agroquímicos de alto impacto ambiental. *Arthrobotrys*, *Tricoderma*, *Paecilomyces*, se citan entre algunas opciones en la actualidad. Existen en la actualidad algunos nematófagos (microorganismos capaces de alimentarse de nematodos), que han mostrado cierta capacidad de desarrollarse a expensas de estos microorganismos plaga.

Hoy en día y debido a su versatilidad, el control químico empleando nematódicos como carbofuran y testigo químico comercial es la medida más empleada por los agricultores (Evans 1993).

Mokbel y Alharbi (2014), evaluaron en condiciones de laboratorio e invernadero la eficacia de diferentes géneros bacterianos y fúngicos contra *Meloidogyne javanica* en Berenjena. Los autores concluyen que las bacterias *Bacillus subtilis*, *B. thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens* y *Serratia marcescens*, solos o en mezcla, causaron entre el 50,5 y 90,3% de inhibición en la actividad de huevos de *M. javanica* y de juveniles (J₂), mostrando una reducción de 56,5-86,8% del número de agallas radicales. En el caso de los hongos, *Arthrobotrys conoides*, *A. oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* y *Saccharomyces cerevisiae*, los autores reportan que se produjeron reducciones significativas en el número de agallas (69,5-89,5%), incrementando entre 53,7 y 60,9% el peso raíces y frutos. Por otra parte, la colonización de las masas de huevos de *M. javanica* por *P. lilacinus* osciló entre 45.2- 99.2%, en comparación con el tratamiento de control.

Li *et al.* (2007), realizaron una revisión que resume los 179 compuestos de hongos que han demostrado poseer actividades nematocidas. Estos compuestos pertenecen a diversos grupos químicos y están principalmente aislados de una variedad de hongos Deuteromicetos, Ascomicetos y Basidiomicetos. Algunos de ellos han sido patentados como agentes nematocidas. Entre estos hongos nematófagos tenemos:

a) *Paecilomyces lilacinus*, el cual es predominantemente patógenos de huevos, en un microorganismo que ha sido comercializado en Filipinas y Sur África (Kiewnick 2004, citado por Sikora y Fernández 2005). Este hongo ha sido reportado como controlador biológico en hortalizas y otros cultivos.

En el estudio de Ahmad y Khan (2004), combinando *Paecilomyces lilacinus* con enmiendas de diversas materias orgánicas, redujeron significativamente la multiplicación de *Meloidogyne incognita* y el endurecimiento de raíz, logrando aumentar el crecimiento de la planta y la reducción de la acumulación de nematodos. Otro efecto de este estudio demostró que las enmiendas orgánicas también aumentaron el parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* en *Meloidogyne incognita*.

En estudios se ha demostrado que la actividad de *Paecilomyces lilacinus* (cepa 251), es afectada por la temperatura y la densidad inicial del inóculo de nematodos. En experimentos con tomate en invernadero con temperaturas desfavorables para el desarrollo de *Meloidogyne hapla* (25°C-33°C), se trataron repetidamente plantas con *Paecilomyces lilacinus* (cepa 251), mostrando un rendimiento de fruta significativamente mayor (Kiewnick y Sikora, 2006).

b) *Pochonia chlamydosporia* ha sido estudiado ampliamente en laboratorio y bajo condiciones de campo para el control del nematodo agallador (Kerry, 2000, 2001; Atkins *et al.*, 2003, citados por Sikora y Fernández 2005). Otros autores como Bourne (2001), Bourne y Kerry (1999), citados por Sikora y Fernández 2005, demostraron que la aplicación *P. chlamydosporia* en una rotación de cultivos menos susceptibles como la col rizada, frijoles y repollo conlleva a grandes reducciones en daños en raíz en las siembras de tomate subsiguiente, debido a que las masas de huevos están más expuestas en la rizosfera. Estos mismos autores, consideran que la aplicación de *P. chlamydosporia* con hongos micorrízicos arbusculares en etapas tempranas del cultivo (plántula) mostraron aumentos en el control de agallas y crecimiento de plantas.

c) *Trichoderma harzianum*, en un hongo eficaz para el manejo de enfermedades fúngicas, se ha demostrado también con efecto hacia nematodos agalladores. En las investigaciones realizadas por Windham *et al.* (1989), citados por Sikora y Fernández (2005), utilizando las especies de *T. harzianum* y *T. koningii* aumentó el crecimiento de las plantas de maíz y redujo las poblaciones de *M. arenaria*.

En la investigación sobre aislamientos de hongos nematófagos de 3 regiones arroceras en Costa Rica, Peraza, Orozco y Esquivel (2014), evaluaron el parasitismo *in vitro* de 14 géneros de hongos nematófagos (*Trichoderma* sp., *Paecilomyces* sp., *Fusarium oxysporum*, y *Monacrosporium* sp.), sobre juveniles y huevos del nematodo agallador *Meloidogyne javanica*. Luego de 96 horas, se presentaron mortalidades de nematodos entre 10% y 56%, nematodos parasitados (13 y 79%) y huevos parasitados (1% y 96%). Los

autores determinaron que el hongo *Trichoderma* (aislados Tri1, Tri2, Tri3 y Tri4) fueron los más eficientes en el parasitismo sobre juveniles y huevos de *M. javanica*.

- d) En un estudio realizado por Varela y colaboradores (2017), se analizaron el efecto de algunos hongos aislados de la Región Huetar Norte de Costa Rica, de los cuales las cepas de *Hypocrea virens* y *Penicillium janthinellum* no presentaron actividad nematocida contra ninguna de las especies de nematodos *Radopholis similis* y *Meloidogyne (exigua, incognita)*. Del material restante aislado, ninguna de las cepas cumple con lo establecido según los protocolos de investigación para considerarla con actividad nematocida contra juveniles de *M. incognita*, mientras que *Paecilomyces lilacinus* y *Fusarium oxysporum* mostraron capacidad parasitaria hacia huevos de las especies de *Meloidogyne* evaluadas. Por otro lado, especies de *Trichoderma (asperellum y spirale)* parasitaron huevos de *M. incognita*, y *Monacrosporium megalosporum* parasitó un 56% de los huevos de *M. exigua*.

2.5 Productos químicos naturales

Estos productos químicos son moléculas biodegradables, que por lo general son difíciles de obtener en gran escala.

Algunos autores reconocen el potencial de los metabolitos secundarios de plantas como inductores de resistencia, los cuales pueden permitir el manejo de problemas fitosanitarios complejos mediante el uso de algunos extractos de plantas en diferentes sistemas agrícolas (Pino *et al.* 2013). De estos podemos considerar:

- a) Extractos naturales de plantas: con la implementación de la “química verde”, algunas plantas han tenido el surgimiento como posibles fuentes naturales para su utilización en la agricultura, o como base para el desarrollo de moléculas sintéticas de agroquímicos. Las piretrinas, extraídas de la planta del Crisantemo

o piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), han tenido un repunte en la agricultura (Stoll 2000). Otros cultivos, tales como Tagetes (*patula, erecta*), Tomate (*Lycopersicum esculentum*), Papaya (*Carica papaya*), entre otros son plantas que pueden emplearse para el control de *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Roylechulus* (Hernández *et al.* 1999).

En el estudio de laboratorio e invernadero efectuado por Parada y Guzmán (1997), evaluaron extractos acuosos de ajo (*Allium sativum*), marygold (*Tagetes* sp.), papayo (*Carica papaya*) y pasto barrenillo (*Cynodon dactylon*) contra el nematodo *Meloidogyne incognita* en frijol (*Phaseolus vulgaris*), inocularon plántulas de frijol con 4.000 huevecillos y J₂ de *M. incognita*, y luego tratadas con los extractos antes mencionados, además del nematicida fenamiphos y un testigo absoluto (agua). El papayo a nivel de invernadero presentó el mejor control mostrando un menor índice de agallamiento, mientras que los extractos de ajo y papayo (dosis de 35 g/maceta) provocaron toxicidad en la planta. En laboratorio, los extractos utilizados presentaron un mayor número de juveniles muertos.

- b) Ácidos grasos: combinados con extractos de plantas reducen el efecto alimentario de los fitonematodos, estimulando la multiplicación de especies benéficas, y mejorando la habilidad natural de la planta para tolerar el ataque de los fitopatógenos.
- c) Productos naturales de organismos marinos: los extractos de algas producen metabolitos como agentes de defensa frente a otros organismos con los que tienen que competir por el espacio y los nutrientes. Algunos compuestos tienen efecto insecticida-nematicida (Sayed *et al.* 1997).
- d) Agentes de biocontrol (ABC): son microorganismos que, aplicados generalmente al suelo, controlan o dificultan el desarrollo de otros microorganismos patógenos o impiden el ataque de otros organismos como nematodos o insectos. Los mecanismos por los cuales se ejerce el biocontrol son varios y dependen de la interacción entre la planta, el patógeno, el agente de biocontrol y factores ambientales. Los mecanismos involucran la competición por los nutrientes entre

el patógeno y el ABC, el parasitismo del ABC sobre el patógeno, la inducción de resistencia sistémica o la producción por parte del ABC de un compuesto químico que inhibe el desarrollo del patógeno (Cutler 1987).

2.6 Nematóxicos

Los nematóxicos son compuestos naturales o sintéticos que provienen de fuentes que afectan el comportamiento y desarrollo de los nematodos.

Entre los empleados en el desarrollo de esta experimentación tenemos:

- a) **Extractos naturales de plantas** (producto formulado como Sincosin). Es un nematóxico formulado a base de extractos vegetales; el cual, reduce la susceptibilidad de las raíces de la planta al daño de los nematodos de varias formas. Inhibe la habilidad de los nematodos para localizar la raíz por lo que limita la penetración y la alimentación. Al presentarse menor daño físico en los tejidos, se reduce la oportunidad para que las bacterias y hongos dañinos invadan la planta. Al ser selectivo, no afecta los organismos benéficos del suelo, provoca el control de nematodos con un mínimo de inhibición del sistema biológico natural.
- b) **Marigold.** Planta del género *Tagetes* (*patula*, *erecta*, *minuta*, *zipaquirensis*) (Asteraceae). Actúa reduciendo la tasa de reproducción de los nematodos. La supresión de la actividad de los nematodos está basada en la presencia de tertiopenos presente en las raíces. Estos son oxidados cuando los nematodos penetran las raíces. Esto causa una pérdida en la falta de oxígeno, el cual bloquea el metabolismo de los nematodos (Stoll 2000). En el caso de *T. erecta* L., Hernandez *et al.* (1999), consideran que esta planta está compuesta de tiofenos (α -tertienilo) y aceite esencial de olor desagradable que contiene linaloil, ocimeno, dextrolimoneno y fenol. En los estudios de Alvarez *et al.* (2016), encontraron que los aceites esenciales de *Tagetes zypaquirensis* presentan diferentes grados de control sobre *Meloidogyne* spp. evaluaron cuatro concentraciones del aceite esencial, aplicadas a un suelo con juveniles de

segundo estadio del nematodo, y comparados con el carbofuran (33,2%). Apuntan que los componentes mayoritarios del aceite esencial de *T. zypaquirensis* fueron dihidrotagetona y e-tagetona en la que la concentración de 800mg/kg de aceite esencial presentó la misma acción nematicida que el suelo tratado con carbofuran al reducir las poblaciones de *Meloidogyne* spp. y presentar valores similares en las variables fitométricas.

Los investigadores Murga-Gutierrez *et al.* (2012), analizaron el efecto del follaje del *Tagetes minuta* (huacatay) sobre la nodulación radicular producida por el nematodo *Meloidogyne incognita* que parasita el *Capsicum annuum* (pimiento paprika) cultivado en invernadero, con la finalidad de obtener una alternativa de control de este nematodo. A grupos de macetas con plantas de chile se les adicionó follaje de *T. minuta* (20, 35 y 50% (v/v), y a la semana postsiembra se inoculó 5000 huevos de *M. incognita*. A las ocho semanas, se evaluaron los nódulos en sus raíces. Los investigadores hallaron la presencia de agallas en los grupos experimentales ligeramente menor que en el testigo, considerándose que el follaje de *T. minuta* limita la nodulación radicular ocasionada por *M. incognita*.

- c) **Reina de la Noche.** Planta del género *Brugmansia* (Solanaceae), incluye varias plantas melíferas, capaces de producir néctares. Los néctares florales son una mezcla acuosa químicamente compleja, dominada por azúcares, pero compuesta además de aminoácidos, proteínas, flavonoides y alcaloides. Otros autores (Kvist y Moraes, 2006), consideran que los alcaloides del grupo tropano, como escopolamina, hiosciamina y atropina, demuestran que la mortalidad de *Meloidogyne* sp. es causada por dichas sustancias presentes en *Brugmansia suaveolens*. Otros autores también coinciden que la escopolamina es conocida por poseer propiedades nematicidas, responsables directas de la mortalidad de nematodos (Shahwar *et al.*, 1995; Insunza *et al.* 2001).

La escopolamina bloquea en forma competitiva e inespecífica los receptores muscarínicos localizados en el sistema nervioso central, corazón, intestino y otros tejidos.

d) **Chile picante** (*Solanaceae*). El principal componente es la capsaicina, con propiedades insecticidas nematocidas constituyentes de los chiles o ajís (*Capsicum* spp.). La capsaicina (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida) es un compuesto químico activo lipofílico, inodoro, incoloro, parecido a la cera. Este compuesto es irritante para mamíferos produciendo una fuerte sensación de ardor en la boca. Los capsaicinoides (capsaicina y otras sustancias relacionadas) se producen como un metabolito secundario en diversas plantas del género *Capsicum*, probablemente para evitar ser alimento de herbívoros. Las aves en general no son sensibles a los capsaicinoides.

La capsaicina pertenece al grupo de las alcanamidas (compuestos bioactivos producto de la condensación química de un ácido con una amina y formación de una amida). El grupo funcional amida es cosmopolita ya que se encuentra en todos los organismos vivos constituyendo las uniones peptídicas (uniones entre los aminoácidos para la formación de la estructura primaria de las proteínas (Molina *et al.* 2001).

Los autores Ramírez-Chávez *et al.* (2004), recientemente, han establecido la existencia de un grupo nuevo de reguladores que incluye moléculas derivadas de lípidos como las N-acil etanolaminas (NAEs) y las alcanamidas. Las alcanamidas son compuestos conservados durante la evolución, se les encuentra en los animales regulando importantes rutas de señalización y en plantas donde regulan la ramificación de la raíz y las respuestas de defensa

Las Alcanamidas se pueden encontrar en unas cuantas familias de plantas, de los cuales los más importantes son Asteraceae, Piperaceae y Solanaceae (principalmente *Capsicum*). Cada familia tiene características individuales, pero sus moléculas bioactivas presentan estructuras químicas relacionadas (Molina *et al.* 2001).

Desde el punto de vista biogénico, las alcanamidas son una clase distinta de productos naturales formados al combinar dos diferentes rutas metabólicas. Se forman por la unión de un ácido graso (longitud de cadena de mediana a larga que puede ser de ocho a dieciocho carbonos generalmente alifática o lineal),

unida a una amina (proveniente de algún aminoácido por descarboxilación al momento de condensación) (Molina *et al.* 2001).

Las alcanidas alifáticas han demostrado su eficacia como compuestos medicinales, saborizantes e incluso en control biológico, por lo que son un grupo de metabolitos de gran interés actual. Al alterar la cadena alifática de las alcanidas por hidrogenación no cambia su poder bioactivo. Su estructura tiene algunas semejanzas con la afinina encontrada en casi todas las especies con alcanidas. La diferencia estructural más importante es que la capsaicina presencia un anillo aromático que la hace más picante; y a su vez la capsaicina carece de una doble ligadura conjugada al carbonilo de las alcanidas del *Heliopsis longipes* (chilcuague: Asteraceae), que le da propiedades de bactericida, fungicida e insecticida (Molina *et al.* 2001).

Las alcanidas son capaces de alterar en las plantas algunos procesos fisiológicos y celulares. Los reguladores del crecimiento vegetal (fitohormonas) son sustancias orgánicas sintetizadas por las plantas que influyen en su crecimiento y desarrollo, las cuales actúan directamente sobre las células que las sintetizan y pueden o no movilizarse a otros tejidos (Ortiz y López 2010; Ramírez-Chávez *et al.* 2004).

- e) **Testigo químico comercial (oxamil 24 SL)**. Es un carbamato sistémico con actividad insecticida, acaricida y nematicida con efecto residual moderado, que actúa por ingestión y contacto, bloqueando el normal funcionamiento de la colinesterasa, una enzima esencial del sistema nervioso, que permite la transmisión de impulsos nerviosos y la consecuente parálisis del sistema nervioso. Se absorbe por raíces y hojas y posee translocación acrópeta y basípeta. Interfiere en la transmisión de los impulsos nerviosos por inhibición de la colinesterasa (IRET 2017). Su vida media en el campo es de una semana. Posee cierta movilidad en el suelo y puede lixiviarse. En condiciones anaerobias, la oxidación a CO₂ y su incorporación a la materia orgánica es lenta. Se le considera ligeramente persistente (hasta 3 semanas), estable, y se descompone en medios alcalinos y lentamente en soluciones acuosas. DT50 >31 d (pH 5), 8

d (pH 7), 3 h (pH 9), acelerado por exposición al aire y luz solar. En el estudio de Farfán (2011), sobre el efecto de plaguicidas sobre el comportamiento de estadios infectivos de *M. incognita*, encontró que el testigo químico comercial afectaba en mayor grado la eclosión de los huevos, el movimiento y la supervivencia de juveniles.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en dos áreas geográficas. La etapa de campo se desarrolló en dos localidades (Rincón de Arias, Grecia y Santa Rosa, Heredia) de la zona productora de tomate en la Región Occidental de Costa Rica. La de invernadero y laboratorio, se realizó en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San Carlos, bajo condiciones controladas.

3.1 Dinámicas poblacionales en campo

El área de investigación se desarrolló en los cantones de Grecia (Rincón de Arias) y Heredia (Santa Rosa) de la Región Occidental de Costa Rica (Cuadro 1), entre los meses de setiembre 2012 y febrero de 2013. Al momento de la investigación, ambas fincas iniciaban el ciclo de desarrollo del cultivo, con 1 mes después de haber sido trasplantadas (DDT) las plantas de tomate en el campo, presentándose en la finca de Rincón de Arias el asocio con el cultivo del café con una poda bajera por lote de cerca de 4 meses; en la finca de Santa Rosa, era un terreno establecido para el cultivo del tomate con al menos 6 meses de descanso mediante barbecho. Como práctica agrícola, los agricultores, establecen el cultivo de tomate entre las hileras del cafetal recién podados con el fin de aprovechar el espacio dentro de las plantaciones, brindando el mantenimiento necesario a los cafetales y al cultivo del tomate.

Previo a los muestreos definitivos, las áreas fueron seleccionadas por el criterio de los productores de tomate que en su historial siempre presentaban nematodos de interés, y mediante confirmación de la cuantificación poblacional e identificación de fitonematodos realizadas en el Laboratorio de Nematología del ITCR. Esta comparación de plantaciones de tomate en monocultivo y en asocio con café, brindó datos sobre el comportamiento de los nematodos fitoparásitos en ambas condiciones de manejo de cultivo, en las cuales se utilizaba el sistema de riego por goteo, suministrándose semanalmente el paquete fitosanitario de

fertilizantes y plaguicidas al suelo (cipermetrina, imidacloprid). Para el control de nematodos se usa normalmente el nematicida testigo químico comercial (24 SL, 2-5 litros/ha), el cual se recomienda su aplicación entre los 25 y 30 días después del trasplante.

Se muestreó mensualmente las fincas de tomate seleccionadas. En cada una de las áreas se recolectó suelo y material radical de tres plantas que presentaron alguna sintomatología (poco desarrollo, clorosis, agallas radicales, etc.) así como tres plantas aparentemente sanas. A nivel radical se analizó esta sintomatología utilizando raíces sanas y funcionales, así como daños a nivel radical los cuales se cuantificaron para la elaboración de escalas de severidad asociadas a cada sintomatología. Con los valores poblacionales se elaboraron las gráficas de dinámicas respectivas.

A nivel de follaje se realizó el manejo sanitario en forma preventiva mediante aplicaciones con aspersores y mangueras provenientes del pulverizador hidráulico acoplado al tractor. La plantación de tomate en monocultivo fueron áreas de barbecho, mientras que la plantación de café, presentaba un ciclo de poda de renovación. Las áreas muestreadas se referenciaron mediante sistemas de posicionamiento geográfico (GPS) (Cuadro 1).

Las prospecciones se realizaron durante el primer y segundo año de la investigación. En cada uno de las áreas agrícolas se procedió a la recolección de material radical y suelo de plantas que mostraran alguna sintomatología (poco desarrollo, clorosis, agallas radicales, etc.) así como de plantas aparentemente sanas. A su vez, esta sintomatología se analizó a nivel radical utilizando inicialmente las raíces funcionales y no funcionales, así como daños a nivel radical los cuales se cuantificaron mediante pesos frescos y la elaboración de escalas de severidad asociadas a cada sintomatología.

Cuadro 1. Ubicación, coordenadas, productores y grado de asocio de las fincas tomateras consideradas en la investigación. Costa Rica, 2012-2013.

Características	Grecia	Heredia
Ubicación de las plantaciones	Rincón de Arias	Santa Rosa
Altura sobre el nivel del mar (msnm)	950	1118
Precipitación anual (mm)	2491	2500
Temperatura promedio (°C)	20	25,6
Coordenadas	10°4' N, 84°18' O	9°58' N, 84°05' O
Trasplante cultivo	7 agosto 2012	17 agosto 2012
Aplicación de testigo químico comercial (24 SL)	11 setiembre 2012	1 setiembre 2012
Asocio	Tomate y Café: Parcela 1 (sin testigo químico comercial), Parcela 2 (con testigo químico comercial)	Tomate solo (Parcela 3)

3.2 Muestreo de campo

Se recolectaron mensualmente muestras de suelo y raíces, desde uno y hasta seis meses después del trasplante, a una profundidad de 20 centímetros. Las muestras recolectadas, se acondicionaron en bolsas plásticas con la debida rotulación, y transportadas al Laboratorio de Nematología del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Santa Clara.

3.3 Análisis de muestras en Laboratorio

Cada muestra de campo se mezcló y homogenizó, para cuantificar juveniles y adultos por cada especie de fitonematodo. Para la cuantificación, determinación e identificación de las poblaciones de nematodos, las muestras de suelo y raíces se procesaron por el método de centrifugación-flotación (Esquivel 2005).

