

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



EXTRACTOS DE PLANTAS CON POTENCIAL NEMATICIDA EN EL CONTROL DEL FALSO NEMATODO DEL NÓDULO DE LA RAIZ (*Nacobbus* spp.) *IN VITRO*

TESIS

PRESENTADA POR:

MARIELA VELASQUEZ PARI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

MENCION: AGRO AMBIENTAL

PROMOCIÓN: 2010 - II

PUNO - PERÚ

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



EXTRACTOS DE PLANTAS CON POTENCIAL NEMATICIDA EN EL
CONTROL DEL FALSO NEMATODO DEL NÓDULO DE LA RAÍZ
(*Nacobbus* spp.) *IN VITRO*

TESIS

PRESENTADA POR:


MARIELA VELASQUEZ PARI


PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:


INGENIERO AGRÓNOMO. MENCIÓN: AGRO AMBIENTAL

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 03 de Octubre del 2013

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE : 
M. Sc. Ángel CARI CHOQUEHUANCA

PRIMER MIEMBRO : 
Ing. Humberto SERRUTO COLQUE

SEGUNDO MIEMBRO : 
Mg. Ag. Marilu CHANINI QUISPE

DIRECTOR DE TESIS : _____
D.Sc. Silverio APAZA APAZA

PUNO – PERÚ
2013

Área : Ciencias agrícolas
Tema : Manejo integrado de plagas y enfermedades en cultivos andinos,
tropicales, forestales y pasturas.

DEDICATORIA

A nuestro señor Jesucristo por guiar mis pasos en el logro de mi objetivo.

A la memoria de mi querido padre Martin Velásquez Suaña.

A mi madre natividad por el apoyo incondicional para mi objetivo.

A mi esposo Ludwig, a mi hijo Leonard y a mi hija Jazmin, por ser el motor y motivo para salir adelante y triunfar juntos.

A mis hermanos y familiares, como testimonio al apoyo y comprensión que en todo momento me brindaron, para la culminación del presente trabajo de investigación.

MARIELA

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano, en especial a la Facultad de Ciencias Agrarias por mi formación profesional.

A los señores docentes de la Facultad de Ciencia Agrarias, por sus sabias enseñanzas impartidas durante mi formación profesional.

Al D.Sc. Silverio Apaza Apaza, por su acertada dirección en la ejecución del presente trabajo de investigación.

A los miembros de jurado revisor, M. Sc. Angel Cari Choquehuanca, presidente; Ing. Humberto Serruto Colque, primer miembro; Mg. Ag. Marilu Chanini Quispe, segundo miembro; por sus comentarios y sugerencias los cuales enriquecieron el presente trabajo de investigación.

MARIELA

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	14
ABSTRACT	15
INTRODUCCIÓN	16
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, ANTECEDENTES Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	19
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
1.2. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	21
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	24
1.3.1. Objetivo General	24
1.3.2. Objetivos Específicos.....	24
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO, MARCO CONCEPTUAL E HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	25
2.1. MARCO TEÓRICO.....	25
2.1.1. <i>Nacobbus aberrans</i>	25
2.1.1.1. Biología de <i>Nacobbus aberrans</i>	25
2.1.1.2. Ubicación taxonómica	26
2.1.1.3. Distribución geográfica.....	27
2.1.1.4. Disminución de producción	27
2.1.1.5. Hospederos.....	28
2.1.1.6. Síntomas	29
2.1.1.7. Control.....	30
2.1.2. Alternativas en el control de nematodos	30
2.1.3. Método para extraer juveniles del suelo	32

2.1.3.1.	Método de la bandeja.....	32
2.1.4.	Plantas biosidas y repelentes	33
2.1.5.	Plantas nematicidas.....	36
2.1.5.1.	Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.)	37
2.1.5.2.	Tarwi (<i>Lupinus mutabilis</i> S.).....	40
2.2.	MARCO CONCEPTUAL	44
2.3.	HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.....	48
2.3.1.	Hipótesis general	48
2.3.2.	Hipótesis específica	48
CAPITULO III: METODO DE INVESTIGACIÓN.....		49
2.1.	MATERIAL EXPERIMENTAL.....	49
2.2.	METODOLOGÍA.....	49
2.2.1.	Fase de campo	49
2.2.2.	Fase de laboratorio	50
2.2.2.1.	Separación de los extractos de las plantas con propiedades nematicidas	50
2.2.2.2.	Obtención de los juveniles de <i>Nacobbus</i> spp.....	52
2.2.2.3.	Aplicación de los extractos de plantas	53
2.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	53
2.3.1.	Variables en estudio	53
2.3.1.1.	Variable independiente	53
2.3.1.2.	Variable dependiente	54
2.3.2.	Tratamientos	54
2.3.3.	Diseño Experimental.....	55
CAPITULO IV: CARACTERIZACIÓN DEL AREA DE INVESTIGACIÓN		57

CAPITULO V: EXPOSICIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	58
5.1. MORTALIDAD DE JUVENILES DEL FALSO NEMATODO DE LA RAÍZ (<i>Nacobbus</i> spp.) CON LA APLICACIÓN DE DOS DOSIS DE TRES EXTRACTOS DE PLANTAS CON POTENCIAL NEMATICIDA A LOS 15 MINUTOS.....	58
5.2. MORTALIDAD DE JUVENILES DEL FALSO NEMATODO DE LA RAÍZ (<i>Nacobbus</i> spp.) CON LA APLICACIÓN DE DOS DOSIS DE TRES EXTRACTOS DE PLANTAS CON POTENCIAL NEMATICIDA A LOS 30 MINUTOS.....	63
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	70
ANEXOS	76