3.3.1 Sintomatología radical

Se pesaron y lavaron 25 gramos de raíces con agua limpia sobre una malla para evitar la pérdida radical. Posteriormente se determinó la sintomatología radical del cultivo mediante la evaluación del índice de severidad de nódulos en base a una escala de severidad de 0 a 6 de acuerdo a Barker (1985) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Sintomatología radical del cultivo utilizando la evaluación del índice de severidad de nódulos (Adaptado de Barker 1985).

Escala	Criterio de Agallamiento	Sintomatología (%)
0	Raíz sana	Raíz sana
1	Muy leve	1 al 10
2	Leve	11 al 20
3	Media	21 al 40
4	Moderada	41 al 70
5	Alta	71 al 90
6	Extrema	91 al 100

3.3.2 Análisis de muestras de raíces

Las raíces se lavaron y cortaron en trozos pequeños. Se pesaron 25 gramos y licuaron en dos tiempos de 10 segundos, a velocidad lenta y rápida.

La separación final de los nematodos se realizó decantando la solución obtenida sobre un juego de cribas superpuesto de 100 y 400 mallas. El material contenido en la criba de 400 mallas fue centrifugado por 5 minutos a 3000 rpm, después de descartar el sobrenadante se resuspendió el precipitado en solución azucarada (1,18 de gravedad específica) y se centrifugó nuevamente por 5 minutos a 3000 rpm.

El sobrenadante conteniendo los nematodos se decantó sobre una criba de 400 mallas, lavándose el exceso de azúcar con suficiente agua. Finalmente se procedió a coleccionar los nematodos del tamiz lavando con la ayuda de una piceta, aforando la muestra a 10 ml de los cuales se colocaron 3 ml en una placa cuenta nematodos (tipo Neubauer).

3.3.3 Análisis de muestras de suelo

Las muestras fueron homogenizadas y submuestras de 100 gramos fueron colocadas en un balde y se les realizaron dos lavados seguidos de un minuto de suspensión cada uno.

La separación final de los nematodos se realizó decantando la solución obtenida sobre un juego de cribas superpuesto de 100 y 400 mallas. El material contenido en la criba de 400 mallas fue centrifugado por 5 minutos a 3000 rpm, después de descartar el sobrenadante se resuspendió el precipitado en solución azucarada (1,18 de gravedad específica) y se centrifugó nuevamente por 5 minutos a 3000 rpm.

El sobrenadante conteniendo los nematodos se decantó sobre una criba de 400 mallas, lavándose el exceso de azúcar con suficiente agua. Finalmente se procedió a coleccionar los nematodos del tamiz lavando con la ayuda de una piceta, aforando la muestra a 10 ml de los cuales se colocaron 3 ml en una placa cuenta nematodos (tipo Neubauer).

3.3.4 Identificación de nematodos

En ambos procesos de extracción, los nematodos fueron cuantificados con la ayuda de un microscopio invertido (40x), e identificados con la ayuda de claves dicotómicas de Mai y Lyon (1975), el Manual de Fitopatología de Marbán (1987), Manual de identificación de géneros de nematodos importantes en Costa Rica (Esquivel 2006), y Índice Ilustrado de los descriptores de nematodos parásitos de plantas del Commonwealth Institute of Helminthology (CIH 1972).

3.4 Dinámicas Poblacionales en Invernadero

3.4.1 Manejo agronómico del experimento

Para la realización de esta parte de la investigación, se recolectó suelo procedente de un área agrícola de Sarchí de Alajuela, establecida de café (*Coffea arabica*, Caturra) como cultivo perenne alternado con tomate (*Solanum lycopersicum* L.), para luego ser movilizado al invernadero del Instituto Tecnológico de Costa Rica, en Santa Clara de San Carlos.

Se llenaron macetas plásticas con 10 litros de suelo, del cual se trasplantaron plántulas aclimatadas (35 días después de la siembra, dds) de un almácigo de tomate (Variedad JR) procedentes de un área libre de virus.

El manejo de la fertilización al suelo se realizó mediante la solución Nutritiva de Steiner, manteniendo durante todo el ciclo del cultivo la conductividad eléctrica en 1, en riegos controlados de 300 mililitros diarios por planta hasta la etapa de floración. Esta nutrición estaba compuesta por las sales de Sulfato de Potasio (K_2SO_4), Nitrato de Potasio (KNO_3), Sulfato de Magnesio ($MgSO_4$), Fosfato Acido de Potasio ($KHPO_4$), Nitrato de Calcio ($Ca(NO_3)_2$), y elementos menores de Sulfato de Zinc ($ZnSO_4$), Ácido Bórico (H_3PO_4) y solución completa de microelementos (Fetrilon Combi). Después de la floración y hasta la cosecha final, los riegos diarios se aumentaron a 600 ml por planta.

El manejo fitosanitario se realizó en su momento, aplicando al follaje para el control de insectos *Bacillus thuringiensis*, imidacloprid, lambda cyahalotrina, deltametrina, abamectina. Para enfermedades se utilizó carbendacina, clorotalonil, cobrethane, y mediante fertilización foliar se aplicaron multiminerales.

3.4.2 Determinación de la presencia y distribución del complejo de nematodos noduladores (*Meloidogyne* spp.)

Para esta sección, se muestrearon mensualmente plantas que corresponden a la primera y segunda siembra durante el 2014 y 2015.

Se efectuaron muestreos destructivos (parte aérea, radical y suelo) para determinar la escala radical y las poblaciones de nematodos (fitoparásitos y vida libre), desde los 30 dds, y cada 27 días hasta la cosecha final. Cada unidad experimental fue extraída, rotulada, movilizada al Laboratorio de Nematología del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Santa Clara y procesada según el “Análisis de Muestras en Laboratorio de Nematología” descrito anteriormente (Puntos 3.3.1, 3.3.2, 3.3.3 y 3.3.4).

3.5 Manejo alternativo mediante productos biológicos y extractos naturales en invernadero

3.5.1 Obtención de los productos para la experimentación

3.5.1.1 Recolección y secado de muestras vegetales

Durante el 2013 se recolectaron en campo muestras de tejidos florales de Reina de la Noche (*Brugmansia*, La Fortuna de San Carlos), tallos y hojas de Hombre Grande (*Quassia*, colección del ITCR en San Clara de San Carlos), frutos de chile picante (*Capsicum chinense*, parcelas de cultivos del ITCR en San Clara de San Carlos).

Las muestras recolectadas se secaron en un horno de convección a 60°C durante 72 horas para lograr extraer la humedad necesaria. Seguidamente se molieron finamente y se almacenaron en bolsas plásticas selladas.

3.5.1.2 Extracción de los aceites

La obtención de los aceites (principios activos de los tejidos vegetales) se realizó mediante la extracción con el equipo Soxhlet, en coordinación con la Dra. Floria Roa (Química, ITCR) y facilitado por el Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos (CEQIATEC), adscrito a la Escuela de Química del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Cartago.

La extracción Soxhlet (Figura 2) se fundamenta en las siguientes etapas (Núñez 2008):

- a) colocación del solvente (metanol) en un balón.
- b) ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
- c) el condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.
- d) ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo que vuelve el solvente con el material extraído al balón.

e) Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando en el balón del solvente y luego recolectado en viales de 20 ml de capacidad.

Cada muestra recolectada se identificó y almacenó en condiciones frescas y lejos de influencia de la luz solar, para su uso posterior.

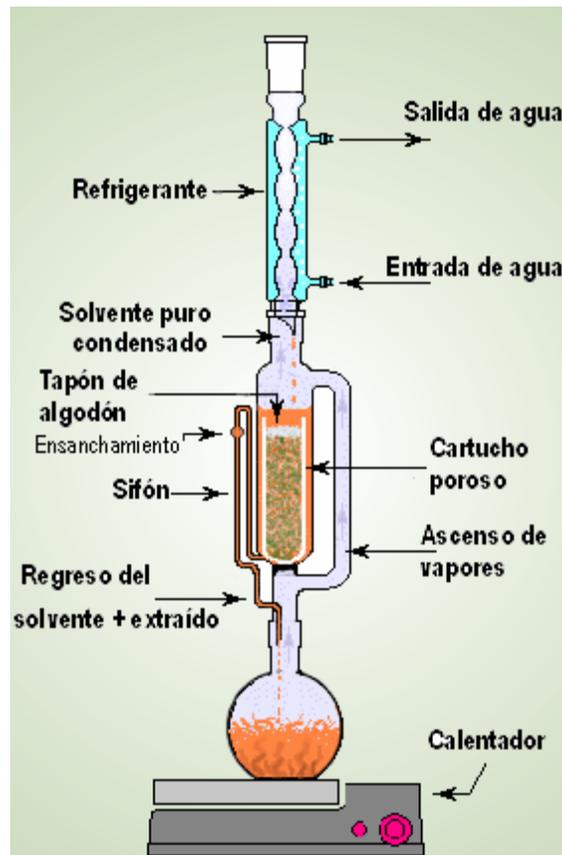


Figura 2. Extracción con Soxhlet en el momento en que se produce el sifonamiento del solvente (Según Núñez 2008).

3.5.1.3 Establecimiento de los experimentos en invernadero (Primera y segunda siembra)

Se procedió de la misma manera como en el punto 3.4.1.1. referente a la procedencia, movilización y uso del suelo de la finca de Sarchí, así como el llenado de las macetas y material vegetal empleado.

En esta experimentación se incluyen la inoculación de los tratamientos, utilizando los extractos vegetales obtenidos en el punto 3.5.1.2, con la incorporación de dos productos comerciales de venta para uso agrícola (Cuadro 4). El cronograma de las labores de trasplante, inoculaciones de nematodos, aplicación de tratamientos, muestreos y cosecha final, se detallan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Fechas de trasplante de plántulas, inoculaciones de nematodos, aplicación de tratamientos, muestreos destructivos. Primera y segunda siembra de plantas de tomate en condiciones de invernadero. San Carlos, Alajuela. Agosto 2014- Junio 2015.

Descripción	Primera siembra		Segunda siembra	
	Fecha	Días después de trasplante	Fecha	Días después de trasplante
Trasplante a macetas	10 agosto	0	12 noviembre	0
Inoculaciones de nematodos	inoculación 10% y 20%, 4 octubre	55	16 diciembre	34
Aplicación de tratamientos	26 octubre	77	15 enero	64
Primera cosecha	15 octubre	66	19 enero	70
Primer muestreo	22 setiembre	43	15 diciembre	33
Segundo muestreo	14 octubre	65	20 enero	69
Tercer muestreo	7 diciembre	119	8 febrero	88
Cuarto muestreo y cosecha final	26 diciembre	138	7 marzo	115

Las plantas fueron irrigadas tres veces al día con 100 cc de solución “Steiner” (Según punto 3.4.1.1). En el momento oportuno se realizó el manejo agronómico contra plagas y enfermedades del follaje y frutos.

Los experimentos se distribuyeron en Diseños Irrestringidos al Azar con 10 repeticiones, inoculados a razón de 100 cc por maceta (Cuadro 4 y 5).

Cuadro 4. Descripción de los tratamientos en invernadero Primera Siembra. Agosto – Diciembre 2014. San Carlos, Alajuela. 2014.

Tratamiento	Descripción	Dosis*	
1	Extracto vegetal de chile picante (<i>Capsicum annun</i>)	50 ppm	100 ppm
2	Extracto vegetal de reina de la noche (<i>Brugmansia</i>)	50 ppm	100 ppm
3	Producto comercial a base de extractos vegetales de flor de muerto (<i>Tagetes patula</i>) (80 SL)	8 cc/litro	16 cc/litro
4	Producto comercial a base de algas marinas y ácidos nucleicos (0,55 SL)	5 cc/litro	10 cc/litro
5	Testigo químico comercial (Oxamil 24 SL)	15 cc/litro	25 cc/litro
6	<i>Tricoderma</i>	1 x 10 ⁴ con/cc	5 x 10 ³ con/cc
7	Testigo inoculado 10%	585 J2 Me.	
8	Testigo inoculado 20%	1170 J2 Me.	
9	Testigo absoluto (solo agua)	0	

*: ppm: partes por millón de la sustancia pura
 cc/litro: cantidad del producto comercial por litro de solución
 con/cc: conidios por centímetro cúbico (=mililitro)
 J2 Me: cantidad de juveniles de *Meloidogyne* por 100 cc de solución

Cuadro 5. Descripción de los tratamientos en invernadero Segunda Siembra. Noviembre 2014- Junio 2015. San Carlos, Alajuela. 2015.

Tratamiento	Descripción	Dosis*	
1	Extracto vegetal de chile picante (<i>Capsicum annun</i>)	50	100
2	Extracto vegetal de reina de la noche (<i>Brugmansia</i>)	50	100
3	Producto comercial a base de extractos vegetales de flor de muerto (<i>Tagetes patula</i>) (80 SL)	8 cc/litro	16 cc/litro
4	Producto comercial a base de algas marinas y ácidos nucleicos (0,55 SL)	5 cc/litro	10 cc/litro
5	Testigo químico comercial (Oxamil 24 SL)	15 cc/litro	25 cc/litro
6	Testigo inoculado (100 cc agua)	100 J ₂ <i>Meloidogyne</i>	
7	Testigo absoluto (solo agua)	0	0

*: ppm: partes por millón de la sustancia pura
 J2 Me: cantidad de juveniles de *Meloidogyne* por 100 cc de solución

Se efectuaron muestreos destructivos (parte aérea, radical y suelo) para determinar la escala radical y las poblaciones de nematodos (fitoparásitos y vida

libre), desde los 30 dds, y cada 27 días hasta la cosecha final. Cada unidad experimental fue extraída, rotulada, movilizada al Laboratorio de Nematología del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Santa Clara y procesada según el “Análisis de Muestras en Laboratorio de Nematología” descrito anteriormente.

La cosecha de frutos de la primera siembra se inició a los 66 días y hasta los 138 días después de trasplante, mientras que la segunda siembra se inició a los 70 días y hasta los 115 días después de trasplante (Cuadro 2).

3.5.1.4 Estimación de juveniles de *Meloidogyne*

A partir de los resultados poblacionales de los estadios infectivos de los nematodos, se generó una escala para estimar el nivel poblacional de estos microorganismos dentro del cultivo.

Para la determinación de las escalas, se utilizó la metodología descrita por Guzmán *et al.* (2011), en la cual se consideraron los resultados obtenidos en los modelos matemáticos de regresión de las dinámicas poblacionales, durante los muestreos el ciclo productivo del cultivo del tomate. Para la elaboración de este instrumento, se utilizaron las poblaciones desde la siembra y hasta la fase final del cultivo. Esta escala presenta valores de “cero” a “cinco” generados a partir de los valores mínimos y máximos obtenidos en cada una de las fechas de muestreo, así como la edad promedio de las plantaciones en el momento.

Para la aplicación de la escala, se asumió el valor cero, como nivel no problemático y el valor cinco como nivel crítico. Además, se consideró el valor medio de cada uno de los muestreos para utilizarlo como referencia y poder establecer la ecuación general de mejor ajuste sobre el comportamiento de las poblaciones del nematodo y de este modo que el monitoreo mensual permita mantener niveles de infección por debajo de este nivel.

3.5.1.5 Diseño experimental

El arreglo espacial de los tratamientos en las pruebas de invernadero corresponde a un Diseño Irrestricto al Azar.

a) Primera Siembra.

El modelo de este diseño completamente al azar con arreglo trifactorial corresponde a:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + D_j + T_k + C_i * D_j + C_i * T_k + D_j * T_k + C_i * D_j * T_k + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Variable dependiente (observación)

μ = Media de la población

P_i = Efecto de la i-ésimo del tratamiento

D_j = Efecto de la j-ésima concentración

T_k = Efecto del k-ésimo tiempo

$P_i * D_j$ = Efecto de la interacción del tratamiento y la concentración

$P_i * T_k$ = Efecto de la interacción del tratamiento y el tiempo

$D_j * T_k$ = Efecto de la interacción de la concentración y el tiempo

$P_i * D_j * T_k$ = Efecto de la interacción del tratamiento, la concentración y el tiempo

ϵ_{ijk} = Error experimental

El diseño experimental utilizado en la Primera Siembra corresponde a un Diseño Irrestricto al Azar con arreglo trifactorial, donde el factor A con nueve niveles (tres extractos vegetales, un derivado de algas marinas, un compuesto químico, un hongo nematófago, dos testigos inoculados con juveniles de *Meloidogyne* y un testigo solo con agua), el factor B corresponde a las dosis en que se aplicaron los diferentes niveles del Factor A (dos concentraciones). También se realizaron cuatro muestreos (43, 65, 119 y 138 días después de trasplante).

Para cada combinación de los factores A, B se instalaron diez repeticiones, para un total de 90 unidades de muestreo (9 x 2 x 4 x 5 de los tratamientos). Cada repetición presentaba una única planta de tomate.

b) Segunda Siembra.

El modelo de este diseño completamente al azar con arreglo trifactorial corresponde a:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + D_j + T_k + C_i * D_j + C_i * T_k + D_j * T_k + C_i * D_j * T_k + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Variable dependiente (observación)

μ = Media de la población

P_i = Efecto de la i-ésimo del tratamiento

D_j = Efecto de la j-ésima concentración

T_k = Efecto del k-ésimo tiempo

$P_i * D_j$ = Efecto de la interacción del tratamiento y la concentración

$P_i * T_k$ = Efecto de la interacción del tratamiento y el tiempo

$D_j * T_k$ = Efecto de la interacción de la concentración y el tiempo

$P_i * D_j * T_k$ = Efecto de la interacción del tratamiento, la concentración y el tiempo

ϵ_{ijk} = Error experimental

El diseño experimental utilizado en la Segunda Siembra corresponde a un Diseño Irrestricto al Azar con arreglo trifactorial, donde el factor A con siete niveles (tres extractos vegetales, un derivado de algas marinas, un compuesto químico, un testigo inoculado con juveniles de *Meloidogyne* y un testigo solo con agua), el factor B corresponde a las dosis en que se aplicaron los diferentes niveles del Factor A (dos concentraciones). También se realizaron cuatro muestreos (33, 69, 88 y 115 días después de trasplante).

Para cada combinación de los factores A, B y C se instalaron diez repeticiones, para un total de 70 unidades de muestreo (7 x 2 x 4 x 5 de los tratamientos). Cada repetición presentaba una única planta de tomate.

3.6 Opciones de manejo alternativo mediante productos biológicos y extractos naturales en laboratorio

Esta investigación realizada durante el segundo semestre del 2014 e inicios del 2015, incluye la inoculación de los tratamientos, utilizando los extractos vegetales obtenidos en el punto 3.5.1.2, con la incorporación de dos productos comerciales de venta para uso agrícola.

3.6.1 Obtención de los nematodos

Se trasladaron plantas del invernadero al laboratorio de Nematología con la presencia de agallas radicales para proceder a la extracción de los nematodos mediante la “técnica de lavado y burbujeo” descrita a continuación:

- a) Se pesaron 30 gramos de raíces de tomate limpias y lavadas con agua, con signos visibles de agallas y se cortaron en trozos pequeños de 1 centímetro.
- b) Las raíces colocadas en un recipiente con tapa, se les agregó 100 cc de solución de Cloro (0,2%), y se agitaron durante 5 minutos.
- c) Después del agitado se procede a colocar el material vegetal en un juego de cribas superpuesto de 35, 170 y 400 mallas (mesh) para realizar el lavado de los residuos de cloro con agua potable.
- d) El material obtenido en la criba de 35 mesh se coloca en un recipiente con 250 cc de agua destilada, al cual se le coloca un sistema formación de burbujas mediante un motor de oxigenación. La circulación de aire dentro del recipiente se deja por 24 horas, posteriormente se extraen alícuotas del líquido burbujeado para realizar conteos de estadios infectivos de *Meloidogyne* (huevos, juveniles J₂, adultos).
- e) Cuando existen suficientes niveles poblacionales de juveniles J₂ del nematodo, se procede a la extracción mediante la “pesca manual” utilizando pescadores de pelo fino.

3.6.2 Acondicionamientos de los nematodos

Se extrajeron juveniles (J2) de *Meloidogyne* de una suspensión saturada de raíces de tomate y se colocaron en Placas para Microfloculación de Cristal (1,5 cm de diámetro, 12 cavidades) (Figura 3). En cada cavidad con 50 microlitros (μ l) de agua destilada se colocaron 10 juveniles para un total de cuatro repeticiones por tratamiento.



Figura 3. Placa para Microfloculación de Cristal, en la cual se observan las 12 cavidades y el “pescador” utilizado para el traspaso de los nematodos.

3.6.3 Aplicación de los tratamientos

Acondicionados los juveniles, se inocularon los tratamientos (Cuadro 5). En cada cavidad se colocaron 100 μ l de cada tratamiento con el fin de que los nematodos queden en suspensión y se observe la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas después de la exposición.

Cuadro 6. Tratamientos aplicados en el experimento de mortalidad de *Meloidogyne* en condiciones controladas de laboratorio. Julio 2014-Junio 2015. San Carlos, Alajuela. 2015.

Tratamiento	Descripción	Simbología	Concentración (ppm)@	
1	Extracto vegetal de chile picante (<i>Capsicum annun</i>)	chile picante	50	100
2	Extracto vegetal de reina de la noche (<i>Brugmansia</i>)	reina de la noche	50	100
3	Producto comercial a base de extractos vegetales de flor de muerto (<i>Tagetes patula</i>) (80 SL)	tagetes	50	100
4	Producto comercial a base de algas marinas y ácidos nucleicos (0,55 SL)	algas marinas	50	100
5	Testigo comercial químico (Oxamil 24 SL, testigo comercial)	testigo químico comercial	50	100
6	Testigo absoluto (solo agua)	testigo absoluto	0	0

@: concentración partes por millón del ingrediente activo o molécula bioactiva

3.6.3.1 Diseño experimental

El arreglo espacial de los tratamientos en la prueba de laboratorio corresponde a un Diseño Irrestricto al Azar.

Se distribuyó en seis tratamientos (Cuadro 6) con cuatro repeticiones, para un total de 60 unidades experimentales.

El modelo de este diseño corresponde a:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable dependiente (observación)

μ = Media de la población

τ_i = Efecto de la i -ésimo tratamiento

ε_{ij} = Error Experimental

3.6.4 Análisis Estadísticos

3.6.4.1 Dinámicas poblacionales

Se realizaron gráficos acumulados de la cuantificación poblacional por género de nematodo para observar el comportamiento de los mismos durante los distintos muestreos y ciclos de cultivo, tanto en campo como en invernadero.

Se procedió a comprobar los supuestos de normalidad y de homoscedasticidad, mediante la prueba Shapiro-Wilk y la prueba F de igual de varianzas, respectivamente.

Se utilizó la técnica de Modelos Mixtos (modelos con factores fijos como los tratamientos y factores aleatorios, como la siembra y la maceta). Adicionalmente se utilizó DDT (días después del trasplante) como covariable, de manera que las comparaciones entre tratamientos se hacen ajustando los promedios por el número de DDT. Al no tener las distribuciones normales, se realizó un análisis exploratorio inicial, transformando (logaritmo) las variables. Este análisis resalta que en algunas variables se observe un mejor ajuste.

Los datos se transformaron utilizando el logaritmo base 10 del dato+0.5. Para comparar promedios de tratamientos se utilizó el método de Tukey-Kramer.

Los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas de normalidad y homocedasticidad, pruebas de comparación de medias entre tratamientos y períodos de muestreo (DDT) (significancia de $\alpha=0,05$) (Di Rienzo *et al.* 2014).

Comprobados estos supuestos, se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables en estudio, mediante la técnica denominada modelos lineales generales y mixtos (MLG), siguiendo el modelo de un diseño completamente al azar con arreglo trifactorial, únicamente con efectos fijos (producto, dosis, tiempo).

Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico InfoStat/P 2015 (Di Rienzo *et al.* 2014).

3.6.4.2 Mortalidad de *Meloidogyne* en laboratorio

Se realizó un análisis de varianza para un tri-factorial (Producto x Dosis x Horas), con una prueba Tukey.

Se analizaron las pruebas de normalidad y de homocedasticidad y no se cumplen los supuestos (en estos casos, con el MLMix solo se corrige la heterocedasticidad).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Experimentación en campo

Como práctica agrícola, los agricultores, establecen el cultivo de tomate entre las hileras de café recién podados con el fin de aprovechar el espacio dentro de las plantaciones, brindando el manejo agronómico necesario a los cafetales y al cultivo del tomate, relacionado tanto al control de plagas como en fertilización. Para el control de nematodos se usa normalmente testigo químico comercial (oxamil 24 SL), el cual se recomienda su aplicación entre los 25 y 30 días después del trasplante.

En esta investigación, tanto en suelo como en raíces de tomate se identificaron las especies de fitonematodos *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Criconemoides*, y *Pratylenchus*. Para la discusión de resultados, se considera solamente el género *Meloidogyne*.

4.1.1 Sintomatología radical

Los daños a nivel radical en el cultivo del tomate fueron evaluados usando la evaluación del índice de severidad de nódulos (Cuadro 2). En el Cuadro 7, se aprecia que desde el tercer mes después del trasplante se empiezan a dar evidencia de la presencia de agallas radicales. Las parcelas en las cuales estaba asociado el tomate con café presentaron los mayores niveles de agallas (hasta del 90%), mientras que la parcela del tomate en monocultivo no presentó agallas ni poblaciones de *Meloidogyne* durante el periodo de evaluación (Cuadro 6). Esta ausencia de agallas se puede asociar al periodo en barbecho (cerca de 3 años) existente antes de la siembra del monocultivo, siendo predominantes las malezas gramíneas.

Cuadro 7. Porcentaje de agallas radicales asociadas a *Meloidogyne* respecto a raíces sanas en el cultivo del tomate, en plantaciones con y sin asocio con café. Costa Rica, 2012-2013.

Criterio / Parcela	Porcentaje de agallamiento (peso raíces agalladas/peso total raíces)							
	3 mdt *		4 mdt		5 mdt		6 mdt	
	%	Escala	%	Escala	%	Escala	%	Escala
Parcela 1 (sin testigo químico comercial, tomate asociado con café)	0,05	0	30	3	90	5	90	5
Parcela 2 (con testigo químico comercial, tomate asociado con café)	0,05	0	90	5	17	2	90	5
Parcela 3 (tomate solo)	0,05	0	0	0	0	0	0	0

*: mdt (meses después del trasplante). Evaluación de 1 y 2 mdt no presentaron valores de agallamiento.

Este aumento del agallamiento, se puede atribuir a la pérdida de la efectividad del nematicida químico en el tiempo, ya que estos valores se incrementan cerca de 4 meses después del trasplante (3 meses después de la aplicación en el sistema de riego por goteo).

4.1.2 Dinámicas poblacionales de *Meloidogyne* spp.

A continuación, se presentan los resultados de la identificación y cuantificación de los principales nematodos observados en el cultivo del tomate. Los resultados de esta sección 4.1.2, en la cual las pruebas realizadas de esta parte mediante “Modelos Mixtos (Mixed)” en la que comparó los tratamientos contra el TSI, no presentaron diferencias entre tratamientos (Anexo 9).

4.1.2.1 Primer muestreo, 1 mes después del trasplante

En esta fecha, sólo la finca establecida con tomate en asocio con café (Parcela 1 y 2) en Grecia, estaba en edad fenológica para realizar las extracciones de nematodos.

En las muestras extraídas de suelo y raíces, se aprecia que las áreas aplicadas con nematicida presentaron menores poblacionales para *Meloidogyne* comparadas con las áreas sin aplicación (Figura 4).

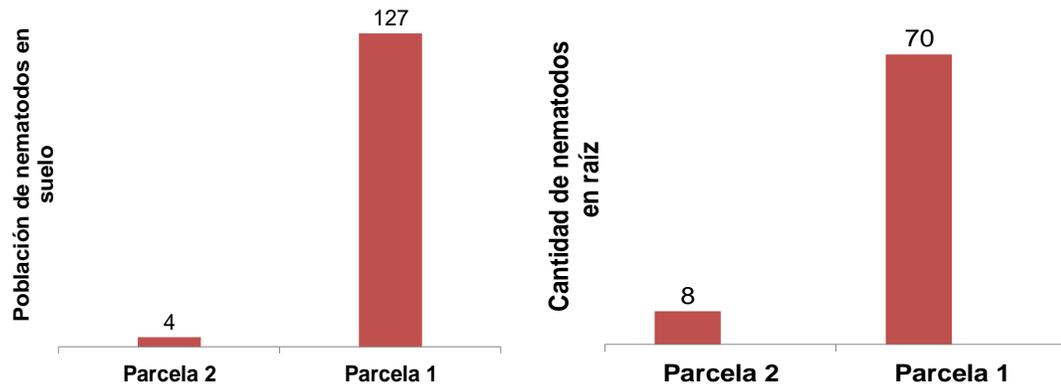


Figura 4. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Un mes después del trasplante (30 días DDT). Setiembre 2012.

4.1.2.2 Segundo muestreo, 2 meses después del trasplante

Ambas fincas presentaron poblacionales importantes bajas de *Meloidogyne*. El efecto del nematicida sistémico provoca que, a nivel interno de las raíces, las cantidades de nematodos tiendan a reducirse en niveles importantes, creando un efecto de control al menos por un periodo de un mes (Figura 5). En la parcela 3 (cultivo de tomate solo) se cuantificaron 2 individuos de *Meloidogyne*, mientras que en la parcela 1 (tomate en asocio con tomate sin aplicación de testigo químico comercial) se encontraron 15 individuos, y en la parcela tratada con el nematicida, no se presentaron individuos de *Meloidogyne*.

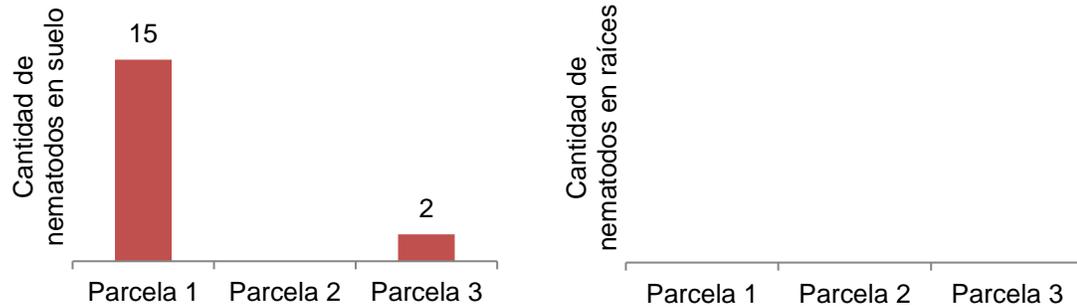


Figura 5. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Dos meses después del trasplante (62 días DDT). Octubre 2012.

4.1.2.3 Tercer muestreo, 3 meses después del trasplante

En esta etapa, se había iniciado la cosecha de los frutos y es normal que las plantas necesiten más requerimientos de nutrición y agua, principalmente. El aumento en la cantidad de raíces, crea el espacio necesario para que se incrementen considerablemente las poblaciones de nematodos.

A nivel de suelo, la parcela con testigo químico comercial (Parcela 2), presenta 90 individuos de *Meloidogyne*. Mientras que la parcela 1 (tomate con café, sin oxami), hay una reducción en las poblaciones. Este efecto es posiblemente debido a que es esa etapa los nematodos estaban en proceso de migración entre raíces nuevas, por lo que el suelo presentaba poblaciones significativas de juveniles de *Meloidogyne*. La parcela con tomare sin asocio, no se encontraron individuos (Figura 6).

Las poblaciones de *Meloidogyne* en raíces varió en mayor cantidad, respecto a las poblaciones determinadas en suelo. En las parcelas sin aplicación del nematicida, se cuantificaron 651 individuos de *Meloidogyne*, y de 55 individuos en las parcelas con aplicación de testigo químico comercial. El área de tomate sin asocio, se contaron 28 indiviuos del nematodo en estudio (Figura 6).

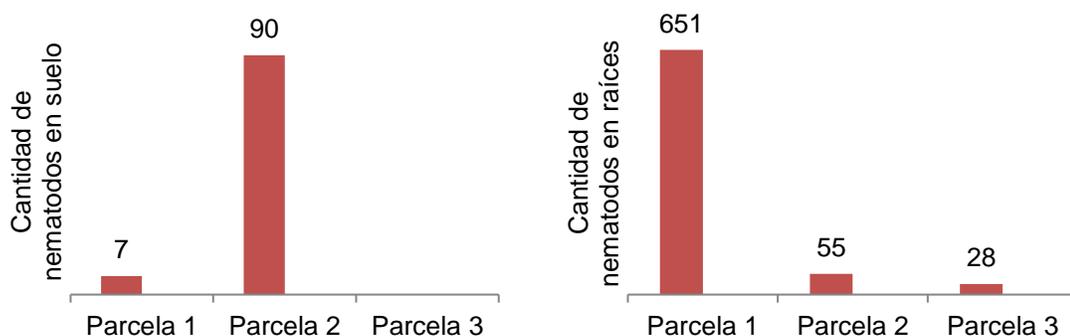


Figura 6. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Tres meses después del trasplante (98 días DDT). Noviembre 2012.

4.1.2.4 Cuarto muestreo, 4 meses después del trasplante

Los niveles de *Meloidogyne* en suelo aumentaron respecto al muestreo anterior, posiblemente por la pérdida del efecto nematocida, aunado al uso de las enmiendas aplicadas con el riego por goteo. Las poblaciones en suelo se encontraron en mayor cantidad en las parcelas con aplicación de nematocida (50 individuos), comparadas con las parcelas sin nematocida (48) y tomate sin asocio (0) (Figura 7).

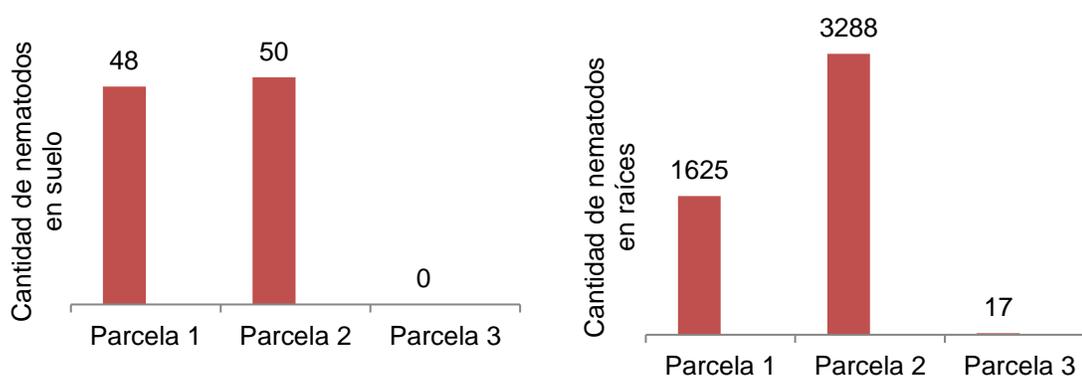


Figura 7. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Cuatro meses después del trasplante (122 días DDT). Diciembre 2012.

Las poblaciones de *Meloidogyne* en raíces aumentaron en gran cantidad, comparadas con el mes anterior (1625 individuos, Parcela 1, sin testigo químico comercial), Parcela 2 (con testigo químico comercial, 3288 individuos), mientras que en la Parcela 3 (cultivo solo) se presentaron solamente 17 individuos. Estas variaciones son posiblemente al reducirse el efecto del nematicida.

4.1.2.5 Quinto muestreo, 5 meses después del trasplante

Los niveles poblacionales de *Meloidogyne* se incrementaron talvez por ser unas de las últimas etapas de cosecha y la consecuente disminución del manejo de plagas. A nivel de suelo (Figura 8), en las parcelas sin nematicida se determinaron 3100 individuos, mientras que las áreas con nematicidas se cuantificaron 220. Las áreas donde se estableció el tomate en monocultivo, no se determinaron individuos de *Meloidogyne*.

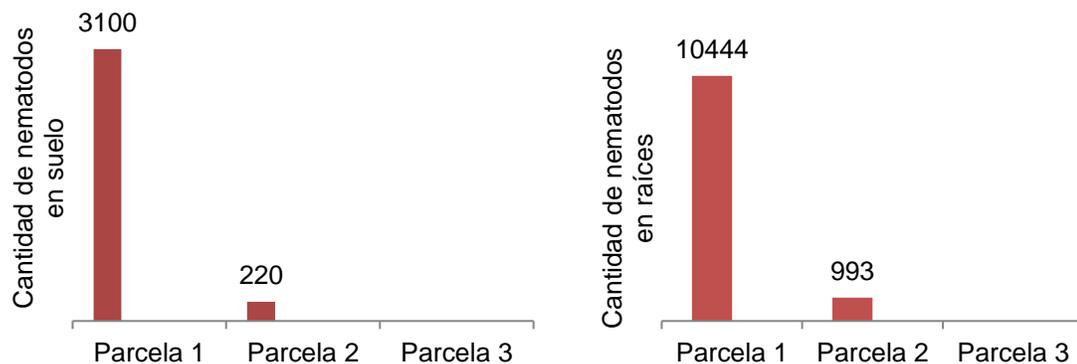


Figura 8. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Cinco meses después del trasplante (169 días DDT). Enero 2013.

En raíces se determinaron 10444 individuos de *Meloidogyne* en parcelas sin nematicida y de 993 en parcelas con nematicida. Las poblaciones de nematodos en la parcela de tomate sin asocio son muy bajas (Figura 8).

4.1.2.6 Sexto muestreo, 6 meses después del trasplante

Para este muestreo, las prácticas agronómicas en el cultivo se redujeron debido a que el pico de producción ya fue superado, y no justifica realizar manejo de plagas y fertilización.

A partir de esta fecha, los niveles poblacionales de *Meloidogyne* tanto en suelo como en raíces de la Parcela 1 se incrementaron considerablemente. En suelo se determinaron 7300 y 2800 individuos en las parcelas sin (Parcela 1) y con (Parcela 2) nematicidas, respectivamente. En raíces se cuantificaron 59200 individuos en las parcelas sin nematicida (Parcela 1) y 68467 individuos en las parcelas con nematicidas (Parcela 2) (Figura 9).

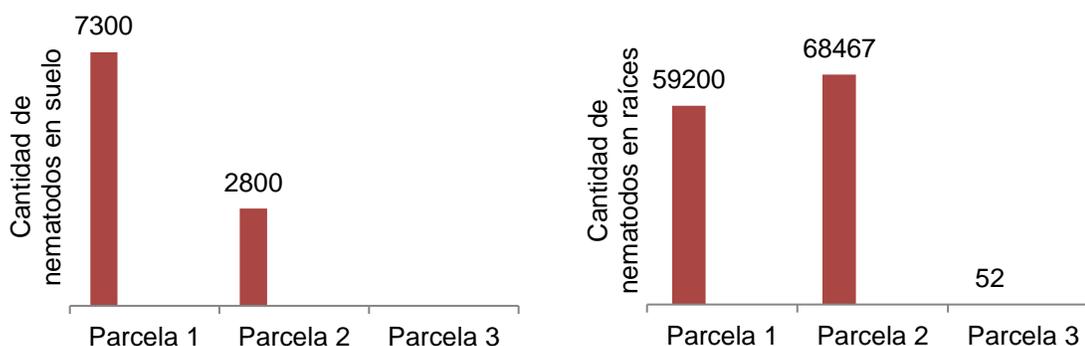


Figura 9. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de plantaciones de tomate. Seis meses después del trasplante (198 días ddt). Febrero 2013.

En la parcela de tomate en monocultivo, se cuantificaron poblaciones de 52 individuos de *Meloidogyne*. Estas cantidades de *Meloidogyne* son relativamente bajas comparados con las parcelas en asocio con café.

4.2. Manejo alternativo mediante productos biológicos y extractos naturales en invernadero.

A nivel de invernadero se implementó el estudio de las dinámicas poblacionales de los nematodos para tratar de disminuir las fuentes posibles de error que en el campo se pueden presentar, entre ellas el clima y el manejo de los agricultores.

Tanto en suelo como en raíces de tomate se identificaron las especies de nematodos *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus* y *Tylenchus*, así como de Vida Libre.

Seguidamente se presentan los resultados de la identificación y cuantificación de individuos de *Meloidogyne* observados en el cultivo del tomate en condiciones de invernadero bajo dos siembras consecutivas.

4.2.1 Dinámicas poblacionales (Primera siembra).

4.2.1.1 Primer y segundo muestreo, 43 y 65 días después del trasplante (ddt)

Estas dos evaluaciones se realizaron solamente en 25 gramos de raíces de tomate a los 43 días después del trasplante (ddt) considerándose éste como el muestreo inicial poblacional, y posteriormente a los 65 ddt, con la finalidad de ver los cambios poblacionales desde el trasplante de las plantas en invernadero. A los 55 ddt se inocularon los tratamientos con juveniles de *Meloidogyne* (10% y 20% que equivalen a 585 huevos y juveniles, y 1170 huevos y juveniles respectivamente, del muestreo previo), con el fin de evaluar los niveles poblacionales del nematodo en el tiempo (Figura 10).

Las poblaciones de *Meloidogyne* en raíces a los 43 ddt alcanzaron valores de 14640 individuos, población que disminuyó a 3950 a los 65 ddt. Esto puede deberse a un aumento del recurso radical que propicia que existan una distribución más homogénea de los nematodos en las raíces presentes (Figura 10).

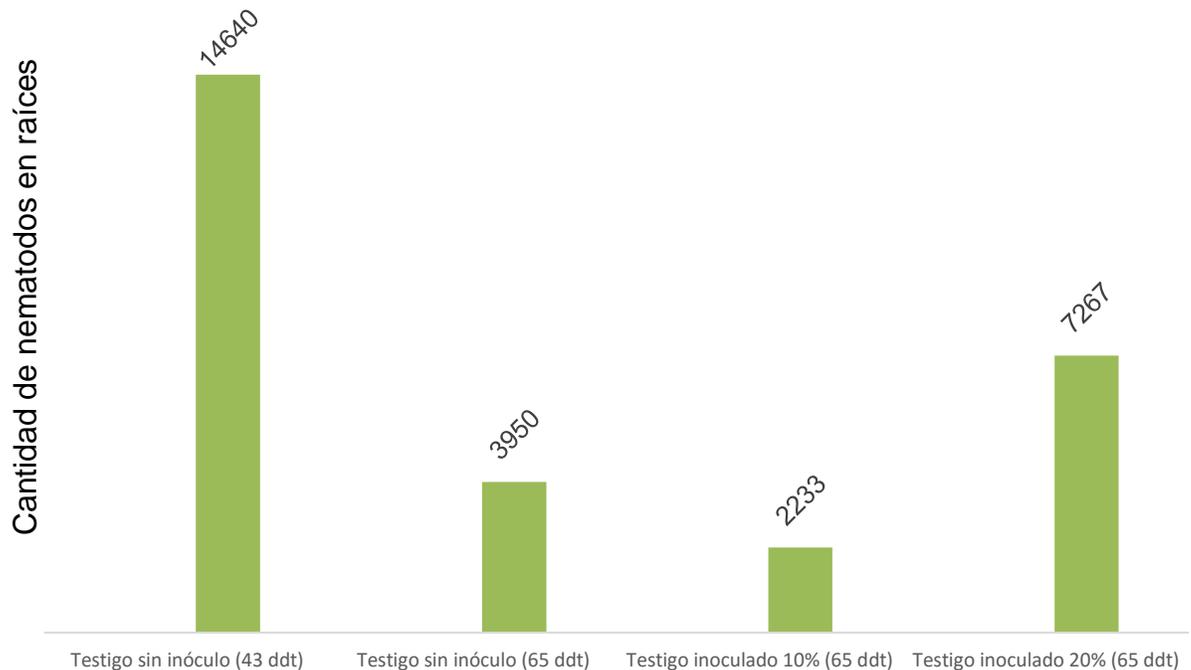


Figura 10. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíz de tomate en condiciones de invernadero. 43 y 65 días después del trasplante (ddt). Agosto y Setiembre 2014.

A la edad de 65 ddt, las plantas sin inóculo de nematodos presentaron 3950 individuos. El inocular huevos y juveniles de nematodos fomenta el aumento poblacional del nematodo en las raíces de tomate, pero no en la proporción esperada, ya que en las que se habían inoculado mostraban 2233 (10%) y 7267 (20%) individuos de *Meloidogyne*. (Figura 10).

4.2.1.2 Tercer muestreo, 119 días después del trasplante (ddt)

En este tercer muestreo, se evaluaron las poblaciones de *Meloidogyne* tanto en suelo (100 gramos) como en raíces (25 gramos). Los tratamientos se aplicaron 22 días después de la inoculación de los nematodos, y la evaluación poblacional se realizó 43 días después de aplicar los distintos tratamientos (119 ddt).

En la Figura 11 se presentan las poblaciones de *Meloidogyne* en suelo, los tratamientos que presentaron mayores valores son tagetes (40200 individuos, 8 cc/litro), tagetes (12300 individuos, 16 cc/litro), reina de la noche (10667 individuos, 100 ppm), y el testigo inoculado 10% (8533 individuos, 10%).