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Potencial de plantas con propiedades biocidas reportadas en el Perú.....	35
Cuadro 2. Composición química de la lechuga por cada 100g de materia seca.....	40
Cuadro 3. Composición química del tarwi silvestre por cada 100g.....	43
Cuadro 4. Plantas con propiedades nematocidas	53
Cuadro 5. Tratamientos, concentración y dosis en estudio.....	54
Cuadro 6. Tratamientos, repeticiones y unidades experimentales sin aleatorizar.	54
Cuadro 7. Operacionalización de variables.....	55
Cuadro 8. Análisis de varianza para los factores en estudio.....	56
Cuadro 9. Análisis de varianza para la mortalidad de juveniles (<i>Nacobbus spp.</i>) a los 15 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.	59
Cuadro 10. Prueba de Duncan para el factor plantas nematocidas (A) a los 15 minutos de su aplicación con extracto de planta de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.	60
Cuadro 11. Prueba de Duncan para el factor dosis (B) a los 15 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.....	61
Cuadro 12. Prueba de Duncan para la interacción de plantas nematocidas (A) x dosis (B) a los 15 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%	62

Cuadro 13. Análisis de varianza para la mortalidad de juveniles (<i>Nacobbus spp.</i>) a los 30 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.....	64
Cuadro 14. Prueba de Duncan para el factor plantas nematicidas (A) a los 30 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.....	65
Cuadro 15. Prueba de Duncan para el factor dosis (B) a los 30 minutos de su aplicación con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.....	65
Cuadro 16. Prueba de Duncan para la interacción de plantas nematicidas (A) x dosis (B) a los 30 minutos de su aplicación con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%	66
Cuadro 17. Evaluación de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 15 minutos de aplicación (datos reales).	76
Cuadro 18. Porcentaje de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 15 minutos de aplicación (datos reales).	76
Cuadro 19. Evaluación de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 15 minutos de aplicación (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$).	77
Cuadro 20. Evaluación de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 30 minutos de aplicación (datos reales).	77

- Cuadro 21. Porcentaje de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 30 minutos de aplicación (datos reales). 78
- Cuadro 22. Evaluación de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 30 minutos de aplicación (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$). 78

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Montar el equipo tal como se muestra en la siguiente fotografía	50
Figura 2. Destilación de arrastre por vapor	51
Figura 3. Ubicación donde se llevó a cabo la investigación.	57
Figura 4. Mortalidad de juveniles con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 15 minutos de aplicación.	62
Figura 5. Mortalidad de juveniles con extracto de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 30 minutos de aplicación.	67
Figura 6. Equipo para la obtención de aceites esenciales.	79
Figura 7. Planta nematicida en estudio (Lechuga).	79
Figura 8. Planta nematicida en estudio (Tarwi).	80
Figura 9. Planta nematicida en estudio (tarwi silvestre).	80
Figura 10. Proceso de Obtención del extracto del tarwi.	81
Figura 11. Obtención del extracto de lechuga.	81
Figura 12. Resultado del extracto de planta obtenido.	82
Figura 13. Extractos de plantas obtenidos de Lechuga, Tarwi cultivado y Tarwi silvestre.	82
Figura 14. Obtención de los juveniles, empleando el método modificado de Baermann.	83
Figura 15. Muestra de suelo 50g, para obtención de juveniles.	83
Figura 16. Tratamiento en estudio.	84
Figura 17. Aplicación de los extractos de plantas en estudio.	84
Figura 18. Aplicación de las soluciones en estudio.	85

Figura 19. Juveniles de <i>Nacobbus</i> spp. Muertos.	85
Figura 20. <i>Nacobbus</i> spp. Muerto por extracto de tarwi silvestre al 40% dosis en 30 min.	86

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- CV : Coeficiente de variación
- D.C.A. : Diseño completo al azar
- F. de V. : Fuente de variación
- G.L. : Grados de libertad
- L. : Linneo
- m.s.n.m. : metros sobre el nivel del mar
- min. : minutos
- p/v : porcentaje en volumen
- spp. : todas las especies individuales dentro de un género
- * : Significativo
- ** : Altamente significativo

RESUMEN

El trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano, teniendo una duración de ocho meses siendo el objetivo general : Evaluar el efecto letal *in vitro* del extracto de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y Tarwi silvestre (*Lupinus chlorilepis*) sobre el falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) y como objetivos específicos: a) Determinar el extracto de plantas y su dosis de aplicación más efectiva para el control del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) *in vitro* y b) Detectar el tiempo de mortalidad óptimo de juveniles del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) a la aplicación de los extracto de plantas *in vitro*. Se utilizó el Diseño Experimental Completamente al Azar (D.C.A), con un arreglo factorial de tres plantas con propiedades nematicidas por dos dosis de aplicación, con un total de seis tratamientos, con tres repeticiones, haciendo un total de 18 unidades experimentales. Antes de realizar los análisis de varianza, los datos originales fueron transformados a la función de $\sqrt{x+1}$, para homogenizar las varianzas debido a que estos constituyen valores de contadas (Calzada, 1996). Llegando a las siguientes conclusiones: 1. El extracto de plantas que tuvo mejor resultado en la mortalidad de nematodos juveniles de *Nacobbus* spp. fue del tarwi silvestre al 40% en las dos evaluaciones realizadas. 2. El mejor tiempo en mortalidad de nematodos juveniles de *Nacobbus* spp. fue a los 30 minutos de aplicación del extracto de plantas de tarwi silvestre al 40%.

Palabras clave: Extracto de planta, juvenil, mortalidad y dosis.