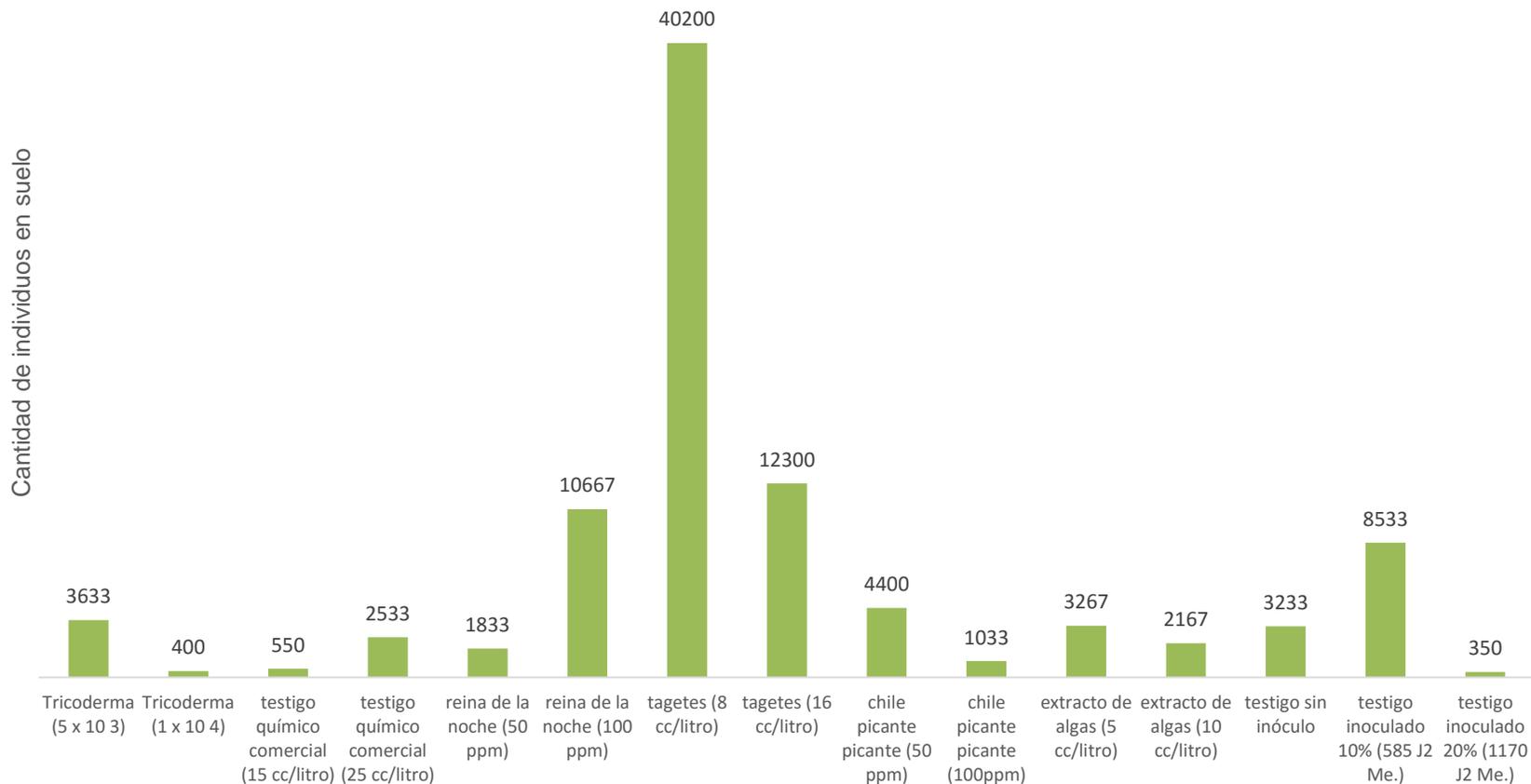


Figura 11. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 119 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014.

Los tratamientos que presentaron bajos niveles poblacionales son testigo químico comercial (550, 15 cc/litro), *Tricoderma* (400, 1×10^4) y el testigo inoculado 20% (350) (Figura 11).

El comportamiento de *Meloidogyne* en raíces es un poco diferente al obtenido en suelo, ya que los tratamientos con mayores poblaciones fueron testigo inoculado 20% (47300 individuos), tagetes (42200, 8 cc/litro), reina de la noche (33267, 100 ppm), y *Tricoderma* (28500, 1×10^4). Los tratamientos con menores poblaciones fueron extracto de algas (733, 10 cc/litro), extracto de algas (3767, 5 cc/litro) y testigo inoculado 10% (5200) (Figura 12).

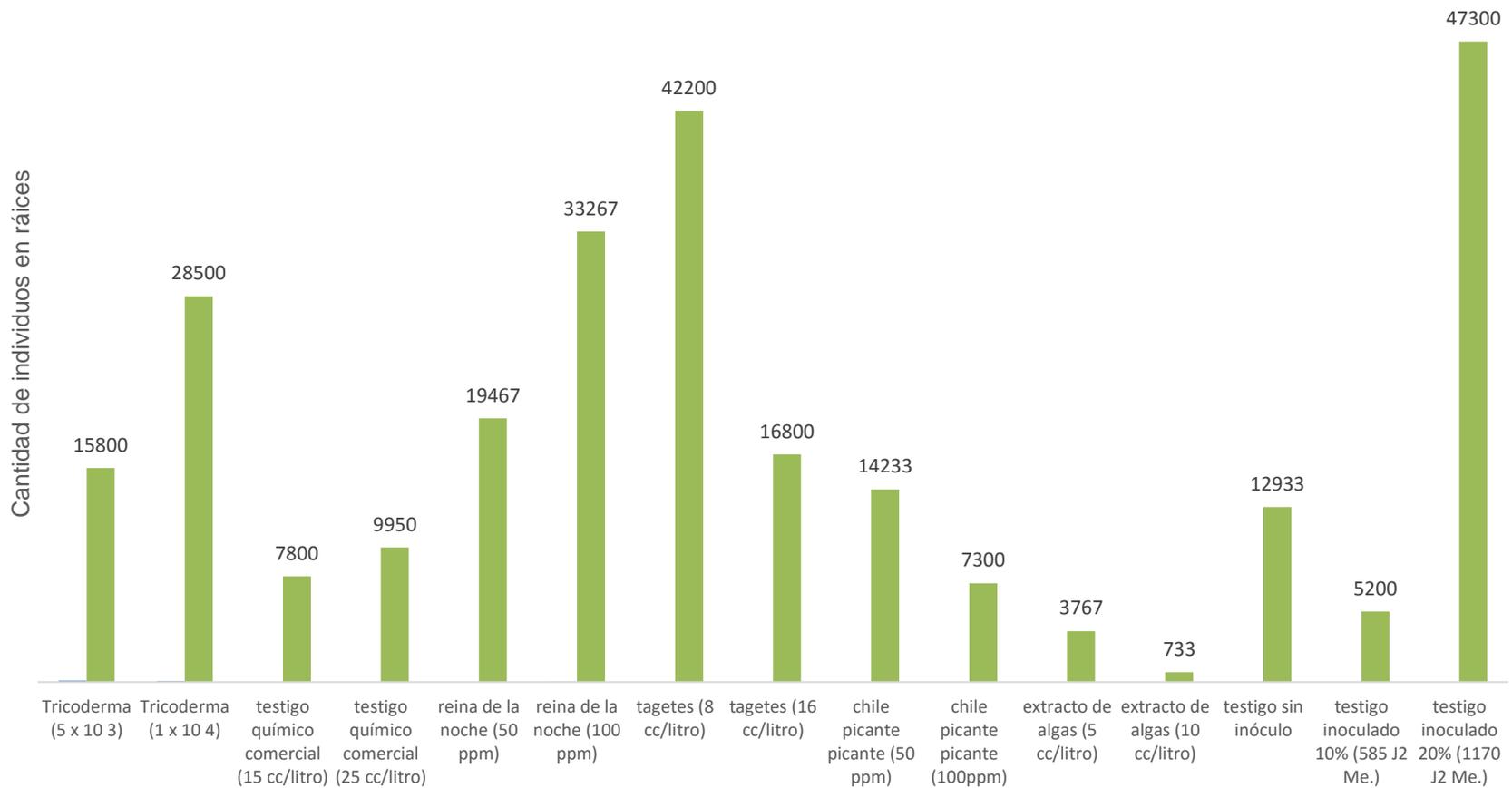


Figura 12. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíces de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 119 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014.

4.2.1.3 Cuarto muestreo, 138 días después del trasplante (ddt)

En el cuarto muestreo, se evaluaron las poblaciones de *Meloidogyne* tanto en suelo como en raíces. La cuantificación poblacional se realizó 61 días después de aplicar los distintos tratamientos (138 ddt).

En la Figura 13 se aprecia que los tratamientos de extracto de algas (10 cc/litro) presentan los valores más altos en cuanto a poblaciones de *Meloidogyne* con 28100 individuos por 100 gramos de suelo. Los tratamientos extracto de algas (5 cc/litro) y *Trichoderma* (1×10^4), presentaron valores ligeramente menores de 8533 y 7945, respectivamente.

El testigo químico comercial (15 y 25 cc/litro), reina de la noche (50 ppm), así como chile picante (100 y 50 ppm), cuantificaron poblaciones menores a 1000 individuos de *Meloidogyne* (100 gramos suelo) (50, 567, 200, 767, 800, respectivamente) (Figura 13).

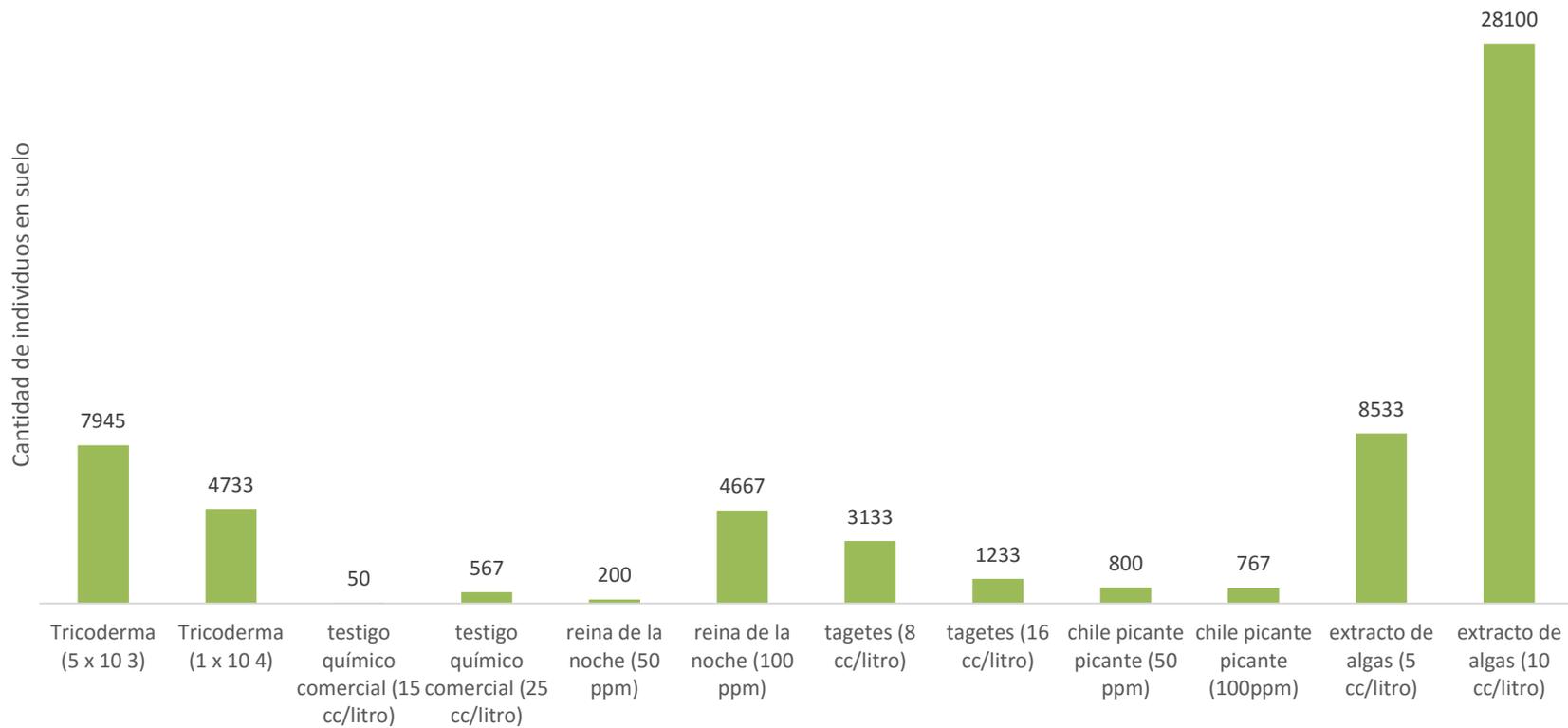


Figura 13. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 138 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014.

En la Figura 15, los tratamientos de extracto de algas (10 cc/litro), chile picante (50 ppm), testigo químico comercial (25 cc/litro), *Tricoderma* en ambas concentraciones (1×10^4 , 5×10^3), son los que cuantificaron mayores poblaciones de *Meloidogyne* con 39133, 29167, 26233, 25833 y 18253 individuos (25 gramos de raíces).

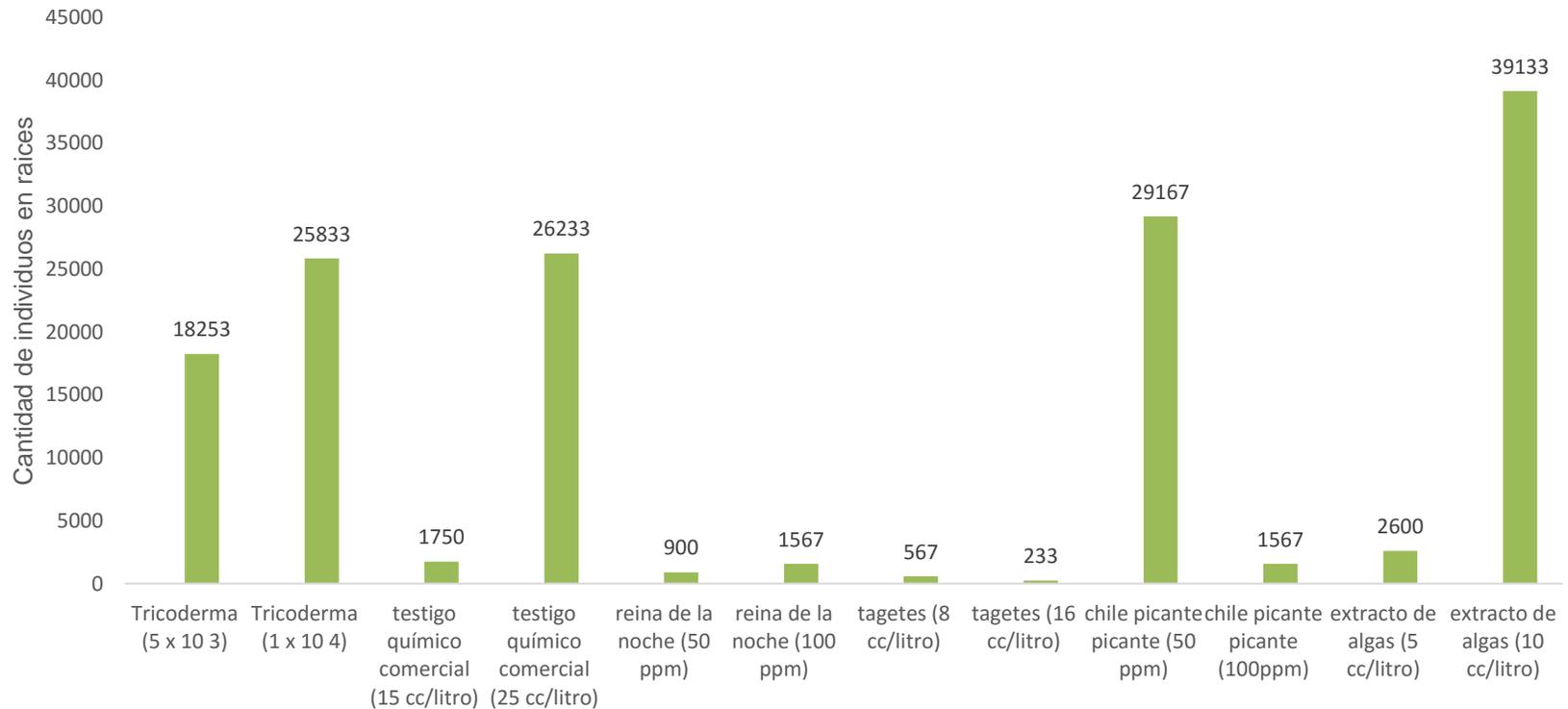


Figura 14. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíces de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 138 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014.

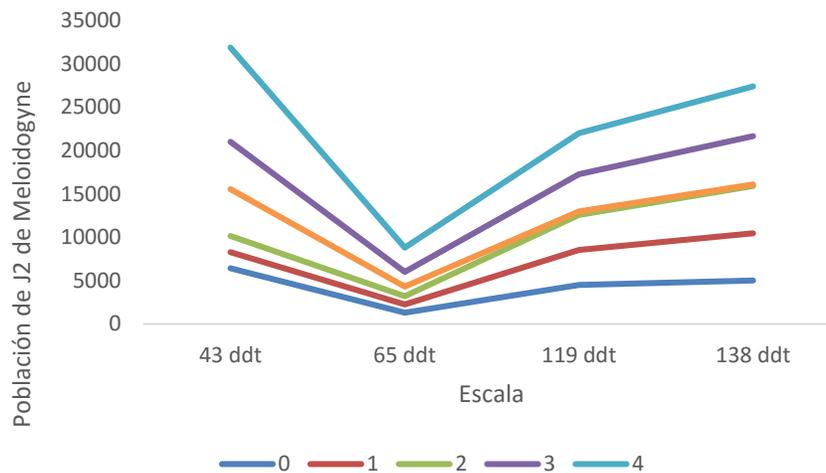
En los tratamientos tagetes (16 cc y 8 cc/litro), y reina de la noche (50 ppm) las poblaciones de *Meloidogyne* no sobrepasaban de 1000 nematodos por 25 gramos de raíces (233, 567, 900 individuos respectivamente) (Figura 14).

4.2.1.4 Estimación de juveniles de *Meloidogyne* en raíces de tomate.

Con los valores poblacionales de los juveniles de *Meloidogyne*, se generó la escala de 0 a 5 (Figura 15), en la cual se aprecian las fechas de muestreo, así como la edad promedio de las plantaciones.

En este caso, el valor no problemático de la escala “0” es de 6420 individuos, y el valor “4” nivel crítico es de 31860 individuos en 25 gramos de raíces. Si estos valores los comparamos con los umbrales determinados por Talavera (2003), todos los niveles poblacionales superan el nivel de daño económico, máxime que el suelo utilizado en la investigación procedía de un área agrícola cafetalera con historial de presentar niveles significativos de *Meloidogyne*, y después del trasplante de las plántulas se realizaron inoculaciones del nematodo en estudio.

En la misma figura se expresa la ecuación general que explica el comportamiento de las poblaciones del *Meloidogyne*.



(Ecuación de mejor ajuste $Y=327084,44 -140365,40*\ln(DDS) + 31938,74*\sqrt{DDS} + (Escala)^2$, con un $R^2: 0,87$) (Anexo1, Anexo 2, Anexo3).

Figura 15. Escala de Juveniles de *Meloidogyne* en raíces de tomate. Primera Siembra. Diciembre 2014.

Cuadro 8. Escala de estimación de *Meloidogyne* en función de la fecha de siembra (individuos en 25 gramos de raíces) en tomate en condiciones de invernadero. Primera Siembra. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2014.

Escala	Días después del trasplante (DDT)			
	0-43	44-65	66-119	120-138
0	≤6420	≤-1300	≤-4500	≤-5000
1	6421-8280	1301-2250	4501-8525	5001-10450
2	8281-10140	2251-3200	8526-12550	10451-15900
3	10141-21000	3201-6000	12551-17275	15901-21650
4	21001-31860	6001-8800	17276-22000	21651-27400
5	≥31861	≥8801	≥22001	≥27401

4.2.1.5 Producción de frutos de tomate (Primera siembra)

La producción inició el 15 de octubre y finalizó el 11 de noviembre de 2014 (27 días), los valores se contabilizan como peso de frutos en gramos.

Los datos obtenidos no se muestran muy acordes con lo esperado ya que aun después de las inoculaciones de nematodos y aplicación de los tratamientos, el extracto de algas (10cc/litro), testigo inoculado 20% (1170 J2 Me.) y el testigo sin inóculo, son los que presentaron menores pesos de frutos a la cosecha (226,18; 346, 86 y 403,69 gramos respectivamente) (Cuadro 8).

Cuadro 9. Pesos finales de frutos de tomate bajo distintos tratamientos en condiciones de invernadero. Primera Siembra. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2014.

Tratamientos	Peso frutos (gramos)
Extracto de Algas (10 cc/litro)	226,18
Testigo inoculado 20% (1170 J2 Me.)	346,86
Testigo sin inóculo	403,69
Chile picante (100ppm)	426,25
Extracto de Algas (5 cc/litro)	473,63
Testigo químico comercial (15 cc/litro)	503,98
<i>Tricoderma</i> (1 x 10 ⁴)	562,19
Reina de la noche (50 ppm)	597,46
Testigo químico comercial (25 cc/litro)	622,90
Tagetes (8 cc/litro)	661,20
Tagetes (16 cc/litro)	725,61
Chile picante (50 ppm)	870,98
Reina de la noche (100 ppm)	951,24
<i>Tricoderma</i> (5 x 10 ³)	1236,37
Testigo inoculado 10% (585 J2 Me.)	1384,47

Los tratamientos que presentaron las mayores producciones de frutos fueron reina de la noche (100 ppm), *Tricoderma* (5 x 10³) y el testigo inoculado 10% (585 J2 Me.), con 951,24; 1236,37; 1384,47 gramos, respectivamente.

4.2.1.6 Pesos frescos y secos de plantas de tomate (Primera siembra).

Durante cada uno de los muestreos poblacionales de nematodos, se procedió a pesar y secar el material vegetal (tallos, hojas y raíces), en las fechas 43, 65, 119 y 138 días después del trasplante.

En la evaluación de los 43 ddt, las muestras que se utilizaron fueron de plantas que aún no habían recibido ninguna inoculación de nematodos. Los pesos frescos de tallos, hojas y raíces fueron 56.4, 21.09 y 5,56 gramos, respectivamente (Cuadro 9).

A los 65 ddt (segundo muestreo, 10 días después de inocular nematodos), se recolectaron muestras de tejidos de plantas sin inocular e inoculadas con 10% y 20% de nematodos de una muestra cuantifica preliminarmente. Las plantas inoculadas presentan ligeramente mayores pesos frescos en tallos, hojas y raíces que las plantas testigos sin

inocular. Este efecto es factible que ocurra porque las plantas están en crecimiento vegetativo activo.

En el tercer muestreo (119 ddt), 64 días después de inoculados los nematodos y 42 días después de aplicados los tratamientos, se observa que los tratamientos de extracto de algas (5 cc/litro), testigo inoculado (10%), *Tricoderma* (1×10^4) y testigo inoculado (20%) son los tratamientos que presentan los valores de pesos frescos de tallos más altos en comparación con los demás tratamientos. Con respecto el peso fresco de hojas se muestra un comportamiento similar (Cuadro 9).

Referente a los pesos frescos de raíces, el chile picante (100ppm), testigo químico comercial (15 cc/litro), *Tricoderma* (1×10^4) y testigo químico comercial (25 cc/litro), presentaron los mayores valores respecto a los demás tratamientos. Este efecto de estas sustancias desarrollando mayores pesos radicales, que funcionan como enmienda mejoradora, lo han analizado algunos investigadores, debido a la presencia de algunos reguladores de crecimiento que provoquen el aumento de raíces funcionales. De la misma manera, algunos nematicidas tienen la facultad de actuar más como nematostático ya que facilita que las raíces presenten un mejor desarrollo, mejorando la superficie radical.

Cuadro 10. Pesos frescos y secos (tallos, hojas y raíces de tomate), en cuatro fechas de muestreo, bajo distintos tratamientos en condiciones de invernadero. Primera Siembra. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2014.

Edad de muestreo	Tratamiento	Peso de Tallos		Peso de Hojas		Peso de Raíces	
		Fresco	Seco	Fresco	Seco	Fresco	Seco
43 ddt	testigo sin inóculo	55,40	11,59	21,09	4,21	5,56	0,00
	testigo sin inóculo	96,40	24,68	109,40	22,37	53,07	10,60
65 ddt	testigo inoculado 10%	123,10	20,23	155,20	21,70	33,57	6,70
	testigo inoculado 20%	116,85	23,85	144,65	26,91	58,80	11,74
	Tricoderma (5 x 10 ³)	129,22	27,04	171,87	24,80	101,87	20,35
	Tricoderma (1 x 10 ⁴)	156,74	22,62	208,48	30,08	123,57	24,68
	testigo químico comercial (15 cc/litro)	128,64	18,56	171,10	24,69	175,85	35,12
	testigo químico comercial (25 cc/litro)	107,86	15,56	143,45	20,70	108,92	21,75
	reina de la noche (50 ppm)	118,86	17,15	158,09	22,81	37,26	7,44
	reina de la noche (100ppm)	138,09	19,93	183,66	26,50	108,86	21,74
	tagetes (8 cc/litro)	115,22	16,63	153,25	22,11	92,3	18,43
119 ddt	tagetes (16 cc/litro)	129,43	18,68	172,14	24,84	40,76	8,14
	chile picante (50 ppm)	142,04	20,50	188,91	27,26	123,8	24,72
	chile picante (100 ppm)	127,02	18,33	168,93	24,38	214,91	42,92
	extracto de algas (5 cc/litro)	143,44	20,70	190,77	27,53	72,57	14,49
	extracto de algas (10 cc/litro)	173,09	24,98	230,21	33,22	33,8	6,75
	testigo sin inóculo	127,99	18,47	170,23	24,56	74,69	14,92
	testigo inoculado 10%	164,67	23,76	219,01	31,60	63,87	12,75
	testigo inoculado 20%	156,24	22,55	207,80	29,99	52,98	10,58
	Tricoderma (5 x 10 ³)	140,42	29,39	186,76	35,51	104,05	20,78
	Tricoderma (1 x 10 ⁴)	170,33	35,65	226,54	43,08	125,82	25,13
	testigo químico comercial (15 cc/litro)	139,79	29,26	185,92	35,35	178,18	35,58
	testigo químico comercial (25 cc/litro)	117,20	24,53	155,88	29,64	111,17	22,20
	reina de la noche (50 ppm)	129,17	27,03	171,79	32,67	39,43	7,88
	reina de la noche (100ppm)	150,05	31,40	199,58	37,95	111,08	22,19
	tagetes (8 cc/litro)	125,21	26,20	166,53	31,66	94,49	18,87
138 ddt	tagetes (16 cc/litro)	140,64	29,43	187,06	35,57	42,96	8,58
	chile picante (50 ppm)	154,35	32,30	205,28	39,03	126,04	25,17
	chile picante (100 ppm)	138,02	28,89	183,58	34,91	217,13	43,37
	extracto de algas (5 cc/litro)	155,87	32,62	207,31	39,42	74,75	14,93
	extracto de algas (10 cc/litro)	188,09	39,36	250,16	47,57	36,04	7,20
	testigo sin inóculo	139,08	29,11	184,98	35,17	76,91	15,36
	testigo inoculado 10%	178,94	37,45	238,00	45,25	66,07	13,20
	testigo inoculado 20%	169,78	35,53	225,82	42,94	55,11	11,01

En el cuarto muestreo (138 ddt), 104 días después de inoculados los nematodos y 74 días después de aplicados los tratamientos, se observan que los tratamientos de extracto de algas (10 cc/litro), testigo inoculado (10%), testigo inoculado (20%) y reina de la noche (100 ppm) son los tratamientos que presentaron los valores más altos de pesos frescos de tallos en comparación con los demás tratamientos. Con respecto el peso fresco de hojas se muestra un comportamiento similar, sólo que el tratamiento de chile picante (50 ppm) está por encima de pesos de tallo que el tratamiento de reina de la noche (100 ppm) (Cuadro 9).

Con respecto a los pesos frescos radicales, el tratamiento chile picante (100ppm), testigo químico comercial (ambas dosis), presentaron los mayores valores respecto a los demás tratamientos. En este caso, es factible que el extracto vegetal al aportar “alcamidas” fomentan principalmente el desarrollo de raíces, creando un ambiente en el cual la planta obtenga una mejor superficie radical para su desarrollo y sostén en el suelo (Ortiz y López 2010).

4.2.2 Dinámicas poblacionales (Segunda siembra)

Esta segunda siembra, se efectuó desde el 12 de noviembre del 2014 con el trasplante del almácigo hasta el cuarto muestreo de nematodos y cosecha final realizada el 7 de marzo del 2015 (Cuadro 2).

En este muestreo inicial, se logró identificar los nematodos *Pratylenchus*, *Helicotylenchus* y *Meloidogyne*, tanto en muestras de suelo como en raíces del cultivo del tomate.

Para los propósitos de la investigación, se analizará únicamente el comportamiento de *Meloidogyne*.

4.2.2.1 Primer y segundo muestreo, 33 y 69 días después del trasplante (ddt)

En los muestreos de 33 días después del trasplante, las poblaciones de *Meloidogyne* fueron de 1867 y 4009 en suelo y raíces respectivamente. Estos valores aumentaron gradualmente a los 69 ddt en valores poblacionales de 1962 y 4477 individuos en suelo y raíces. Estos valores sobrepasan los umbrales determinados por Talavera (2003), en la cual cita el autor que el umbral económico para *Meloidogyne* en

100 gramos de suelo para el cultivo del tomate es de 20. En ambas evaluaciones, *Meloidogyne* sobrepasa el umbral económico establecido en la literatura (Figura 16).

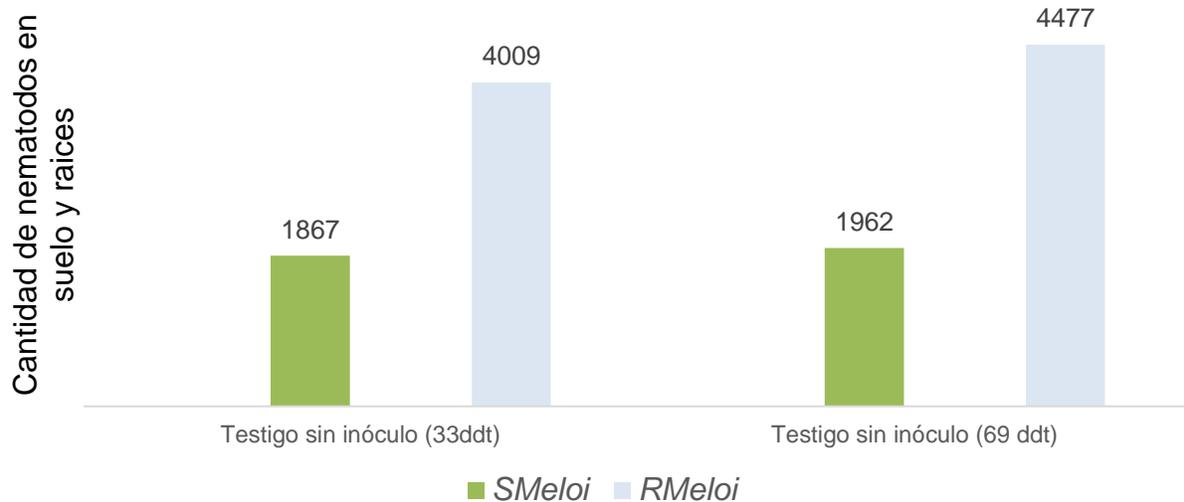


Figura 16. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo y raíces de tomate en condiciones de invernadero. 33 y 69 días después del trasplante (ddt). Diciembre 2014 y Enero 2015.

4.2.2.2 Tercer muestreo, 88 días después del trasplante (ddt)

En la evaluación de los 88 ddt (54 días después de la inoculación de nematodos y 24 días después de la aplicación de los tratamientos), las mayores poblaciones de *Meloidogyne* en suelo (100 gramos) se cuantificaron en 24443 individuos en el tratamiento tagetes en dosis baja (8 cc/litro) y 19817 en testigo químico comercial en dosis alta (25 cc/litro). Las poblaciones más bajas encontradas fueron en extracto de algas (10 cc/litro), chile (100 ppm) y testigo sin inóculo, con poblaciones de 850, 450 y 0 individuos, respectivamente (Figura 17). Los demás tratamientos presentaron valores intermedios (1150 a 4100 individuos).

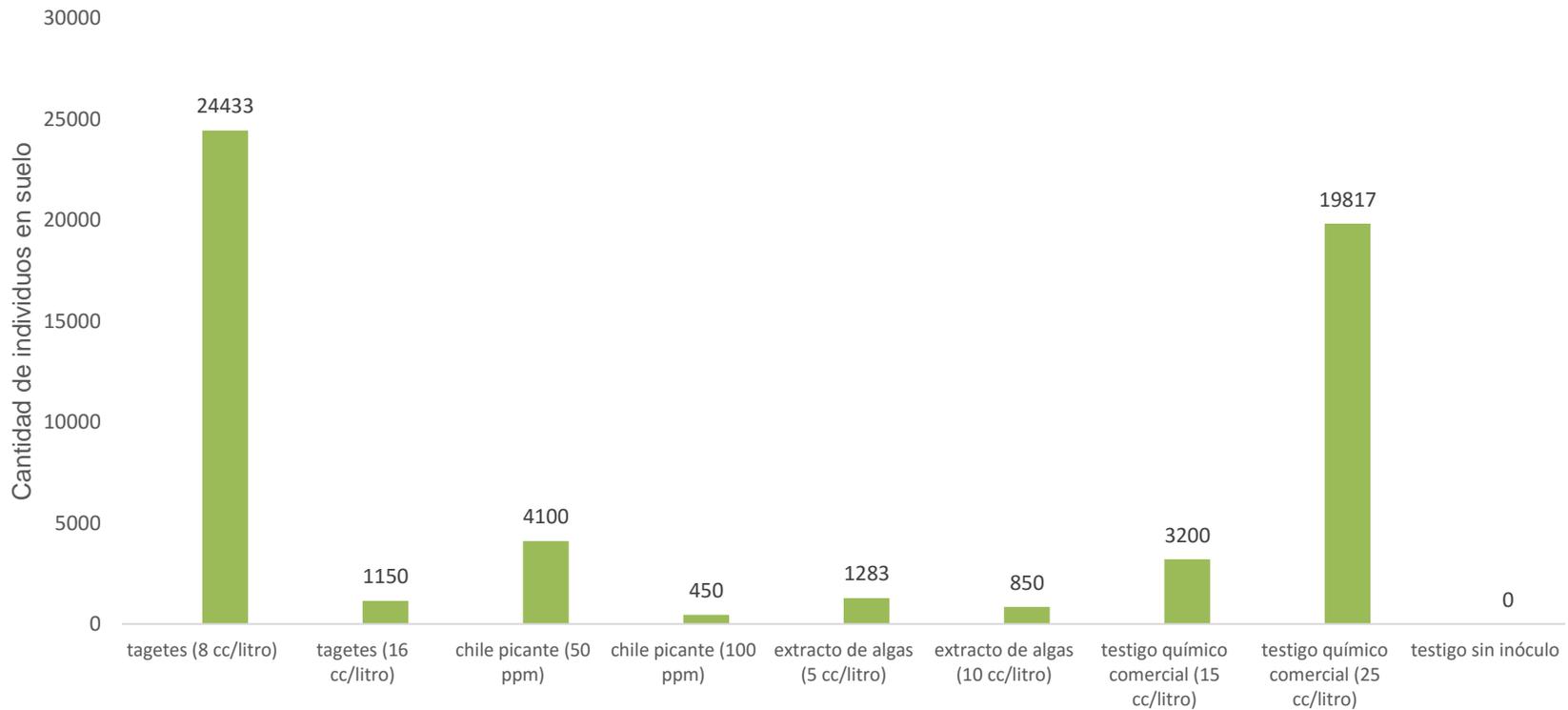


Figura 17. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 88 días después del trasplante (ddt). Febrero 2015.

En esta misma evaluación, en raíces (Figura 18), se presentó un comportamiento poblacional muy similar a los nematodos de suelo, en la cual las mayores poblaciones de *Meloidogyne* se cuantificaron en 42917 individuos en el tratamiento tagetes en dosis baja (8 cc/litro) y 24367 en testigo químico comercial en dosis alta (25 cc/litro).

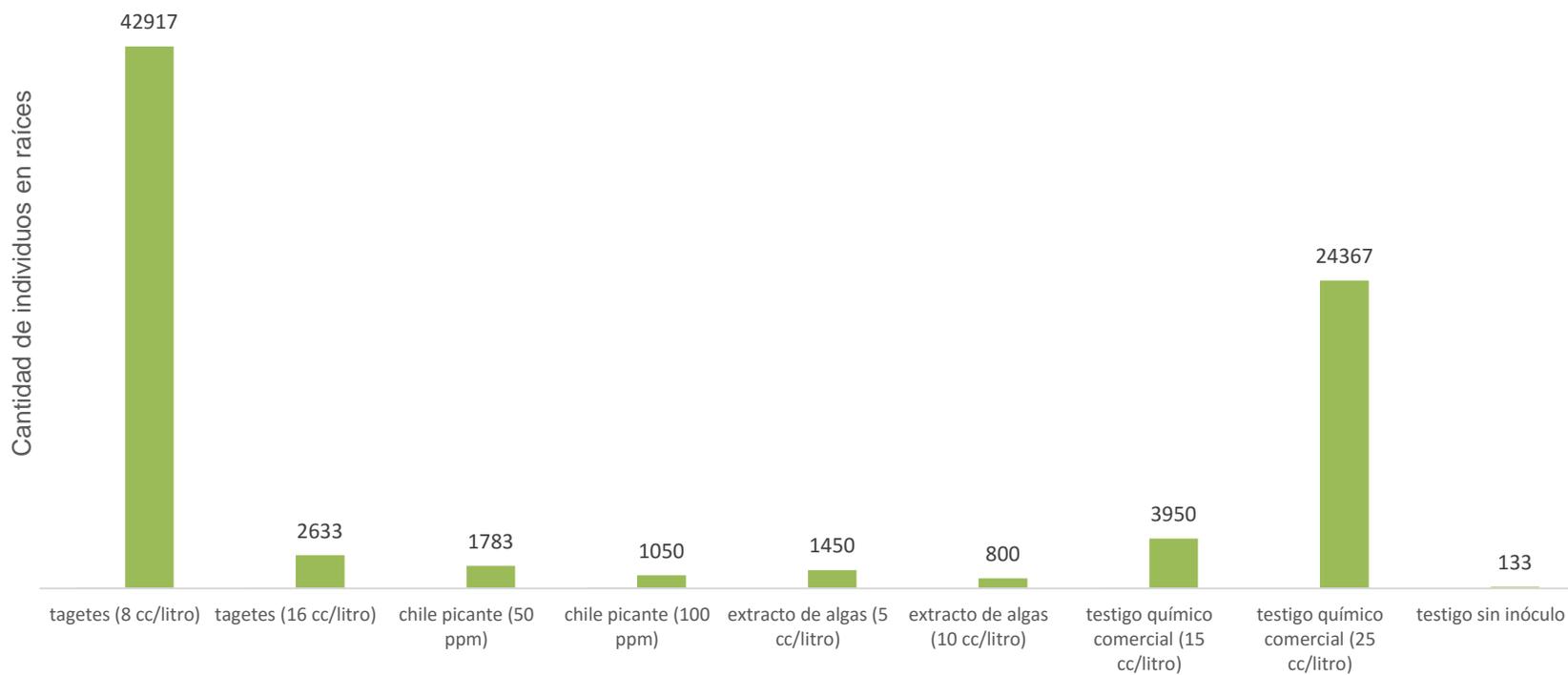


Figura 18. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíces de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 88 días después del trasplante (ddt). Febrero 2015.

Las poblaciones más bajas encontradas en raíces fueron en extracto de algas (10 cc/litro), chile (100 ppm) y testigo sin inóculo, con poblaciones de 800, 1050 y 133 individuos en 25 gramos de suelo, respectivamente. Los demás tratamientos presentaron valores intermedios (1783 a 3950 individuos).

4.2.2.3 Cuarto muestreo, 115 días después del trasplante (ddt)

En este muestreo (51 días después de la aplicación de los tratamientos), en todos los tratamientos las poblaciones de *Meloidogyne* en suelo (100 gramos) aumentaron gradualmente (Figura 19). Se cuantificaron en 10300 y 14150 individuos en el tratamiento tagetes en dosis baja (8 cc/litro) y dosis alta (16 cc/litro), y de 13517 en testigo químico comercial en dosis alta (25 cc/litro). Las poblaciones más bajas encontradas fueron en testigo químico comercial (15 cc/litro), y chile (100 ppm), con poblaciones de 133 y 1250, respectivamente (Figura 19). Los demás tratamientos presentaron valores intermedios (4433 y 7183 individuos).

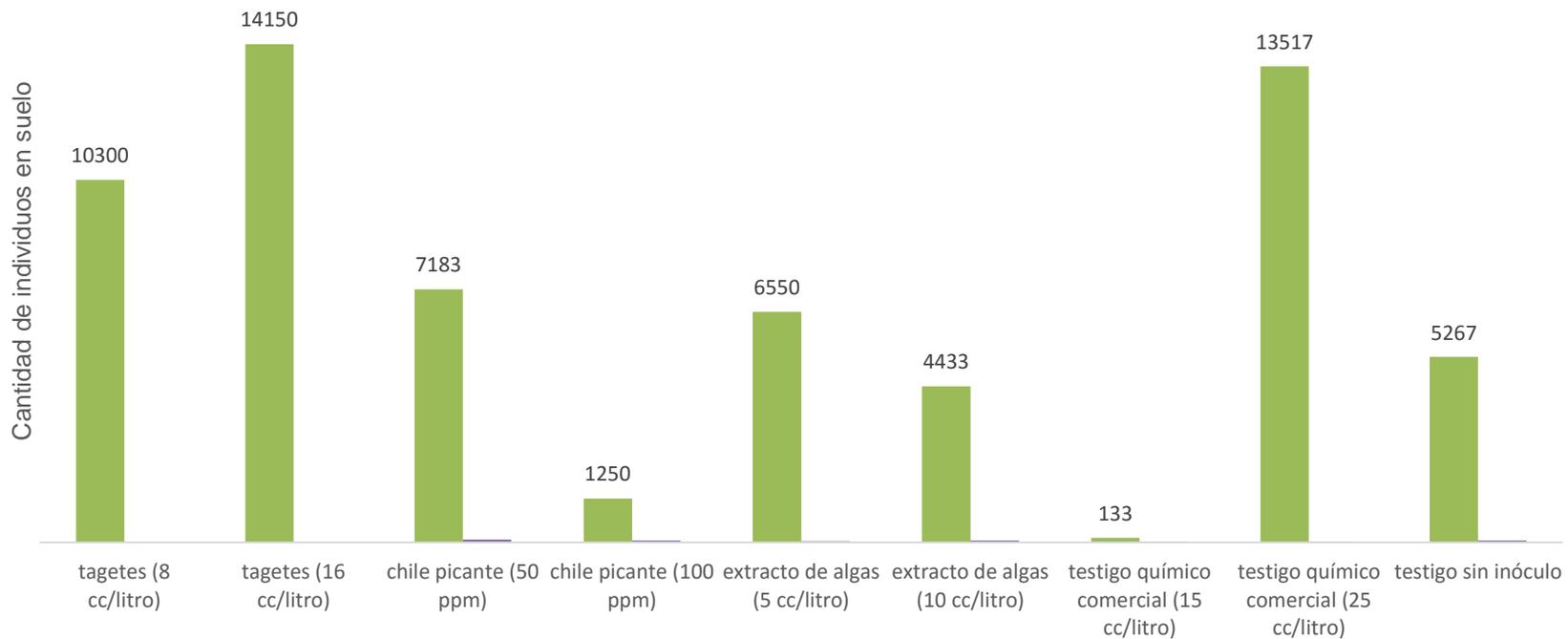


Figura 19. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en suelo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 115 días después del trasplante (ddt). Marzo 2015.

En esta misma evaluación, en raíces (Figura 20), en todos los tratamientos se incrementaron las poblaciones de *Meloidogyne*. Los tratamientos con las más elevadas poblaciones corresponden a extracto de algas (5 cc/litro) con 9233 individuos y el testigo sin inóculo con 9117 individuos. Las poblaciones más bajas encontradas fueron en testigo químico comercial (15 cc/litro) y extracto de algas (10 cc/litro), con poblaciones de 233 y 450, respectivamente. Los demás tratamientos presentaron valores intermedios (1517 a 6167 individuos).