ABSTRACT

The work was carried out in the Phytopathology laboratory of the Faculty of Agrarian Sciences of the National University of the Altiplano, with a duration of eight months being the general objective: To evaluate the in vitro lethal effect of lettuce plant extract (*Lactuca sativa* L.), Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) and Tarwi wild (*Lupinus chlorilepis*) on the false nodule nematode of the root (*Nacobbus* spp.) And as specific objectives: a) To determine the extract of plants and its dose of more effective application for the (*Nacobbus* spp.) In vitro and (b) to detect the optimal mortality time of juveniles of the false root nodule nematode (*Nacobbus* spp.) To the application of in vitro plant extracts. The Experimental Design Completa al Azar (D.C.A) was used, with a factorial arrangement of three plants with nematicidal properties by two application rates, with a total of six treatments, with three replications, making a total of 18 experimental units. Before performing the analysis of variance, the original data were transformed to the function of, to homogenize the variances because these are counted values (Calzada, 1996). Coming to the following conclusions:

1. The extract of plants that had better result in the mortality of juvenile nematodes of *Nacobbus* spp. Was from the wild tarwi to 40% in the two evaluations carried out.
2. The best time in mortality of juvenile nematodes of *Nacobbus* spp. Was at 30 minutes of application of the extract of plants of wild tarwi to 40%.

Key words: Plant extract, juvenile, mortality and dose.

INTRODUCCIÓN

Para el control de los nematodos fitoparásitos a nivel mundial se utilizan mayormente nematicidas químicos, con el consiguiente riesgo del medio ambiental. Por lo que se hace necesario la búsqueda y el desarrollo de productos menos tóxicos y más específicos, como es el caso de los bioplaguicidas basados en productos naturales, en este caso los extractos de plantas los cuales constituyen una alternativa (Agrios, 1997).

Es cierto que para combatir las plagas se puede utilizar tecnología avanzada; pero, se debe tener en cuenta que las técnicas y los métodos utilizados favorezcan a la salud de los seres humanos y también a la salud de los animales y vegetales que sirven como alimento del hombre. Muchos agroquímicos, tales como los fertilizantes y plaguicidas sintéticos de origen orgánico e inorgánico, aplicados de manera irresponsable e indiscriminada propician el surgimiento de la resistencia en las principales plagas; al mismo tiempo que, rompen el equilibrio de los diferentes agroecosistemas; además, que determinan la bioacumulación y poder residual prolongado causando contaminación del medio ambiente, de los vegetales comestibles, del agua, de la atmósfera y de los productos extraídos de animales como la leche, carne, huevos, mantequilla e intoxicación a los usuarios principalmente (Duke *et al.*, 2010).

Las observaciones de los agricultores sobre el comportamiento de ciertas plantas en el campo, especialmente el de plantas vecinas, como la liberación

de exudados a través de sus raíces, lixiviación, volatilización y descomposición de los residuos de las plantas en el suelo, fue probablemente el principio de su utilización con dichos fines, experiencias que fueron el principio e inicio de su aplicación en macerados, fermentados, infusiones y posteriormente los hidrolatos y procesos de hidrodestilación, los que permitieron a los investigadores el descubrimiento de más de 10 000 metabolitos secundarios con efectos biocidas (Duke *et al.*, 2010).

Por otro lado; estas plantas adecuadamente procesadas no sólo sirven como nematocidas sino también como abono radicular, foliar, como funguicida además tienen propiedades hormonales que permiten un mejor crecimiento del cultivo. Si su uso es constante mantienen un control sobre enfermedades e insectos dejándolos al mínimo su presencia, no erradican a los insectos benéficos que ayudan al control de plagas, mantienen el suelo en buenas condiciones aumentando su fertilidad y finalmente no contiene ningún tipo de químico que afecte nuestra alimentación (Duke *et al.*, 2010).

Sabiendo que en la actualidad el control del falso nematodo del nódulo de la raíz, se hace cada vez más difícil y no existiendo productos que ofrezcan resultados satisfactorios para disminuir la incidencia del ataque del mismo en diferentes cultivos y que la población de este fitopatógeno se regenera rápidamente, es que se ha optado por realizar el presente trabajo de investigación con la finalidad de generar conocimientos para reducir el grado de ataque de este fitoparásito. Implementando un determinado método de control, en el cual se trata sencillamente de usar plantas del cual obtendremos extracto

con el método adecuado para la obtención, con el cual vamos a disminuir el ataque a los diferentes cultivos que son afectados por este nematodo, sabiendo así cuál de ellos es más favorable.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, ANTECEDENTES Y

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los nematodos parásitos de plantas con más de 1 400 especies descritas constituyen uno de los grupos más importantes de organismos que habitan el suelo, y que a menudo se tornan en uno de los problemas fitosanitarios más difíciles de controlar en desmedro de la producción agrícola y por ende de la economía agraria. Las pérdidas de cosecha anuales estimadas debidas a nematodos parásitos de plantas en la producción agrícola mundial se aproxima al 11% y en términos absolutos las pérdidas económicas anuales se calculan en torno a los 80 billones de dólares (Agrios, 1997).

Los nematodos son denominados enemigos ocultos o invisibles debido a su pequeño tamaño ya que, cuando su efecto se hace evidente, el nivel poblacional de la plaga es alto. Estos organismos no solo debilitan las plantas y disminuyen los rendimientos por su acción directa sobre las raíces, sino que actúan también en complejos etiológicos que involucran a hongos, bacterias y virus (Karssen y Moens, 2006).

Los principales nematodos que atacan al cultivo de la papa en la zona andina de Bolivia son *Nacobbus aberrans*, conocido como el "rosario de la papa" y *Globodera* spp. o "nematodo quiste de la papa". Estos nematodos

individualmente o en interacción causan pérdidas del 30 al 70% en los rendimientos del cultivo de papa en Bolivia (Franco, 1994).