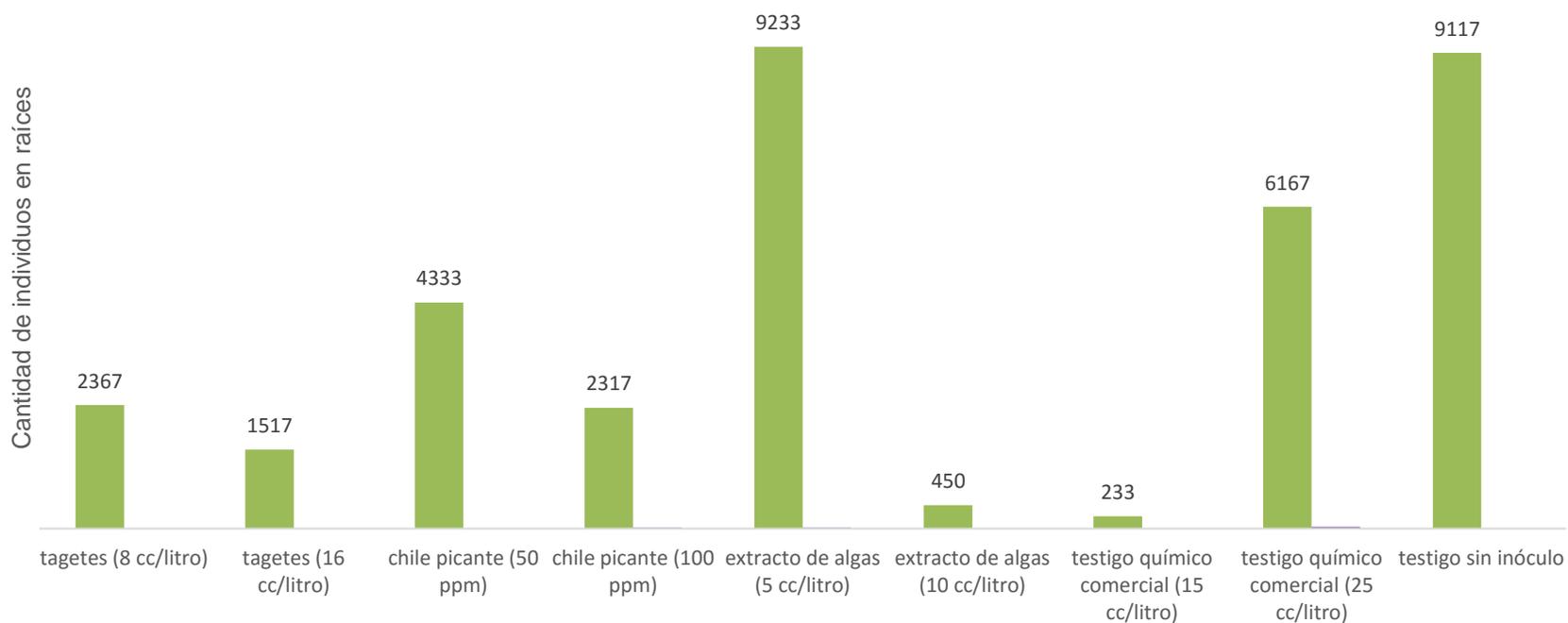
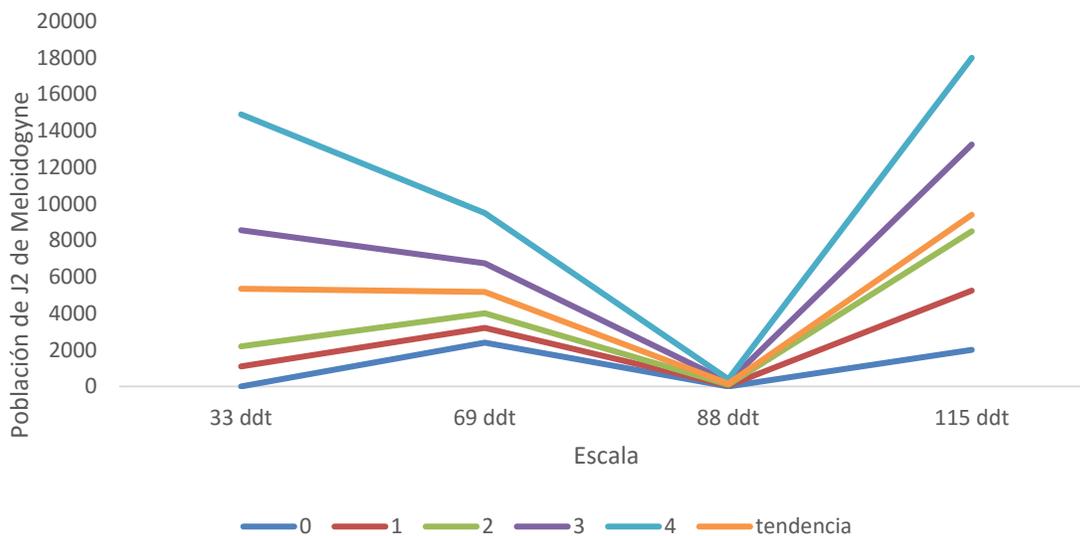


Figura 20. Cantidad de individuos de *Meloidogyne* (valores indicados sobre las columnas) presentes en raíces de plantas de tomate en condiciones de invernadero. 115 días después del trasplante (ddt). Marzo 2015.

4.2.2.4 Estimación de juveniles de *Meloidogyne* en raíces de tomate

Con los valores poblacionales de los juveniles de *Meloidogyne*, de la segunda siembra se generó la siguiente escala (Figura 21). En este caso, el valor no problemático de la escala “0” es de 3235 individuos, y el valor “4” nivel crítico es de 6091 individuos (25 gramos de raíces). En forma similar con los datos de la escala anterior (Figura 15) al comparar estos valores con los umbrales determinados por Talavera (2003), todos los niveles poblacionales superan el nivel de daño económico.

En la misma figura se expresa la ecuación general que explica el comportamiento de las poblaciones de *Meloidogyne*.



(Ecuación de mejor ajuste $Y = 98305,37 - 48013,60 \ln(\text{DDS}) + 12494,25\sqrt{\text{DDS}} + (\text{Escala})^2$, con un $R^2: 0,58$) (Anexo1, Anexo 2, Anexo3).

Figura 21. Escala de Juveniles de *Meloidogyne* en raíces de tomate. Segunda Siembra. Marzo 2015.

Cuadro 11. Escala de estimación de *Meloidogyne* en función de la fecha de siembra (individuos en 25 gramos de raíces) en tomate en condiciones de invernadero. Segunda Siembra. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2014.

Escala	Días después del trasplante (DDT)			
	0-33	34-69	70-88	89-115
0	0	≤2400	0	≤2000
1	1-1175	2401-3200	1-50	2001-5250
2	1176-2350	3201-4000	51-100	5251-8500
3	2351-8625	4001-6750	101-250	8501-13250
4	8626-14900	6751-9500	251-400	13251-18000
5	≥14901	≥9501	≥401	≥18001

4.2.2.5 Producción de frutos de tomate (Segunda siembra, en gramos)

En esta segunda siembra, la producción de frutos no presenta un comportamiento que se pueda asociar a las poblaciones de nematodos, ya que los tratamientos con aplicación de nematicidas presentan bajos pesos de cosecha comparados con el Testigo sin inóculo. Algunos tratamientos presentaron altas poblaciones de nematodos en las raíces durante el periodo de desarrollo del cultivo, que es probable que este efecto sea contraproducente en la cosecha de los frutos (Cuadro 10).

Solo el testigo que no recibió inoculación de nematodos presenta un comportamiento algo normal, ya que la planta se desarrolló en las mejores condiciones.

Cuadro 12. Pesos finales de frutos de tomate bajo distintos tratamientos en condiciones de invernadero. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2015.

Tratamientos	Peso frutos (gramos) Acumulado
Testigo químico comercial (25 cc/litro)	1629,02
Extracto de Algas (10 cc/litro)	1824,05
Chile picante (100ppm)	1953,85
Extracto de Algas (5 cc/litro)	2105,72
Tagetes (8 cc/litro)	2184,91
Testigo químico comercial (15 cc/litro)	2416,38
Chile picante (50 ppm)	2478,32
Tagetes (16 cc/litro)	2598,51
Testigo sin inóculo	5126,34

4.2.2.6 Pesos frescos y secos de plantas de tomate (Segunda siembra)

En esta segunda siembra, los muestreos de los 33 y 69 ddt muestran un aumento de los pesos frescos y secos de los tallos, hojas y raíces.

A los 88 ddt (54 días después de la inoculación de nematodos, 24 días después de aplicados los tratamientos), se observa que los tratamientos extractos de algas (100/litro), testigo sin inóculo, y chile picante (50 ppm) presentaron los mayores pesos frescos de tallos con 173.09, 146.53 y 142,04 gramos, respectivamente (Cuadro 11).

En el caso de las raíces, los tratamientos testigo químico comercial (15 cc/litro, 61.99), chile picante (50 ppm, 57.82), y extracto de algas (5 cc/litro, 54.08) exhibieron los pesos frescos más elevados comparados con los tratamientos opuestos de menor peso radical, testigo químico comercial (25 cc/litro, 6.76 gramos), tagetes (16 cc/litro, 31.70 gramos) y chile picante (100 ppm, 34.89 gramos) (Cuadro 11).

Cuadro 13. Pesos frescos y secos (tallos, hojas y raíces de tomate), en cuatro fechas de muestreo, bajo distintos tratamientos en condiciones de invernadero. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2015.

Edad de muestreo	Tratamiento	Peso de Tallos		Peso de Hojas		Peso de Raíces	
		Fresco	Seco	Fresco	Seco	Fresco	Seco
33 ddt	Testigo sin inóculo	40,80	5,14	32,84	4,56	8,65	0,00
69 ddt	Testigo sin inóculo	88,03	14,74	74,17	13,08	40,22	3,01
88 ddt	Tagetes (8 cc/litro)	115,22	17,77	57,11	8,25	36,44	5,74
	Tagetes (16 cc/litro)	129,43	17,81	78,27	13,00	31,70	6,44
	Chile picante (50 ppm)	142,04	19,90	135,75	21,41	57,81	12,00
	Chile picante (100ppm)	127,02	17,60	79,00	12,03	34,89	7,36
	Extracto de Algas (5 cc/litro)	143,44	23,64	118,67	18,32	54,08	13,94
	Extracto de Algas (10 cc/litro)	173,09	22,90	137,53	20,55	41,17	11,60
	Testigo químico comercial (15 cc/litro)	128,64	18,55	145,16	25,79	61,99	11,84
	Testigo químico comercial (25 cc/litro)	107,86	16,56	37,78	6,47	6,76	1,16
	Testigo sin inóculo	146,53	20,36	147,33	22,06	33,56	7,82
115 ddt	Tagetes (8 cc/litro)	113,78	22,46	55,37	10,99	104,35	33,39
	Tagetes (16 cc/litro)	172,76	32,78	96,13	19,59	88,40	18,01
	Chile picante (50 ppm)	135,23	27,50	68,40	14,96	97,88	19,43
	Chile picante (100ppm)	147,35	27,45	46,94	12,31	72,80	13,47
	Extracto de Algas (5 cc/litro)	139,30	27,25	49,72	11,10	93,86	19,17
	Extracto de Algas (10 cc/litro)	136,45	27,03	50,69	11,66	110,27	25,95
	Testigo químico comercial (15 cc/litro)	163,98	28,18	120,19	22,95	85,45	19,61
	Testigo químico comercial (25 cc/litro)	140,74	26,82	69,56	17,49	175,62	35,54
	Testigo sin inóculo	133,83	28,99	57,61	14,87	66,75	9,66

A los 115 ddt (81 días después de la inoculación de nematodos, 51 días después de aplicados los tratamientos), tagetes (16 cc/litro, 172,76 gramos), testigo químico comercial (15cc/litro, 163,98 gramos) y chile picante (100 ppm, 147,35 gramos), son los tratamientos que mostraron los pesos frescos de hojas más altos, comparados los tratamientos que presentaron menores pesos tales como tagetes (8 cc/litro, 113,78 gramos), testigo sin inóculo (133.83 gramos) y chile picante (50 ppm, 135.23 gramos) (Cuadro 11).

Respecto a los pesos frescos radicales, testigo químico comercial (25cc/litro, 175,62 gramos), extracto de algas (10 cc/litro, 110,27 gramos), y tagetes (100 ppm, 104,35 gramos), son los tratamientos que mostraron los mayores pesos frescos de raíces, comparados con tagetes (16 cc/litro, 88,40 gramos), chile picante (100 ppm, 72,80 gramos) y el testigo sin inóculo (66.75 gramos) (Cuadro 11).

4.3 Mortalidad de *Meloidogyne* mediante extractos naturales en condiciones de laboratorio

En condiciones controladas de laboratorio se evaluaron productos alternativos en la mortalidad de Juveniles de *Meloidogyne*. Las evaluaciones se realizaron a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación de los tratamientos (hddi).

La evaluación de las 24 hddi (50 ppm) mostró que los tratamientos extracto de tagetes, testigo absoluto (solo agua) y testigo químico comercial presentaron la más alta mortalidad con 63,3%, 45,0% y 40,0% y respectivamente. Estos tratamientos de extracto de tagetes y testigo químico comercial en las evaluaciones de 48 y 72 hddi, presentaron un aumento gradual respecto a la mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* (Cuadro 14).

Cuadro 14. Porcentajes de mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* bajo distintos tratamientos (50 ppm) en condiciones de laboratorio. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2015 (Anexos 5, 6, 7 y 8).

Tratamientos	Horas después de inoculados los tratamientos (hddi)		
	24	48	72
Chile picante	14,1 b	30,0 b	30,0 b
Algas Marinas	15,0 b	10,6 b	10,6 b
Reina de la Noche	24,1 b	27,5 b	27,5 b
Testigo comercial químico	40,0 a	47,5 a	47,5 a
Testigo absoluto	45,0 a	32,5 b	32,5 b
Tagetes	63,3 a	50,0 a	50,0 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) según Prueba de Tukey.

Como lo citan Stoll (2000), el efecto de los terpenos propios del tagetes que provocan una falta de oxígeno y por ende el bloqueo del metabolismo de los nematodos,

y Hernandez *et al.* (2016), que los tiofenos (α -tertienilo) y del aceite esencial (dihidrotagetona y e-tagetona) de olor desagradable pueden presentar diferentes grados de control sobre los J₂ de *Meloidogyne* e incluso la misma acción con el carbofuran (nematicida químico).

De los extractos florales de reina de la noche (*Brugmansia* spp.), algunos autores han encontrado la escopolamina, alcaloide que pueden causar la disuasión en algunos organismos como abejas (Kerchner *et al.* 2015). De igual manera, Kvist y Moraes (2006), suponen que los alcaloides escopolamina, hiosciamina y atropina (grupo tropano), presentes en *B. suaveolens* producen la mortalidad en individuos de *Meloidogyne* sp. Otros autores (Shahwar *et al.*, 1995; Insunza *et al.* 2001), también coinciden que la escopolamina provoca la mortalidad de nematodos.

Los tratamientos extracto de chile picante, reina de la noche y algas marinas, aún después de 72 horas de exposición de los tratamientos, presentaron los porcentajes más bajos de mortalidad de juveniles de *Meloidogyne*, con valores de 30,0%, 27,5% y 10,6%, incluso menores que el tratamiento testigo (Cuadro 14).

Posiblemente el efecto inmediato de la capsaicina (Molina *et al.* 2001), desarrolle inicialmente una irritación en el nematodo, con la consecuente disminución del metabolismo.

En la primera evaluación de las 24 hhd (100 ppm), se observa que en el testigo químico comercial, los individuos J₂ de *Meloidogyne* presentaron mortalidad del 100%, mientras que los tratamientos de reina de la noche y algas marinas, presentaron mortalidades bajas (35,8% y 30,0%, respectivamente) (Cuadro 15).

En esta concentración de 100 ppm, el tratamiento de testigo químico comercial difiere estadísticamente de los demás productos ($p > 0,05$), a todos los tiempos de evaluación.

Cuadro 15. Porcentajes de mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* bajo distintos tratamientos (100 ppm) en condiciones de laboratorio. Santa Clara, San Carlos, Costa Rica. 2015 (Anexos 5, 6, 7 y 8).

Tratamientos	Horas después de inoculados los tratamientos (hddi)		
	24	48	72
Chile picante	12,3 b	23,3 b	36,7 b
Tagetes	22,2 b	19,9 b	60,3 b
Testigo absoluto	28,8 b	27,5 b	31,3 b
Algas Marinas	30,0 b	29,7 b	29,2 b
Reina de la Noche	35,8 b	52,5 b	44,2 b
Testigo comercial químico	100,0 a	100,0 a	100,0 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) según Prueba de Tukey.

5. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación se puede concluir que:

1. Los fitonematodos identificados tanto en suelo como en raíces de tomate fueron, *Helicotylenchus*, *Criconemoides*, *Pratylenchus* y *Meloidogyne*, siendo este último el género que mostró los niveles poblacionales más altos durante la investigación.
2. El tratamiento con *Tricoderma* (1×10^4), presentó en suelo, las poblaciones más bajas de *Meloidogyne* (primera siembra en invernadero, 119 días después del trasplante, ddt); mientras que en raíces este efecto lo presentaron los extractos de tagetes (ambas dosis), y reina de la noche (100 ppm).
3. Las menores poblaciones de *Meloidogyne* en suelo durante el cuarto muestreo (138 ddt), se presentaron con reina de la noche (50 ppm), y chile picante (ambas dosis); mientras que en raíces fueron obtenidas con tagetes (ambas dosis) y reina de la noche (50 ppm).
4. En condiciones de invernadero, no se logró determinar el nivel de daño de *Meloidogyne*, debido que en todos los muestreos las poblaciones superaban los niveles estimados en la literatura (según Talavera 2003).
5. En el muestreo de la segunda siembra de los 88 ddt (24 días después de aplicar tratamientos y 54 días después de inocular nematodos) el tratamiento con el extracto de chile picante (100 ppm) presentó las menores poblaciones de *Meloidogyne*.
6. En laboratorio, el testigo químico comercial presentó la más alta mortalidad de *Meloidogyne* (100%), seguido por tagetes y reina de la noche con valores de 60,3% y 44,2%, respectivamente.
7. Los mejores tratamientos naturales para mortalidad de *Meloidogyne* fueron el extracto de tagetes, reina de la noche y chile picante, los cuales podrían ser una opción para el manejo alternativo de este nematodo.

6. RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda:

- a) Destinar pequeñas áreas dentro de las plantaciones de tomate comercial con el fin de complementar la investigación en condiciones de producción y sugerir las opciones de control con productos menos tóxicos.
- b) En condiciones de campo, los agricultores deben realizar un manejo integrado implementando el uso de los extractos naturales, con el empleo de medidas culturales, y si se justifica alternando con el químico comercial.
- c) Dentro de condiciones controladas de invernadero, realizar más ciclos de desarrollo del cultivo para tener más observaciones del comportamiento de los nematodos en el tiempo.
- d) En la experimentación “in vitro”, utilizar dosis crecientes de productos naturales y biológicos para el documentar el efecto en la mortalidad de juveniles de *Meloidogyne*.

7. LITERATURA CONSULTADA

- Agrios, G. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. USA. 948p.
- Ahmad, SF; Khan, TA. 2004. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, by integration of *Paecilomyces lilacinus* with organic materials in Chilli. Archives of Phytopathology and Plant Protection 37(1): 35-40.
- Alvarez, D.; Botina, J.; Ortiz, A.; Botina, L. 2016. Evaluación nematocida del aceite esencial de *Tagetes zypaquirensis* en el manejo del nematodo *Meloidogyne* spp. Revista Ciencias Agrícolas. 33(1): 22 – 33. *Print version* ISSN 0120-0135. <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.163301.3>
- Arboleda, J.; Guzman O.; Mejía, L. 2012. Efecto de extractos cetónicos de higuerilla (*Ricinus communis* Linneo.) sobre el nematodo barrenador [*Radopholus similis* (Cobb.) Thorne] en condiciones *in vitro*. Luna Azul (Universidad de Caldas, Venezuela). 35: 28-47.
- Barker, KR. 1985. Nematode extraction and bioassays. In: Barker, KR; Carter, CC; Sasser JN (eds.). An Advanced Treatise on *Meloidogyne* Vol. II: Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh. 19-23pp.
- Bravo Durán, V.; Canto-Mai, N.; Berrocal-Montero, SE.; Tatis-Ramírez, A.; Ramírez Muñoz, F.; Mejía-Merino, W.; de-la-Cruz-Malavassi, E. 2015. Importación de plaguicidas y peligros en salud en América Central durante el periodo 2005 – 2009. Uniciencia. 29(2): 84-106. Consultado el 12 de junio de 2017. Disponible en <http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/uniciencia/article/view/6760/6903>. DOI: <http://dx.doi.org/10.15359/ru.29-2.6>
- Canto, M. 2001. Nematodos parásitos de plantas - Género *Meloidogyne*. Separata del curso de Nematología Agrícola. UNALM, Facultad de Agronomía. Lima. Perú. 48p.
- Castro, L. Flores, L. Uribe, L. 2011. Efecto del vermicompost y quitina sobre el control de *Meloidogyne incognita* en tomate a nivel de invernadero. Agronomía Costarricense. Consultado el 29 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43622356002>

- Curimilma, S. 2015. Control del nematodo agallador de las raíces del tomate *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919) con extractos estandarizados de tres plantas nativas con propiedades nematocidas. Universidad Nacional de Loja. Consultado el 20 abril de 2016. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10064/1/Tesis%20Sandra%20Soledad%20Curimilma%20Campos.pdf>
- De Luca, V.; St. Pierre, B. 2000. Trends Plant. Ed. Sci. 5. EEUU. pp. 168-173.
- Di Rienzo J., Casanoves F., Balzarini M., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Consultado el 21 de abril de 2015. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
- Durán, J. 2011. Uso de productos biológicos y extractos vegetales como alternativas de control para el nematodo nodulador *Meloidogyne* en tomate (*Lycopersicon esculentum*) en la Zona Occidental de Costa Rica. Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR). Universidad de Costa Rica (UCR). Universidad Estatal a distancia (UNED). Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo. Consultado el 29 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.docinade.ac.cr/pmwiki/uploads/XSeminar/jdm.doc>
- Esquivel, A. 2005. Manual de identificación de géneros de nematodos importantes en Costa Rica. Universidad Nacional, Heredia Costa Rica. 50p.
- Esquivel, A.; Peraza, W. 2010. Nematodos fitoparásitos asociados a cultivos agrícolas de Costa Rica. Universidad Nacional de Costa Rica (UNA).
- Evans, K.; Trudgill, D.; Webster, J. 1993. Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Oxon. U.K. CAB International. 648 p.
- Fallas, A. 2011. Elaboración y evaluación de extractos de origen vegetal a partir de jengibre (*Zingiber officinale*), orégano (*Origanum vulgare*), ajo (*Allium sativum*) y reina de la noche (*Datura x candida*) sobre la mortalidad de *Radopholus similis* en condiciones in vitro. Tesis de Licenciatura en Agronomía, Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos, Costa Rica. 72p.