La producción del cultivo de papa en el altiplano peruano es de gran importancia para los pequeños y medianos agricultores, debido a que es una fuente de alimentación, trabajo e ingresos. Por otro lado, la intensa actividad agrícola dedicada al cultivo de papa en el altiplano peruano, ha ocasionado que sus campos de producción sean considerados como zonas endémicas de numerosas plagas y enfermedades causando pérdidas en el rendimiento y calidad del producto.

De los problemas expuestos, surgen las siguientes interrogantes que intentamos despejar con la presente investigación:

- ¿Cuál será el efecto letal *in vitro* del extracto de lechuga (*Lactuca sativa* L.), Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y Tarwi silvestre (*Lupinus chlorilepis*) sobre el falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp)?
- ¿Cuál será el extracto de planta y su dosis de aplicación más efectiva para el control *in vitro* del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp)?
- ¿Cuál será el tiempo de mortalidad óptimo de juveniles del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp?) a la aplicación *in vitro* de los extractos de plantas?

1.2. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Investigaciones recientes indican que extractos de plantas que contienen aceites esenciales muestran mayor actividad fungicida, sin embargo, en los últimos años se han realizado estudios con la intención de evaluar la actividad fungicida de otros metabolitos secundarios como son los alcaloides, los cuales se acumulan en cerca del 20% de todas las especies de plantas y se ha aclarado la estructura química aproximadamente de 12,000. Por la importancia que representan los alcaloides quinolizidinicos (AQ) en las especies del género *Lupinus* (Fabaceae) como defensa química contra patógenos (hongos, bacterias, nematodos, virus), se han realizado investigaciones con la intención de evaluar su actividad contra organismos fitopatógenos. Existen antecedentes sobre la actividad fungicida *in vitro* de alcaloides puros (graminia y esparteína) obtenidos de lupinus amargos sobre hongos, en los que se observó mayor actividad con graminia en el caso de la esparteína, solo mostro cierto efecto (Montes y Belmont, 1996).

Varas *et al.*, (2008), al realizar el trabajo denominado “Optimización de dosis de extractos de *Bidens pilosa* L. para el control de *Meloidogyne incognita* Kofoid & Chitwood 1949 *in vitro*”. Cuyo objetivo fue determinar la dosis óptima de extractos de *Bidens pilosa* L. (amor seco) para el control de *Meloidogyne incognita* L, llego a la conclusión que la dosis que presento mejores resultados fue la dosis del 10% con un porcentaje de efectividad de 98,33%.

El suelo biofumigado con brócoli, coliflor y nabo es eficaz en el control del nematodo *Meloidogyne javanica* en invernadero, ya que reduce tanto el número

de agallas, el número de huevos presentes en raíces de la planta. La incorporación de material vegetal en el suelo fue también eficiente en relación con la ganancia de masa de los brotes, en comparación con el testigo, tanto en lo que respecta a los nematodos de control, sin nematodos, o incluso en el suelo sin la presencia de la incorporación de nematodos, las coles promueven un aumento en la masa de las plantas. El trabajo abre una nueva línea de investigación y, a continuación, debe llevarse a cabo experimentos con diferentes dosis de diferentes períodos de las plantas y tratamiento de suelos (Wania, *et al.*, 2010).

Xiphinema index Thorne and Allen es un nematodo ectoparásito económicamente importante en la vid (*Vitis vinifera* L.) en Chile, como patógeno de las raíces y como vector del "virus de la hoja en abanico" (GFLV) en vides. El control tradicional se ha hecho básicamente con productos químicos, de efectos erráticos y muy cuestionados por sus efectos ambientales. El objetivo de este trabajo fue evaluar en vides cv. Thompson Seedless el efecto nematicida de ocho plantas antagónicas en el control de *Xiphinema index*. Las plantas antagónicas se cultivaron en líneas de plantación y se incorporaron como abono verde. Las especies ensayadas fueron: raps (*Brassica napus* L.), caléndula (*Calendula officinalis* L.), cosmos (*Cosmos bipinnatus* Cav.), gaillardia (*Gaillardia picta* L.), lupino (*Lupinus albus* L.), clavelón (*Tagetes patula* L.), tomillo (*Thymus vulgaris* L.), zinia (*Zinnia elegans* Jacq.). El efecto de estas especies se comparó con tres testigos: testigo absoluto (sólo vides); testigo químico (Fenamiphos, 4 kg i.a. ha⁻¹); y cebada (*Hordeum vulgare* L.) testigo planta sin antecedentes nematicidas. La acción

nematicida de las especies ensayadas se evaluó determinando las densidades poblacionales del nemátodo en 250 cm³ de suelo en: 1) antes del establecimiento de los cultivos; 2) previo a su incorporación al suelo, a los dos meses del establecimiento; 3) 3 meses después de la incorporación. El mejor resultado se obtuvo con el establecimiento e incorporación del raps (*Brassica napus*), el cual redujo significativamente las poblaciones de *Xiphinema index* ($P < 0,05$) en comparación con el testigo químico. El resto de las especies vegetales no fueron efectivas en el control de *Xiphinema index* (Aballay e Insungay, 2009).

Gómez *et al.*, (2009), al realizar el trabajo de investigación denominado “Efectividad de *Lactuca sativa* usada como planta trampa de *Meloidogyne* spp. en la producción protegida de hortalizas” sostuvieron que: El objetivo de este trabajo es evaluar la efectividad de la lechuga (*Lactuca sativa* var. Black Seeded Simpson) como planta trampa de *Meloidogyne* spp., en una instalación de producción protegida de hortalizas. Las plantas de lechuga se trasplantaron a una densidad de siembra de 49 plántulas. m²-1 y se cosecharon conjuntamente con el sistema radical a los 25-27 días. El nivel de infestación inicial y final se determinó a través de la técnica de bioensayo con el uso de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Campbell-28). Los resultados evidenciaron que con el empleo de esta táctica fue posible reducir el índice de agallamiento de las plantas en 1,5 grados, lo que refleja una disminución en el nivel de la población de los nematodos en el suelo.

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo General

Evaluar el efecto letal *in vitro* del extracto de lechuga (*Lactuca sativa* L.), Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y Tarwi silvestre (*Lupinus chlorilepis*) sobre el falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.)

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto del extracto vegetal y su dosis de aplicación más efectiva para el control del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) *in vitro*
- Detectar el tiempo de mortalidad óptimo de juveniles del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) a la aplicación de los extractos *in vitro*.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO, MARCO CONCEPTUAL E HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. *Nacobbus aberrans*

2.1.1.1. Biología de *Nacobbus aberrans*

En el ciclo biológico de *Nacobbus aberrans* la primera muda de la cutícula ocurre dentro del huevo, del cual emerge el segundo estadio larval y penetra en las raíces donde llega hasta el cuarto estadio. Algunas larvas salen y entran en las raíces hasta completar su ciclo de vida. Los machos quedan en el suelo, pero la hembra se establece nuevamente en la raíz y produce nódulos. La hembra tiene forma ensanchada pero más alargada que *Meloidogyne*, la parte posterior de su cuerpo retiene huevos, pero también los depositan en una masa gelatinosa secretada por ella. Las larvas y hembras jóvenes también penetran en los tubérculos, pero no forman nodulaciones. El ciclo puede completarse en 25 a 50 días dependiendo de la temperatura. (Canto, 1999).

La hembra adulta es piriforme o esferoidal, de color blanco brillante y mide aproximadamente un milímetro de diámetro; pudiendo ser vista con una lupa común. Vive dentro del tejido de las raíces, donde se desarrolla y se alimenta mediante un fino estilete bucal, con el cual perfora las células de la raíz. Esto provoca una reacción en la zona afectada, formándose así los llamados “nudos, nódulos o agallas radiculares”. Cuando alcanza la madurez sexual

pone sus huevos dentro de una masa gelatinosa, la cual esta generalmente dirigida hacia la parte externa de la raíz, luego de la madurez eclosionan los huevos, salen cientos de larvas que tienen forma de anguilulas pequeñísimas. A estas se les llama “larvas infestantes” ya que de inmediato emigran en busca de nuevos tejidos o raíces que infectar. El macho es vermiforme y mide hasta dos milímetros de largo y no penetra al interior de la raíz. Crece y se alimenta desde el exterior de la raíz. (Garmendia, 1994).

2.1.1.2. Ubicación taxonómica

Se propuso el género *Nacobbus* basados principalmente en el pronunciado dimorfismo sexual, superposición de la glándula esofágica dorsal al intestino y por el engrosamiento o hinchazones producidos en las raíces que los alojan. (Thorne y Allen, 1944).

La Sociedad Española de Fitopatología (2000), ubica taxonómicamente al “falso nematodo del nódulo de la raíz” o “nematodo del rosario” como sigue:

Phylum	:	Nemata
Clase	:	Secernentea
Subclase	:	Tylenchia
Orden	:	Tylenchida
Suborden	:	Tylenchina
Superfamilia	:	Hoplolaimoidea
Familia	:	Nacobbidae
Género	:	<i>Nacobbus</i>
Especie	:	<i>Nacobbus aberrans</i>

2.1.1.3. Distribución geográfica

Nacobbus aberrans, denominado también como “falso nematodo del nudo”, “nematodo rosario de la papa”, “thola sapi” ò “kuran kura” (PROINPA, 1993).

Las especies de *Nacobbus* han sido reportadas en Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador, India, México, Perú, Rusia y Estados Unidos, bajo diversas condiciones ecológicas, que permiten sospechar la presencia de razas y en algunos casos únicamente como resultado de investigación, tal como sucedió en Inglaterra y Holanda (Quimi, 1981).

En nuestro país, el falso nematodo del nudo se encuentra disperso en el Callejón de Huaylas, Huamachuco, Moquegua, Cajamarca, Puno y algunas partes del Valle del Mantaro (Untiveros, 1986).

Al realizar un estudio del grado de ataque del “falso nematodo del nudo” *Nacobbus* spp. en la provincia de Chucuito, concluye que en los distritos de Pomata, Juli e llave presentan un mayor grado de infestación radicular, mientras que en Yunguyo, Desaguadero y Zepita, la infestación es menor (Astorga, 1974).

2.1.1.4. Disminución de producción

Nacobbus aberrans Thorne & Allen, es uno de los nematodos dañinos de las plantas, caracterizando por su fuerte estilete, perforando los tejidos de los vegetales con la ayuda de una secreción enzimática denominado saliva, una vez introducido el estilete, el esófago actúa como una bomba, para extraer las

sustancias del protoplasma celular del huésped, también indica que las plantas, segregan un agente atractivo y otro repelente, y que el balance entre ambos determinan el que la planta atraiga o rechace a determinado nematodo, el incremento de la sanidad de la población de nematodos tiene lugar cuando la planta hospedera permite un índice de reproducción que excede al de la mortalidad del nematodo (Yepez, 1970).

Para el caso específico de *Nacobbus aberrans*, la infección al sistema radicular de la planta se da a través del segundo estadio juvenil, así como también por las hembras adultas (Inserra, 1983).

2.1.1.5. Hospederos

El nematodo del nudo se encuentra en plantas como papa, tomate, olluco, mashua, nabo silvestre, quinua y malezas (Untiveros, 1986).