- Farfán, M. 2011. Comportamiento del nematodo del nódulo *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 con 12 productos químicos. Consultado el 20 noviembre de 2017. Disponible en: <http://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/CONCYTEC/78/1/farfan.pdf>
- Fraga, C. 1984. Introducción a la nematología agrícola. Argentina. Editorial Hemisferio Sur. 119 p.
- Guzmán Piedrahita, OA. 2011. Importancia de los nematodos espiral, *Helicotylenchus multincinctus* (Cobb) Golden y *H. dihystra* (Cobb) Sher, en banano y plátano. Agron. 19(2):19–32. ISSN 0568-3076. Disponible en: [http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia%2019\(2\)Completa.pdf#page=19](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia%2019(2)Completa.pdf#page=19)
- Guzmán Hernández, T.; Hernández Villalobos, S.; Varela Benavides, I.; Durán Mora, J. 2011. Nematodos fitoparásitos asociados al arroz en las regiones Huetar Norte y Huetar Atlántica de Costa Rica. Agronomía Mesoamericana. 22(1):21-28.
- Guzmán Hernández, T.; López González, AP.; Fallas Barrantes, A. 2013. Evaluación de extractos de plantas sobre la mortalidad de *Radopholus similis* en pruebas in vitro de laboratorio. *In*. Memorias: VII CONGRESO DE LA RED LATINOAMERICANA DE CIENCIAS AMBIENTALES”. Consultado el 16 de Junio de 2017. Disponible en <http://revistas.tec.ac.cr/index.php/memorias/article/view/2402Noviembre>.
- Hernández, D., Arias, Y., Gómez, L., Peteira, B., Miranda, L., Rodríguez M. G. 2012. Elementos del ciclo de vida de población cubana de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en *Solanum lycopersicum*. Consultado el 20 febrero de 2016. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522012000300008&script=sci_arttext
- Hernández, M.; Fuentes, V.; Alfonso, M.; Avilés, R.; Perera, W. 1999. Plaguicidas naturales de origen botánico. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical. 106p.
- Hruska, AJ; Rosset, PM. 1987. Estimación de los niveles de daño económico para plagas insectiles. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 5:30-40.

- Hunt, D; Luc, M; Manzanilla-López, RH. 2005. Identification, Morphology and Biology of Plant Parasitic Nematodes. *In*. Luc, M; Sikora, RA; Bridge, J. eds. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2da Edición. CAB International. pp. 11-52.
- Instituto Regional de Estudios de Sustancias Tóxicas (IRET). 2017. Manual de Plaguicidas de Centroamérica. Universidad Nacional (Costa Rica). Disponible: <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu/421-testigo-químico-comercial>
- 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.
- Jimenez-Díaz, RM; Nava-Cortes, JA; Hervas-Vargas, A; Lanoad-El Castillo, BB; Jiménez-Asco, MM; Bejarano-Alcazar, J; Rodríguez-Jurado, D; Pérez-Artes, E. 2000. Implicaciones del control de enfermedades en la agricultura sostenible. *Phytoma España* 116:26-38.
- Karssen, G; and Moens, M. 2006. Root-knot nematodes. *In*. Perry, RN; Moens, M (eds). *Plant Nematology*. CABI, Cambridge. sp.
- Kerchner, A.; Darók, J.; Bacskay, I.; Felinger, A.; Jakab, G.; Farkas, A. 2015. Protein and alkaloid patterns of the floral nectar in some solanaceous species. *Acta Biologica Hungarica*. 66(3). DOI: 10.1556/018.66.2015.3.6
- Kiewnick, S; Sikora, RA. 2006. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for the biological control of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood. *Nematology* 8(1): 69-78.
- Khan TA. 2002. Studies on the life cycle of *Meloidogyne incognita* on papaya in presence of *Fusarium solani*. *Indian J Nematol*. 32(1):30-32.
- Khan T.; Mohd A.; Ashraf S.; Hasan S. 2006. Pathogenicity and life cycle of *Meloidogyne javanica* on balsam (*Impatiens balsamina*). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 39(1):45-48.

- Kvist, L.P., Moraes, R.M. 2006. Plantas sicoactivas. *Botánica Económica de los Andes Centrales*. 12:294-312.
- Li, G; Zhang, K; Xu, J; Dong, J; Liu, Y. 2007. Nematicidal substances from fungi. *Recent Patents on Biotechnology* 1(3): 212-233.
- Llive, F.M. 2009. Uso de extractos acuosos de raquis de banano y *Tagetes* spp. enriquecidos con bacterias y hongos endofíticos para el control biológico de *Radopholus similis* (Cobb) Thorne. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Consultado el 20 de Febrero de 2016. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/REPDOC/A3768E/A3768E.PDF>
- López, P. 2010. Elaboración de extractos de cuatro especies de plantas y sus componentes orgánicos sobre la mortalidad de *Radopholus similis* en condiciones in vitro. Trabajo Final presentado a la Escuela de Agronomía como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía. ITCR-SSC. 117p.
- López, L. 2012. Actualidad de la agro cadena del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*). Segundo Congreso Nacional del Cultivo de Tomate. Consultado el 29 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00310.pdf>
- López, R. Quesada, M. 1997. Reproducción de *Meloidogyne incognita* en varias malezas presentes en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*. Nota Técnica. *Agronomía Mesoamericana* 8(2):112-115.
- Maggi, M. E. 2004. Insecticidas naturales. [En línea]. Consultado el 18 febrero 2017. Disponible en <http://www.monografias.com/trabajos18/insecticidas-naturales/insecticidas-naturales.shtml>
- Mai, WF; Lyon, HH. 1975. Pictorial key to genera of plant-parasitic nematodes. Edit: Comstock publishing associates.
- Marban, M. 1987. Fitonematología: Manual de Laboratorio. Turrialba, CR, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

- Marbán, N.; Jeyaprakash, A.; Jansson, H. B.; Damon J. R.; Zuckerman, B. M. 1987. Control of root-knot nematodes on tomato by lectins. *Journal of Nematology* 19:331-335.
- Moens, M; Perry, RN; Starr, JL. 2009. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. *In*. Perry, RN; Moens, M; Starr, JL. eds. Root knot nematodes. Wallingford, UK, CAB International. p. 1-17.
- Mokbel, AA; Alharbi, AA. 2014. Suppressive effect of some microbial agents on root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* infected eggplant. *Australian Journal of Crop Science* 8(10): 1428-1434.
- Molina Torres, J.; García Chávez A. 2001. Alcamidas en plantas: distribución e importancia. Alcance y Perspectiva. Volumen 21: 377-387. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Jorge_Molina-Torres/publication/242260227_Alcamidas_en_plantas_Distribucion_e_importancia/links/54a19be60cf256bf8baf7612.pdf
- Murga-Gutiérrez, S.; Alvarado-Ibáñez, J.; Vera-Obando N. 2012. Efecto del follaje de *Tagetes minuta* sobre la nodulación radicular de *Meloidogyne incognita* en *Capsicum annuum*, en invernadero. *Revista Peruana de Biología*. 19(3): 257-260. *versión On-line* ISSN 1727-9933
- 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.
- Nuñez, C. E. 2008. Extracciones con Equipo Soxhlet. Disponible en: <http://cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>
- Ortiz Castro, R.; Lopez Bucio, J. 2010. Las alcamidas: Un grupo nuevo de reguladores del crecimiento y sus aplicaciones en la Biotecnología Agrícola. *Claridades Agropecuarias*. 205: 36-42).
- 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.

- Parada, R.Y.; Flor, R. 1997. Evaluación de extractos botánicos contra el nematodo *Meloidogyne incognita* en frijol (*Phaseolus vulgaris*). Agronomía Mesoamericana. Consultado el 20 Febrero de 2016. Disponible en: http://www.mag.go.cr/rev_meso/v08n01_108.pdf
- 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. 24:143-145.
- Peraza-Padilla, W; Orozco-Aceves, M; Esquivel-Hernández, A. 2014. Evaluación *in vitro* de hongos nematófagos en zonas arroceras de Costa Rica contra el nematodo agallador *Meloidogyne javanica*. Agronomía Costarricense 38(2):19-32.
- Pino, O.; Sánchez, Y.; Rojas M. 2013. Plant secondary metabolites as alternatives in pest management. II: An overview of their potential in Cuba. Rev. Protección Veg. vol.28 no.2. 95-108. *versión impresa* ISSN 1010-2752
- Ramírez-Chávez E., López-Bucio J., Herrera-Estrella L. y Molina-Torres J. (2004). Alkamides isolated from plants promote growth and alter root development in Arabidopsis. Plant Physiol. 134:1058-1068.
- Ramírez, F. 2010. Área de Diagnóstico de Uso de Plaguicidas Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) Universidad Nacional de Costa Rica (UNA). Consultado el 29 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00237.pdf>
- Ramírez, F., Chaverri, F., de la Cruz, E., Wesseling, C., Castillo, L. y V. Bravo. 2009. Importación de plaguicidas en Costa Rica - periodo 1977-2006 (Informes técnicos IRET, No. 6). Universidad Nacional de Costa Rica (UNA) Consultado el 29 de marzo de 2015. Disponible en: <http://cep.unep.org/repcar/informacion-de-paises/costa-rica/importacion-de-plaguicidas-en-costa-rica-%281977-2006%29>
- Ramírez-Muñoz, F. 2011. Importación de plaguicidas en Costa Rica. Periodo 2007-2009. Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas. Universidad Nacional. Heredia. 27p. Disponible en: http://cep.unep.org/repcar/informacion-de-paises/costa-rica/Impoortaciones_07-09_REPCar.pdf

- Ramírez, L.; García, L.; Rodríguez, C.; Morales, H.; Castro, A. 2001. Evaluación del efecto de insecticidas de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa* Elodia. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 60:50-56. Consultado el 29 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.sidalc.net/repdoc/a1761e/a1761e.pdf>
- Rich, J. R.; Rahi, G. S.; Opperman, C. H.; Davis, E. L. 1989. Influence of the castor bean (*Ricinus communis*) lectin (ricin) on motility of *Meloidogyne incognita*. Nematropica 19:99-103.
- Roberts, M.; Wink, M. 1998. En: Alkaloids. Biochemistry, ecology, and medicinal applications. Ed. Plenum Press. EEUU. pp.1-7.
- Salazar-Antón, W.; Guzmán-Hernández, T. 2013. Efecto de poblaciones de *Meloidogyne* sp. en el desarrollo y rendimiento del tomate. Agronomía Mesoamericana 24(2): 419-426.
- Salazar-Antón, W.; Guzmán-Hernández, T. 2014. Efecto nematicida de extractos de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. asociado al tomate en Nicaragua. Agronomía Mesoamericana. 25(1):111-119.
- Sasser, J. Taylor, A. 1985. Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (*Especies de Meloidogyne*). Proyecto Internacional *Meloidogyne*. Consultado el 20 febrero de 2016. Disponible en: http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNAAQ245.pdf
- Sayed, K.; Dunbar, D; Perry, T.; Wilkins, S.; Hamann, M.; Greenplate, J and Wideman M. 1997. Marine Natural Products as Prototype Insecticidal Agents. J. Agric. Food Chem. 45: 2735-2739.
- Shahwar, D., M.; Abid, A.U.; Rehman, M.A.; Maqbool, y M.I. Choudhary. 1995. Nematicidal compounds from *Datura fastuosa*. **In**. M.A. Atta-ur-Rehman, M.S. Choudhary, y H.E.J. Sheikhani, editores, Proc. 19th IUPAC Symposium on the chemistry of Natural Products. Res. Inst. of Chemistry, University of Karachi, Karachi 75270- Pakistan. p. 171-179.

- Siddiqi, M.R. 1964. Studies on nematode root-rot of citrus in Uttar Pradesh, India. Proc. Zool. Soc. Calcutta 17:67–75.
- Siddiqi, M.R. 1972. *Helicotylenchus dihystra*. CIH Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 1, No. 9. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK.
- Siddiqi, M.R. 1973. *Helicotylenchus multicinctus*. CIH Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 2, No. 23. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK.
- Siddiqi, MR. 2000. Tylenchida: Parasites of Plants and Insects, CABI Publishing. Chapter VI: Suborder Hoplolaimina. 2nd Edition. pp. 270-428.
- Sikora, R. A.; Fernández, E. 2005. Nematode Parasites of Vegetables. *In*. Luc, M.; Sikora, R. A.; Bridge, J. (eds.). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. Second Edition, CAB International. pp. 319-392.
- 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.
- Stern, VM; Smith, RF; Van der Bosch, R; Hagen, KS. 1959. The integrated control concept. Hilgardia. 29:81-101.
- Stoll, G. 2000. Natural Crop Protection in the tropics. Margraf Verlag. USA
- Talavera, M. 2003. Manual de Entomologia Agrícola. Institut de Recerca i Formació agrària i pesquera. Conselleria d'Agri Conselleria d'Agricultura i Pesca de les illes Balears. 23p. Disponible en www.caib.es/sites/M65/publicacions-722/archivopub.do%3Fctrl%3DCNTSP722ZI4569%26id%3D4569+&cd=2&hl=es&ct=clnk
- Varela-Benavides, I.; Durán-Mora, J.; Guzmán-Hernández, T. 2017. Evaluación in vitro de diez cepas de hongos nematófagos para el control de *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis*. Tecnología en Marcha. 30(1):27-37. DOI: 10.18845/tm.v30i1.3062

Vinueza, S.; Crozzoli R.; Perichi, G. 2006. Evaluación in vitro de extractos acuosos de plantas para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. Fitopatología Venezolana. 19(2): 26-31.

Zuckerman, BM; Mai, WF; Krusberg, LR. 1990. Plant Nematology Laboratory Manual. Traducido y editado al español por Nahum Marban Mendoza. México, Universidad Autónoma de Chapingo.

8. ANEXOS

Anexo 1. Mejor modelo de regression para "POT"

C:\Users\Public\MCamacho\Joaquin\Base datos 1.IDB2 : 16/06/2017 - 02:54:54 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Análisis de regresión lineal

Siembra	Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
1	POT_Var	20	0,74	0,69	45063313309510200,00	816,74	821,72

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	Cp	Mallows	VIF
const	918037888,16	320396927,57	238826917,42	1597248858,89	2,87	0,0112			
POT_DDS	143409,03	45438,54	47083,65	239734,41	3,16	0,0061	12,43	85,02	
POT_Escala	34700952,08	5888825,74	22217202,39	47184701,78	5,89	<0,0001	35,74	1,00	
DDS	-25343152,02	8289144,51	-42915348,89	-7770955,15	-3,06	0,0075	11,86	85,02	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,09167877308416E18	3	363892924361388000,00	15,08	0,0001
POT_DDS	240420141129978000,00	1	240420141129978000,00	9,96	0,0061
POT_Escala	838092628540898000,00	1	838092628540898000,00	34,72	<0,0001
DDS	225615265418876000,00	1	225615265418876000,00	9,35	0,0075
Error	386177199080327000,00	16	24136074942520500,00		
Total	1,47785597216449E18	19			

Siembra	Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
2	POT_Var	20	0,66	0,59	5781865709868710,00	776,31	781,29

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	Cp	Mallows	VIF
const	165526349,55	80744396,84	-5644081,39	336696780,48	2,05	0,0571			
POT_DDS	46870,91	16078,86	12785,27	80956,55	2,92	0,0101	11,06	31,91	
POT_Escala	9782875,36	2143028,22	5239859,64	14325891,08	4,56	0,0003	22,67	1,00	
DDS	-6357312,03	2392899,05	-11430030,11	-1284593,95	-2,66	0,0172	9,70	31,91	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	98369138747824600,00	3	32789712915941500,00	10,26	0,0005
POT_DDS	27161990793314300,00	1	27161990793314300,00	8,50	0,0101
POT_Escala	66610436604312600,00	1	66610436604312600,00	20,84	0,0003
DDS	22561258442263300,00	1	22561258442263300,00	7,06	0,0172
Error	51142858981003400,00	16	3196428686312710,00		
Total	14951199728828000,00	19			

Anexo 2. Mejor modelo de regression para “LN Cantidad de Nematodos”

C:\Users\Public\MCamacho\Joaquin\Base datos 1.IDB2 : 16/06/2017 - 03:20:47 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Análisis de regresión lineal

Siembra	Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC	
1	LN	Var	20	0,9783	0,9726	0,0362	-15,2092	-9,2348

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows	VIF
const	121,4854	12,5963	94,6370	148,3338	9,6445	<0,0001		
LN_DDS	-75,8161	9,6795	-96,4473	-55,1848	-7,8327	<0,0001	61,5790	20589,9969
RAIZ_DDS	31,4258	4,4693	21,8997	40,9518	7,0315	<0,0001	50,4145	87915,0861
Escala	0,4238	0,0224	0,3761	0,4715	18,9388	<0,0001	340,3217	1,0000
DDS	-0,7856	0,1261	-1,0544	-0,5167	-6,2277	<0,0001	40,4231	23725,9599

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	13,5663	4	3,3916	169,3463	<0,0001
LN_DDS	1,2287	1	1,2287	61,3509	<0,0001
RAIZ_DDS	0,9902	1	0,9902	49,4421	<0,0001
Escala	7,1834	1	7,1834	358,6765	<0,0001
DDS	0,7768	1	0,7768	38,7846	<0,0001
Error	0,3004	15	0,0200		
Total	13,8667	19			

Siembra	Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC	
2	LN	Var	18	0,9723	0,9638	0,2260	17,4349	22,7771

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows	VIF
const	-716,2997	40,2396	-803,2322	-629,3672	-17,8008	<0,0001		
LN_DDS	652,1208	35,4969	575,4344	728,8072	18,3712	<0,0001	317,4653	42671,2338
RAIZ_DDS	-328,6970	17,6874	-366,9084	-290,4857	-18,5837	<0,0001	324,7562	166081,1990
Escala	0,5619	0,0605	0,4313	0,6925	9,2939	<0,0001	84,2778	1,0667
DDS	10,0408	0,5346	8,8859	11,1957	18,7820	<0,0001	331,6386	41196,7742

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	49,9973	4	12,4993	113,9991	<0,0001
LN_DDS	37,0050	1	37,0050	337,5011	<0,0001
RAIZ_DDS	37,8659	1	37,8659	345,3528	<0,0001
Escala	9,4706	1	9,4706	86,3761	<0,0001
DDS	38,6786	1	38,6786	352,7647	<0,0001
Error	1,4254	13	0,1096		
Total	51,4227	17			

Anexo 3. Mejor modelo de regresion para “Cantidad de Nematodos”

C:\Users\Public\MCamacho\Joaquin\Base datos 1.IDB2 : 16/06/2017 - 02:48:29 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Análisis de regresión lineal

Siembra	Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
1	Cant Nem	20	0,87	0,84	21672555,26	388,31	393,29

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	Cp	Mallows	VIF
Const	327084,44	58129,02	203856,44	450312,44	5,63	<0,0001			
LN_DDS	-140365,40	24870,43	-193088,35	-87642,46	-5,64	<0,0001	33,04		226,79
RAIZ_DDS	31938,74	5557,33	20157,73	43719,76	5,75	<0,0001	34,15		226,79
POT_Escala	1097,63	131,33	819,23	1376,03	8,36	<0,0001	68,80	1,00	

Y: 327084,44 -140365,40*ln(DDS) + 31938,74*√DDS + (Escala)²

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1257359009,60	3	419119669,87	34,92	<0,0001
LN_DDS	382365742,40	1	382365742,40	31,85	<0,0001
RAIZ_DDS	396486527,37	1	396486527,37	33,03	<0,0001
POT_Escala	838533911,64	1	838533911,64	69,85	<0,0001
Error	192063740,40	16	12003983,78		
Total	1449422750,00	19			

Siembra	Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
2	Cant Nem	20	0,58	0,50	24015732,68	392,64	397,62

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	Cp	Mallows	VIF
const	98305,37	43026,62	7093,04	189517,69	2,28	0,0363			
LN_DDS	-48013,60	20643,67	-91776,22	-4250,98	-2,33	0,0335	8,15		123,52
RAIZ_DDS	12494,25	5253,01	1358,38	23630,12	2,38	0,0302	8,38		123,52
POT_Escala	589,01	146,35	278,77	899,25	4,02	0,0010	18,30	1,00	

Y: 98305,37 -48013,60 ln(DDS) + 12494,25√DDS + (Escala)²

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	329200474,64	3	109733491,55	7,36	0,0026
LN_DDS	80635332,79	1	80635332,79	5,41	0,0335
RAIZ_DDS	84328679,16	1	84328679,16	5,66	0,0302
POT_Escala	241464084,05	1	241464084,05	16,20	0,0010
Error	238501275,36	16	14906329,71		
Total	567701750,00	19			

Anexo 4. Modelos lineales generales y mixtos para las pruebas de mortalidad de Juveniles de *Meloidogyne* en Laboratorio. Dosis 50 ppm.

C:\Users\Public\MCamacho\Joaquin\Base datos 1.IDB2 : 28/04/2017 - 01:49:04 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Modelos lineales generales y mixtos

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.098_P.Mortal_REML<-gls(P.Mortal~1+Producto+Horas+Producto:Horas
,method="REML"
,na.action=na.omit
,data=mlm.modeloR.dataC050)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.098_P.Mortal_REML

Variable dependiente: P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
72	40,92	78,71	-1,46	0,20	0,73	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	280,47	<0,0001
Producto	5	28,48	<0,0001
Horas	2	1,05	0,3575
Producto:Horas	10	0,46	0,9086

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial			1,00 0,06 A
Reina de la Noche	0,33	0,06	B
Testigo	0,29	0,06	B
Tagetes	0,29	0,06	B
Extracto de algas	0,25	0,06	B
Chile	0,17	0,06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Horas	Medias	E.E.	
72	0,43	0,04	A
48	0,38	0,04	B
24	0,35	0,04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Horas	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial	24	1,00	0,10	A
Testigo químico comercial	72	1,00	0,10	A
Testigo químico comercial	48	1,00	0,10	A
Extracto de algas	72	0,42	0,10	B
Reina de la Noche	48	0,40	0,10	B
Reina de la Noche	72	0,33	0,10	B
Testigo	72	0,31	0,10	B
Tagetes	48	0,30	0,10	B
Tagetes	72	0,29	0,10	B
Testigo	24	0,29	0,10	B
Tagetes	24	0,28	0,10	B
Testigo	48	0,28	0,10	B
Reina de la Noche	24	0,27	0,10	B
Chile	72	0,25	0,10	B
Extracto de algas	24	0,19	0,10	B
Chile	48	0,18	0,10	B
Extracto de algas	48	0,15	0,10	B
Chile	24	0,09	0,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

DOSIS = 050

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.099_PROBIT_P.Mortal_REML<-
gls(PROBIT_P.Mortal~1+Producto+Horas+Producto:Horas
,method="REML"
,na.action=na.omit
,data=mlm.modeloR.dataC050)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.099_PROBIT_P.Mortal_REML

Variable dependiente: PROBIT_P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
72	266,09	303,88	-114,05	1,59	0,70	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	1,55	0,2182
Producto	5	24,62	<0,0001
Horas	2	0,63	0,5347
Producto:Horas	10	0,24	0,9901

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial			4,26 0,46 A
Testigo	-0,58	0,46	B
Tagetes	-0,60	0,46	B
Extracto de algas	-1,18	0,46	B
Reina de la Noche	-1,19	0,46	B
Chile	-2,12	0,46	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Horas	Medias	E.E.	
72	0,06	0,32	A
48	-0,34	0,32	B
24	-0,42	0,32	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Horas	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial				24 4,26 0,79 A
Testigo químico comercial				72 4,26 0,79 A
Testigo químico comercial				48 4,26 0,79 A
Extracto de algas	72	-0,20	0,79	B
Testigo	72	-0,50	0,79	B
Testigo	24	-0,57	0,79	B
Tagetes	48	-0,58	0,79	B
Tagetes	72	-0,60	0,79	B
Tagetes	24	-0,61	0,79	B
Testigo	48	-0,66	0,79	B
Reina de la Noche	48	-1,03	0,79	B
Reina de la Noche	72	-1,19	0,79	B
Reina de la Noche	24	-1,36	0,79	B
Chile	72	-1,40	0,79	B
Extracto de algas	24	-1,61	0,79	B
Extracto de algas	48	-1,73	0,79	B
Chile	48	-2,33	0,79	B
Chile	24	-2,62	0,79	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 5. Modelos lineales generales y mixtos para las pruebas de mortalidad de Juveniles de *Meloidogyne* en Laboratorio. Dosis 100 ppm.