Evaluaron en invernadero y laboratorio la reacción a *Nacobbus aberrans*, de 40 entradas de *Oxalis tuberosa* (oca), 17 de *Ullucus tuberosus* (papalisa) y 8 de *Tropaeolum tuberosum* (izaño) existentes en el banco de germoplasma del Programa de Investigación de la papa. De las entradas de oca, una sola presentó nódulos en su sistema radicular, mediante un análisis de laboratorio de las otras 39 (método de la licuadora y recolección en tamices) 38 confirmaron su reacción negativa, sin embargo, una de ellas resultó ser asintomática, ya que presentó invasión de estados vermiformes del nematodo. En la papalisa, 15 presentaron nódulos y dos fueron asintomáticas ya que en laboratorio también presentaron invasión de estados vermiformes. En el isaño,

una entrada presento nódulos y de las restantes siete, dos no fueron hospedantes del nematodo y ocho presentaron reacción asintomática. (Balderrama *et al.*, 1994).

Es originario de la zona andina de América del Sur. En la actualidad se encuentra presente en EEUU atacando remolacha azucarera, brócoli y repollo. En México ataca maíz, poroto, trigo, repollo, girasol, papa, pimiento y tomate. También está presente en Perú, Bolivia, Chile y Ecuador. En Rusia, India, Inglaterra y Holanda ataca las producciones de tomate y pimiento en invernadero. En Argentina se lo citó por primera vez en 1974 en Tafí del Valle, Tucumán. Actualmente se encuentra presente en cultivos comerciales de papa, pimiento y tomate en las provincias de Buenos Aires, Santa Fé, Mendoza, San Juan, Catamarca, Salta, Jujuy, Córdoba y la Rioja (e.campo.com, 2005).

2.1.1.6. Síntomas

En la parte aérea de la planta no existe ningún síntoma que caracterice el ataque de *Nacobbus*, ya que estos pueden ser confundidos con una falta de turgencia en la planta evidenciada por un marchitamiento, que bien podría deberse a la poca humedad del suelo o en un reducido desarrollo de la planta por una supuesta deficiencia de nutrientes o un crecimiento radicular pobre como respuesta a problemas físicos del suelo. Los síntomas causados por este nematodo en las raíces, son notorios por la presencia de ensanchamientos, nódulos o agallas, cuyo tamaño dependerá tanto del tamaño de la raíz como de la raza de nematodo y su densidad poblacional en el suelo (Franco *et al.*, 1992).

2.1.1.7. Control

Para el caso del Género *Nacobbus* el sistema de rotación de cultivos no es tan eficiente por el amplio rango de hospederos que posee este nematodo, incluyendo malezas comunes (Otazú *et al.* 1986).

Debido a la amplia gama de hospedantes de este nematodo, los sistemas de control cultural como la rotación de cultivos, barbechos, descanso, etc., se ven enormemente dificultados (PROINPA, 1991).

El Ministerio de Agricultura (1972), recomiendan para el control de *Nacobbus* lo siguiente:

- Temprana y adecuada preparación del terreno.
- Rotación con cereales y leguminosas que deben estar acompañado con la eliminación o control de plantas huacchas de papa y malezas hospedantes.
- Uso de materia orgánica.
- Uso de cultivares resistentes.
- Uso de semilla sana.
- Uso de Fertilizantes, específicamente fosforados y potásicos.
- Desinfección de tubérculos - semilla.
- Uso adecuado de nematicidas.
- Quema de raíces con nódulos.

2.1.2. Alternativas en el control de nematodos

Tradicionalmente el control de los nematodos fitopatógenos se ha basado en el uso de nematicidas químicos, productos actualmente muy cuestionados por

sus efectos adversos a los seres vivos y a los agroecosistemas, además de su alto costo. Por lo tanto, se debe investigar otras alternativas de control que sean ecológicamente benignas y sustentables. Una de estas alternativas está basada en la actividad alelopática que presentan algunas plantas, lo que ha suscitado un creciente interés en los últimos años (Hasan, 1992; Halbrendt, 1996).

Varias especies de plantas liberan compuestos alelopáticos a través de la volatilización, o de exudación de las raíces, o de la disolución y descomposición de las plantas o residuos. Numerosos de estos compuestos son nematóxicos o nematostáticos sobre distintas especies de fitoparásitos. Estos compuestos pueden ser biocidas, o interferir de otras formas en el ciclo de vida (Chitwood, 1992; Sukul, 1992).

Se han reportado numerosas especies de plantas, representando varias familias botánicas, que producen compuestos nematicidas. En la literatura se las denomina como plantas nematicidas o como plantas antagónicas a los nematodos. En agricultura es factible usar algunas de estas plantas antagónicas en el manejo de nematodos, tanto en rotaciones, como en cultivos en cobertura, entre hileras, enmiendas, o abono verde en suelos cultivables (Halbrendt, 1996). Así, si el suelo se maneja mediante coberturas vegetales con propiedades nematicidas, además de controlar a los nematodos y otras plagas, se contribuye a evitar la erosión y compactación del suelo, a favorecer la diversidad biológica y controlar el crecimiento de malezas.

2.1.3. Método para extraer juveniles del suelo

2.1.3.1. Método de la bandeja

Canto (1988), cita un método para la extracción de juveniles (J2) a partir de raíces o suelo al cual le denomina “método de la bandeja”, este viene a ser una modificación del método del embudo de Baermann, el mismo que requiere de los siguientes materiales.

- Bandejas redondas.
- Bandejas con malla o tamiz.
- Papel facial o papel higiénico.
- Beaker de 100 ml o 250 ml.
- Suelo o raíces.
- Balanza.
- Pipeta.
- Tamiz de 400 mallas.

Procedimiento:

- a. Colocar 500cc de suelo o 5 g de raíces (picadas) en la bandeja con malla o tamiz en la que previamente se ha colocado el papel facial. Esta bandeja se coloca sobre la bandeja sin tamiz, a la cual se le echa agua con una pipeta por un costado al tamiz sin malla, hasta que aparezca una película de agua en la superficie de la muestra de suelo o raíz (picadas) y se deja por 48 horas. La frecuencia de recolección de los nematodos es cada dos días, después de 8 días debe haberse recogido un 80% del total de nematodos.

- b. Cada 48 horas, se retira la bandeja con tamiz. Para recoger la suspensión de la bandeja sin tamiz donde presumiblemente están los nematodos esto pasando a través del tamiz de 400 mesh.
- c. Se recoge los nematodos del tamiz de 400 mesh en un beaker para llevarlo a 100 ml de suspensión.
- d. Homogenizar y tomar alícuotas de 1 a 5 ml Para efectuar el conteo de los nematodos (J2) en el estereoscopio o microscopio de disección.

2.1.4. Plantas biosidas y repelentes

Plantas biosidas y repelentes son vegetales (raíz, tallo, hojas, flores y semillas) que por sus características propias de astringentes (constreñir, etc.), grado de pulgencia (picante, repugnante), amargos y productos químicos de su esencia controla todo el complejo de plagas y enfermedades de cultivos dependiendo de su variedad y dosis correspondientes estas plantas no consumimos en la dieta alimentaria y en su mayoría la calificamos como malas hierbas, otras son medicinales y la mayoría son resistentes a toda plaga y enfermedades. Las plantas biosidas y repelentes procesadas sirven de abono, de alimento radicular y foliar; son funguicidas (mata hongos) e insecticidas (mata insectos); tienen propiedades hormonales (excitadores) y otros reguladores de crecimiento, etc. (Higidio, 2006).

La utilización de las plantas con propiedades biosidas es un instrumento tecnológico importante dentro del marco del manejo ecológico de las plagas. La existencia de más de 300 especies de plantas inventariadas en el Perú entre

nativas e importadas son potencialmente útiles para ser usadas con fines de manejo de plagas (Arning.*et al.*, 2000).

En el cuadro 1, podemos observar el abanico de posibilidades para que esta alternativa pueda ser desarrollada. Hasta el momento los mayores trabajos han estado orientados a impulsar el rescate y la validación técnica de una serie de estas plantas. Existen plantas con propiedades biocidas inventariadas en el Perú, entre nativas e introducidas, potencialmente útiles para el manejo de poblaciones de insectos plaga (Arning.*et al.*, 2000).

Además en el cuadro 1, podemos observar las posibilidades de desarrollo que tiene esta alternativa. Hasta el momento los mayores trabajos han estado orientados a impulsar el rescate y validación técnica de una serie de ellas. Las experiencias realizadas con alguna de estas especies como barbasco (*Lonchocarpus nicou*), melia (*Melia azaderach*), cardo santo (*Argemone subfusiformis*), marco (*Ambrosia peruviana*), muña (*Minthostachis* spp.), eucalipto (*Eucalipthus* sp.), lantana (*Lantana cámara*); tabaco (*Micotoriana* sp.) y últimamente la introducción del árbol del Neem, han demostrado un nivel de eficiencia para regular una serie de plagas (Arning.*et al.*, 2000).

Cuadro 1. Potencial de plantas con propiedades biocidas reportadas en el Perú.

Propiedad de la planta	Número de especies Reportadas
Insecticidas	117
Insecticidas de contacto	12
Inhibidores de la alimentación	46
Reguladores de crecimiento de insectos	176
Repelentes	72
Atrayentes	10
Acaricidas	09
Garrapaticidas	13
Nematicidas	24
Moluscucidas	02
Raticidas	03
Fungicidas	38
Herbicidas	02
Fumigantes	01
TOTAL	350

Fuente: Arning *et al.*, 2000.

Existen otras plantas como la «cola de caballo» (*Equisetum* sp.) que en algunas zonas del Perú se utilizan para regular la presencia de Ranchara (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa, por su alto contenido de sílice que ayuda a neutralizar la multiplicación de las hifas del hongo. En esta línea se está trabajando también con la identificación de las plantas con propiedades nematicidas, como el uso de «crotolaria» (*Crotolaria* sp.). Los reportes sobre los efectos del «cardo santo» para regular la presencia de gusanos nematodos muestran otra de las bondades de esta planta. Por otro lado, la utilización de extractos de «tonuz» (*Pluchea chingoyo*), planta silvestre costeña en el control

de la polilla de la papa (*Phthorimaea operculella*) en almacén, ha demostrado su eficacia. También son muy importantes el uso de eucalipto (*Eucaliptus* sp.), muña (*Minthostachis* spp.) y lantana (*Lantana camara*), reportado por el Colegio de Ingenieros del Perú, para controlar las plagas en los almacenes de papa. Evidentemente existen muchas experiencias más y los pasos que actualmente se están dando son iniciales, seguramente en el camino iremos encontrando alternativas competitivas y de gran impacto para manejar ecológicamente nuestros sistemas de producción (Gomero, 2002).

2.1.5. Plantas nematocidas

Se han reportado numerosas especies de plantas, representando varias familias botánicas, que producen compuestos nematocidas. En la literatura se las denomina como plantas nematocidas o como plantas antagónicas a los nematodos. En agricultura es factible usar algunas de estas plantas antagónicas en el manejo de nematodos, tanto en rotaciones, como en cultivos en cobertera, en entre hileras, enmiendas, o abono verde en suelos cultivables (Halbrendt, 1996). Así, si el suelo se maneja mediante coberturas vegetales con propiedades nematocidas, además de controlar a los nematodos y otras plagas, se contribuye a evitar la erosión y compactación del suelo, a favorecer la diversidad biológica y controlar el crecimiento de malezas.