C:\Users\Public\MCamacho\Joaquin\Base datos 1.IDB2 : 28/04/2017 - 01:43:56 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Modelos lineales generales y mixtos

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.090_P.Mortal_REML<-gls(P.Mortal~1+Producto+Horas+Producto:Horas
,weights=varComb(varIdent(form=~1|Producto)
,varIdent(form=~1|Horas))
,method="REML"
,na.action=na.omit
,data=mlm.modeloR.dataC100)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.090_P.Mortal_REML

Variable dependiente: P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
72	-2,76	48,95	27,38	0,03	0,37	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	5048,95	<0,0001
Producto	5	71,43	<0,0001
Horas	2	31,79	<0,0001
Producto:Horas	10	2,52	0,0144

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Medias	E.E.	
Extracto de algas	0,47	0,14	A
Testigo químico comercial			0,45 0,08 A
Testigo	0,29	0,08	A
Chile	0,25	0,01	A
Reina de la Noche	0,25	0,07	A
Tagetes	0,12	0,01	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Horas	Medias	E.E.	
72	0,33	0,03	A
48	0,33	0,03	A
24	0,26	0,09	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Horas	Medias	E.E.	
Extracto de algas	48	0,50	0,14	A
Extracto de algas	72	0,50	0,14	A
Testigo químico comercial				72
Testigo químico comercial				48
Extracto de algas	24	0,42	0,36	A
Testigo químico comercial				24
Testigo	72	0,33	0,09	A
Testigo	48	0,33	0,09	A
Chile	72	0,30	0,01	A
Chile	48	0,30	0,01	A
Reina de la Noche	72	0,28	0,07	A
Reina de la Noche	48	0,28	0,07	A
Testigo	24	0,23	0,22	B
Reina de la Noche	24	0,19	0,18	B
Chile	24	0,16	0,01	B
Tagetes	24	0,15	0,03	B
Tagetes	48	0,11	0,01	B
Tagetes	72	0,11	0,01	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Estructura de varianzas

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varIdent

Formula: ~ 1 | Producto

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim
Chile	1,00
Extracto de algas	24,26
Testigo químico comercial	14,74
Reina de la Noche	11,77
Tagetes	2,18
Testigo	14,43

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varIdent

Formula: ~ 1 | Horas

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim
24,00	1,00
48,00	0,40
72,00	0,40

DOSIS = 100

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.091_PROBIT_P.Mortal_REML<-  
gls(PROBIT_P.Mortal~1+Producto+Horas+Producto:Horas  
,weights=varComb(varIdent(form=~1|Producto))
```

```
,varIdent(form=~1|Horas)
,method="REML"
,na.action=na.omit
,data=mlm.modeloR.dataC100)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.091_PROBIT_P.Mortal_REML

Variable dependiente: PROBIT_P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
72	164,94	216,65	-56,47	0,13	0,31	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	3091,18	<0,0001
Producto	5	18,59	<0,0001
Horas	2	31,17	<0,0001
Producto:Horas	10	0,02	>0,9999

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Medias	E.E.	
Extracto de algas	0,67	1,53	A
Testigo químico comercial			-0,14 0,35 A
Testigo	-0,63	0,41	A
Chile	-0,69	0,02	A
Reina de la Noche	-0,75	0,35	A
Tagetes	-1,39	0,18	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Horas	Medias	E.E.	
48	-0,38	0,18	A
72	-0,38	0,18	A
24	-0,71	0,80	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Horas	Medias	E.E.	
Extracto de algas	48	0,74	0,97	A
Extracto de algas	72	0,74	0,97	A
Extracto de algas	24	0,51	4,39	A
Testigo químico comercial	72	-0,07	0,22	A
Testigo químico comercial	48	-0,07	0,22	A
Testigo químico comercial	24	-0,27	1,00	A

Chile	48	-0,52	0,01	A	
Chile	72	-0,52	0,01	A	
Testigo	48	-0,53	0,26	A	
Testigo	72	-0,53	0,26	A	
Reina de la Noche	48	-0,66	0,22	A	
Reina de la Noche	72	-0,66	0,22	A	
Testigo	24	-0,84	1,18		B
Reina de la Noche	24	-0,92	0,99		B
Chile	24	-1,03	0,06		B
Tagetes	72	-1,24	0,11		B
Tagetes	48	-1,24	0,11		B
Tagetes	24	-1,70	0,51		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Estructura de varianzas

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: *varIdent*

Formula: $\sim 1 \mid \text{Producto}$

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim	
Chile	1,00	
Extracto de algas	68,37	
Testigo químico comercial		15,66
Reina de la Noche	15,50	
Tagetes	8,02	
Testigo	18,46	

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: *varIdent*

Formula: $\sim 1 \mid \text{Horas}$

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim
24,00	1,00
48,00	0,22
72,00	0,22

Anexo 6. Modelos lineales generales y mixtos para las pruebas de para las pruebas de mortalidad de Juveniles de *Meloidogyne* en Laboratorio. SOLO PRODUCTOS.

C:\Users\Public\MCamacho\Joaquin\Base datos 1.IDB2 : 28/04/2017 - 01:15:11 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Modelos lineales generales y mixtos

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.004_P.Mortal_REML<-gls(P.Mortal~1+Producto
,weights=varComb(varIdent(form=~1|Producto))
,method="REML"
,na.action=na.omit
,data=mlm.modeloR.data00)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.004_P.Mortal_REML

Variable dependiente: P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
144	-14,65	20,47	19,33	0,14	0,39	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	350,63	<0,0001
Producto	5	12,81	<0,0001

Pruebas de hipótesis marginales

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Producto	5	138	12,81	<0,0001

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial			0,73 0,06 A
Extracto de algas	0,36	0,06	B
Testigo	0,29	0,03	B
Reina de la Noche	0,29	0,04	B
Chile	0,21	0,03	B
Tagetes	0,21	0,03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Estructura de varianzas

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varIdent

Formula: ~ 1 | Producto

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim	
Chile	1,00	
Extracto de algas	2,32	
Testigo químico comercial		2,29
Reina de la Noche	1,62	
Tagetes	1,00	
Testigo	1,07	

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.005_PROBIT_P.Mortal_REML<-gls(PROBIT_P.Mortal~1+Producto
,weights=varComb(varIdent(form=~1|Producto))
,method="REML"
,na.action=na.omit
,data=mlm.modeloR.data00)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.005_PROBIT_P.Mortal_REML

Variable dependiente: PROBIT_P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
144	501,79	536,92	-238,90	1,52	0,34	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	83,84	<0,0001
Producto	5	9,28	<0,0001

Pruebas de hipótesis marginales

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Producto	5	138	9,28	<0,0001

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial			2,06 0,46 A
Extracto de algas	-0,26	0,49	B
Testigo	-0,61	0,09	B
Reina de la Noche	-0,97	0,28	B
Tagetes	-0,99	0,17	B
Chile	-1,41	0,31	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Estructura de varianzas

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varIdent

Formula: ~ 1 | Producto

Parámetros de la función de varianza

<u>Param</u>	<u>Estim</u>	
Chile	1,00	
Extracto de algas	1,58	
Testigo químico comercial		1,49
Reina de la Noche	0,91	
Tagetes	0,53	
Testigo	0,30	

Anexo 7. Modelos lineales generales y mixtos para las pruebas de para las pruebas de mortalidad de Juveniles de *Meloidogyne* en Laboratorio. PRODUCTOS*DOSIS.

C:\Users\Public\MCamacho\Joaquin\Base datos 1.IDB2 : 28/04/2017 - 01:16:41 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Modelos lineales generales y mixtos

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.010_P.Mortal_REML<-gls(P.Mortal~1+Producto+Dosis+Producto:Dosis
,weights=varComb(varIdent(form=~1|Producto))
,method="REML"
,na.action=na.omit
,data=mlm.modeloR.data06)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.010_P.Mortal_REML

Variable dependiente: P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
144	-38,08	13,81	37,04	0,13	0,60	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	740,86	<0,0001
Producto	5	51,02	<0,0001
Dosis	1	32,89	<0,0001
Producto:Dosis	5	17,12	<0,0001

Pruebas de hipótesis marginales

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Producto	5	132	51,02	<0,0001
Dosis	1	132	7,27	0,0079
Producto:Dosis	5	132	17,12	<0,0001

Estructura de varianzas

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varIdent

Formula: ~ 1 | Producto

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim	
Chile	1,00	
Extracto de algas	2,26	
Testigo químico comercial		1,03
Reina de la Noche	1,66	
Tagetes	0,81	
Testigo	1,12	

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.011_PROBIT_P.Mortal_REML<-  
gls(PROBIT_P.Mortal~1+Producto+Dosis+Producto:Dosis  
,weights=varComb(varIdent(form=~1|Producto))  
,method="REML")  
,na.action=na.omit  
,data=mlm.modeloR.data06)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.011_PROBIT_P.Mortal_REML

Variable dependiente: PROBIT_P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
144	412,11	464,00	-188,05	1,37	0,61	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	149,08	<0,0001
Producto	5	151,31	<0,0001
Dosis	1	453,47	<0,0001
Producto:Dosis	5	90,75	<0,0001

Pruebas de hipótesis marginales

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Producto	5	132	151,31	<0,0001
Dosis	1	132	1,45	0,2308
Producto:Dosis	5	132	90,75	<0,0001

Estructura de varianzas

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varIdent
Formula: ~ 1 | Producto

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim
Chile	1,00
Extracto de algas	1,65
Testigo químico comercial	0,26
Reina de la Noche	1,02
Tagetes	0,52
Testigo	0,34

Anexo 8. Modelos lineales generales y mixtos para las pruebas de para las pruebas de mortalidad de Juveniles de *Meloidogyne* en Laboratorio. PRODUCTO X DOSIS X HORAS.

C:\Users\Public\MCamacho\Joaquin\Base datos 1.IDB2 : 28/04/2017 - 01:25:47 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Modelos lineales generales y mixtos

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.030_P.Mortal_REML<-
  gls(P.Mortal~1+Producto+Dosis+Horas+Producto:Dosis+Producto:Horas+
  Producto:Dosis:Horas
  ,weights=varComb(varPower(form=~fitted(.)|Horas)
  ,varExp(form=~fitted(.)|Dosis))
  ,method="REML"
  ,na.action=na.omit
  ,data=mlm.modeloR.data14)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.030_P.Mortal_REML

Variable dependiente: P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
144	-0,94	111,71	42,47	3021246651,28	0,64	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	80177187761540,80	<0,0001
Producto	5	1987,67	<0,0001
Dosis	1	2,92	0,0902
Horas	2	8,8E-11	>0,9999
Producto:Dosis	5	11,76	<0,0001
Producto:Horas	10	0,83	0,5977
Dosis:Horas	2	0,91	0,4054
Producto:Dosis:Horas	10	0,21	0,9954

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial			0,73 0,09 A
Extracto de algas	0,36	0,10	B
Testigo	0,29	0,24	B
Reina de la Noche	0,29	0,20	B
Chile	0,21	0,14	B
Tagetes	0,21	0,12	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Dosis

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Dosis	Medias	E.E.	
50	0,39	0,07	A
100	0,31	0,11	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Horas	Medias	E.E.	
72	0,38	0,08	A
48	0,36	0,07	A
24	0,30	0,16	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Dosis

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Dosis	Medias	E.E.			
Testigo químico comercial	50			1,00	1,1E-07	A
Extracto de algas	100	0,47	0,14			B
Testigo químico comercial	100			0,45	0,19	B
Reina de la Noche	50	0,33	0,21			B
Testigo	50	0,29	0,21			B
Testigo	100	0,29	0,43			B
Tagetes	50	0,29	0,22			B
Chile	100	0,25	0,27			B
Extracto de algas	50	0,25	0,15			B
Reina de la Noche	100	0,24	0,34			B
Chile	50	0,17	0,08			B
Tagetes	100	0,12	0,13			B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Horas	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial	72			0,74 0,06 A
Testigo químico comercial	48			0,74 0,05 A
Testigo químico comercial	24			0,70 0,27 A
Extracto de algas	72	0,46	0,05	B
Reina de la Noche	48	0,33	0,22	B
Extracto de algas	48	0,32	0,05	B
Testigo	72	0,32	0,26	B
Extracto de algas	24	0,30	0,30	B
Reina de la Noche	72	0,30	0,27	B
Testigo	48	0,30	0,23	B
Chile	72	0,27	0,28	B
Testigo	24	0,26	0,63	B
Chile	48	0,24	0,23	B
Reina de la Noche	24	0,23	0,48	B

Tagetes	24	0,22	0,34	B
Tagetes	48	0,20	0,10	B
Tagetes	72	0,20	0,11	B
Chile	24	0,12	0,21	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Dosis*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Dosis	Horas	Medias	E.E.	
50	72	0,43	0,07	A
50	48	0,38	0,05	B
50	24	0,35	0,18	B
100	48	0,33	0,13	B
100	72	0,33	0,15	B
100	24	0,26	0,27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Dosis*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Dosis	Horas	Medias	E.E.			
Testigo químico comercial	50	24			1,00	1,9E-07	A
Testigo químico comercial	50	72			1,00	1,9E-07	A
Testigo químico comercial	50	48			1,00	1,9E-07	A
Extracto de algas	100	72	0,50	0,08			B
Extracto de algas	100	48	0,50	0,08			B
Testigo químico comercial	100	72			0,48	0,12	B
Testigo químico comercial	100	48			0,47	0,11	B
Extracto de algas	100	24	0,42	0,40			B
Extracto de algas	50	72	0,42	0,07			B
Testigo químico comercial	100	24			0,40	0,54	B
Reina de la Noche	50	48	0,39	0,09			B
Reina de la Noche	50	72	0,33	0,18			B
Testigo	100	72	0,32	0,47			B
Testigo	100	48	0,32	0,42			B
Testigo	50	72	0,31	0,21			B
Chile	100	48	0,30	0,44			B
Chile	100	72	0,30	0,51			B
Tagetes	50	48	0,30	0,19			B
Tagetes	50	72	0,29	0,23			B
Testigo	50	24	0,29	0,56			B
Tagetes	50	24	0,28	0,57			B
Reina de la Noche	100	72	0,27	0,51			B
Reina de la Noche	100	48	0,27	0,44			B
Testigo	50	48	0,27	0,20			B
Reina de la Noche	50	24	0,27	0,60			B
Chile	50	72	0,25	0,23			B
Testigo	100	24	0,22	1,13			B
Extracto de algas	50	24	0,19	0,45			B
Reina de la Noche	100	24	0,18	0,76			B
Chile	50	48	0,17	0,09			B
Chile	100	24	0,15	0,42			B
Tagetes	100	24	0,15	0,37			B
Extracto de algas	50	48	0,15	0,05			B

Tagetes	100	72	0,11	0,02	B
Tagetes	100	48	0,11	0,01	B
Chile	50	24	0,09	0,03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Estructura de varianzas

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varPower
 Formula: ~ fitted(.) | Horas

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim
24,00	8,99
48,00	9,81
72,00	9,69

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varExp
 Formula: ~ fitted(.) | Dosis

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim
50,00	-36,59
100,00	-33,81

Especificación del modelo en R

```
mlm.modelo.031_PROBIT_P.Mortal_REML<-
gls(PROBIT_P.Mortal~1+Producto+Dosis+Horas+Producto:Dosis+Producto:Horas+Dosis
:Horas+Producto:Dosis:Horas
,weights=varComb(varPower(form=~fitted(.)|Horas)
,varExp(form=~fitted(.)|Dosis))
,method="REML"
,na.action=na.omit
,data=mlm.modeloR.data14)
```

Resultados para el modelo: mlm.modelo.031_PROBIT_P.Mortal_REML
 Variable dependiente: PROBIT_P Mortal

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
144	428,62	541,27	-172,31	0,81	0,63	

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis secuenciales

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	7650237,75	<0,0001
Producto	5	632,55	<0,0001
Dosis	1	71,56	<0,0001
Horas	2	2,7E-03	0,9973
Producto:Dosis	5	17,89	<0,0001
Producto:Horas	10	0,40	0,9457
Dosis:Horas	2	0,12	0,8873

Producto:Dosis:Horas 10 0,06 >0,9999

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial	2,06	0,30	A
Extracto de algas	-0,26	0,57	B
Testigo	-0,61	0,28	B
Reina de la Noche	-0,97	0,42	B
Tagetes	-0,99	0,27	B
Chile	-1,41	1,23	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Dosis

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Dosis	Medias	E.E.	
50	-0,23	0,48	A
100	-0,49	0,13	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Horas	Medias	E.E.	
72	-0,16	0,28	A
48	-0,36	0,42	B
24	-0,56	0,56	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Dosis

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Dosis	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial	50	4,26	1,8E-03	A
Extracto de algas	100	0,67	0,30	B
Testigo químico comercial	100	-0,14	0,61	C
Testigo	50	-0,58	0,51	C
Tagetes	50	-0,60	0,51	C
Testigo	100	-0,63	0,24	C
Chile	100	-0,69	0,24	C
Reina de la Noche	100	-0,75	0,22	C
Extracto de algas	50	-1,18	1,11	C
Reina de la Noche	50	-1,19	0,81	C
Tagetes	100	-1,39	0,16	C
Chile	50	-2,12	2,45	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Horas	Medias	E.E.	
Testigo químico comercial		48	2,10 0,35	A
Testigo químico comercial		72	2,10 0,81	A
Testigo químico comercial		24	2,00 0,22	A
Extracto de algas	72	0,27	0,64	B
Extracto de algas	48	-0,49	1,16	B
Testigo	72	-0,52	0,55	B
Extracto de algas	24	-0,55	1,09	B
Testigo	48	-0,60	0,49	B
Testigo	24	-0,70	0,43	B
Reina de la Noche	48	-0,84	0,63	B
Tagetes	48	-0,91	0,44	B
Tagetes	72	-0,92	0,52	B
Reina de la Noche	72	-0,93	0,69	B
Chile	72	-0,96	0,79	B
Reina de la Noche	24	-1,14	0,85	B
Tagetes	24	-1,15	0,42	B
Chile	48	-1,43	2,03	B
Chile	24	-1,83	2,98	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Dosis*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Dosis	Horas	Medias	E.E.	
50	72	0,06	0,45	A
50	48	-0,34	0,82	A
100	48	-0,38	0,19	A
100	72	-0,38	0,32	A
50	24	-0,42	1,11	A
100	24	-0,71	0,15	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROBIT_P.Mortal - Medias ajustadas y errores estándares para Producto*Dosis*Horas

DGC (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Producto	Dosis	Horas	Medias	E.E.			
Testigo químico comercial		50	72	4,26	2,0E-03		A
Testigo químico comercial		50	48	4,26	3,2E-03		A
Testigo químico comercial		50	24	4,26	3,7E-03		A
Extracto de algas	100	48	0,74	0,50			B
Extracto de algas	100	72	0,74	0,55			B
Extracto de algas	100	24	0,51	0,48			B
Testigo químico comercial		100	48	-0,07	0,69		B
Testigo químico comercial		100	72	-0,07	1,62		B
Extracto de algas	50	72	-0,20	1,16			B
Testigo químico comercial		100	24	-0,27	0,43		B
Testigo	50	72	-0,50	0,99			B
Chile	100	48	-0,52	0,41			B
Chile	100	72	-0,52	0,50			B
Testigo	100	72	-0,53	0,50			B
Testigo	100	48	-0,53	0,41			B
Testigo	50	24	-0,57	0,78			B
Tagetes	50	48	-0,58	0,84			B

Tagetes	50	72	-0,60	1,00	B
Tagetes	50	24	-0,61	0,81	B
Testigo	50	48	-0,66	0,89	B
Reina de la Noche	100	72	-0,66	0,43	B
Reina de la Noche	100	48	-0,66	0,38	B
Testigo	100	24	-0,84	0,34	B
Reina de la Noche	100	24	-0,92	0,33	B
Reina de la Noche	50	48	-1,03	1,19	B
Chile	100	24	-1,03	0,32	B
Reina de la Noche	50	72	-1,19	1,31	B
Tagetes	100	48	-1,24	0,29	B
Tagetes	100	72	-1,24	0,28	B
Reina de la Noche	50	24	-1,36	1,67	B
Chile	50	72	-1,40	1,50	B
Extracto de algas	50	24	-1,61	2,13	B
Tagetes	100	24	-1,70	0,27	B
Extracto de algas	50	48	-1,73	2,26	B
Chile	50	48	-2,33	4,03	B
Chile	50	24	-2,62	5,96	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Estructura de varianzas

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varPower

Formula: ~ fitted(.) | Horas

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim
24,00	-0,10
48,00	-0,21
72,00	-0,52

Modelo de covarianzas de los efectos aleatorios: varExp

Formula: ~ fitted(.) | Dosis

Parámetros de la función de varianza

Param	Estim
50,00	-1,07
100,00	0,21

Anexo 9. Modelos lineales generales y mixtos para las pruebas de poblaciones de *Meloidogyne*, comparados los tratamientos contra el TSI.

VER ARCHIVO: ***Análisis con Mixed Agosto 2016.pdf*** (Adjunto)