Las plantas antagónicas más estudiadas en los sistemas de cultivos son especies del género *Tagetes* y otras *Asteráceas*, e.g., especies de *Cosmos*, *Gaillardia*, *Zinnia* y *Brassicáceas* (Crucíferas) como el raps (*Brassica napus* L.), mostaza (*Sinapis alba* L.), rábano forrajero (*Raphanus sativus* L.) (Halbrendt

1996). Sin embargo, no hay reportes referentes al control de *Xiphinema index* mediante plantas antagónicas en estudios de campo, aunque si en estudios *in vitro*, donde extractos de numerosas plantas demostraron ser tóxicos a este nematodo.

2.1.5.1. Lechuga (*Lactuca sativa* L.)

2.1.5.1.1. Origen

Maroto (1989), menciona que Vavilov pensaba que el origen de la lechuga había que situarlo en el cercano oriente, hoy en día los botánicos no se ponen de acuerdo al respecto, por existir un segundo antecesor de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) que puede encontrarse en estado silvestre en áreas templadas.

Toovey (1983), indica que su origen no parece estar bien definido. Arguye que es originaria de Europa meridional, además sostiene la teoría de que su origen está en Asia y concretando más aún, en la India. Es una planta anual cuyo cultivo se remonta a una antigüedad de 2 500 años.

Dueñas (1978), manifiesta que el cultivo de la lechuga en el Perú fue introducido por lo españoles durante los primeros años de la conquista, ya que los pobladores del antiguo Perú no lo conocían posiblemente los conquistadores junto con Pizarro trajeron diversas variedades tanto de España como de otros países de Europa.

La planta de lechuga, conocida científicamente como *Lactuca sativa* tiene dentro de su composición una gran variedad de sustancias. La lechuga se caracteriza por tener dentro de sus componentes varios tipos de sales minerales, vitaminas y nutrientes. Debido a esto resulta ser un alimento con interesantes propiedades nutritivas.

2.1.5.1.2. Taxonomía y morfología

Maroto (1989), ubica su posición taxonómica de la lechuga de la siguiente manera:

Reyno	:	Vegetal
Division	:	Spermatophyta
Subdivision	:	Angiospermae
Clase	:	Dicotiledoneae
Subclase	:	Metaclamideas
Orden	:	Campanulales
Familia	:	Asteraceae
Subfamilia	:	Cichoroideae
Género	:	Lactuca
Especie	:	<i>Lactuca sativa</i>

2.1.5.1.3. Descripción botánica

Peña (1955), detalla que la lechuga es una planta anual, que presenta una raíz pivotante, su tallo contiene látex; al inicio es corto con una roseta de hojas grandes, en la fase reproductiva la planta desarrolla el tallo floral que llega a 1 metro o más de altura. Sus hojas son alternas y jugosas más o menos anchas

y alargadas en forma de espátula, oval o redonda, de color verde uniforme o moteado con matices amarillentos o rojo violáceo de superficie liza o rugosa, de bordes lobulados con margen entero espínuloso o aserrado. Las flores son perfectas y liguladas de pétalos amarillos o blanco amarillentos, con cinco dientes en el ápice, con cinco estambres adheridos a la corola cuyas anteras son sagitadas. El ovario está constituido por dos carpelos con un estilo simple y estigma lobulado. La inflorescencia es terminal las siguientes son axilares el fruto es un aquenio de color blanco amarillento, blanco castaño o casi negro.

Parodi (1971), indica que es una planta anual o bianual, de 0.50- 1m de altura, glabra. Hojas basales arrosadas, obovadas, dentado-crenadas, arrepolladas, las superiores sésiles abrasadoras. Capítulos pequeños, amarillentos reunidos en panojas o corimbos. Aquenios comprimidos, agudos de unos 2 mm de largo.

Gordon (1984), describe su morfología de la siguiente manera: la raíz no llega a sobrepasar los 25 cm. de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones; las hojas están colocadas en roseta, desplegadas al principio; en unos casos siguen así durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otros se acogollan más tarde. El borde de los limbos puede ser liso, ondulado o aserrado. El Tallo es cilíndrico y ramificado. Su Inflorescencia son capítulos florales amarillos dispuestos en racimos o corimbos. Las Semillas están provistas de un vilano plumoso.

Maroto (1989), desde su punto de vista agronómico, en el ciclo de cultivo de la mayor parte de las lechugas se distinguen la fase de formación de roseta, la

fase de la formación de cogollo y la fase de reproducción o emisión de un tallo floral. Aunque exista una gran variedad de lechugas que se adaptan a una gama amplísima de climas, en términos generales puede decirse que prefiere climas templados y húmedos. La temperatura óptima de germinación de la lechuga es de 25° C, en términos medio la temperatura óptima de crecimiento de las lechugas oscila entre los 15 y 20° C.

2.1.5.1.4. Composición química

Cuadro 2. Composición química de la lechuga por cada 100g de materia seca

Carbohidrato (g)	20.1
Proteínas(g)	8.4
Grasas(g)	1.3
Calcio(g)	0.4
Vitamina C (mg)	125.7
Hierro (mg)	7.5
Calorías (cal)	18

Fuente: Infoagro. s.f.

2.1.5.2. Tarwi (*Lupinus mutabilis* S.)

El tarwi es una leguminosa almidonosa, sus granos se utilizan en la alimentación humana, conocido como chocho en el norte de Perú y Ecuador, tarwi en el centro del Perú y tarwi en el sur del Perú y Bolivia (chuchusen Cochabamba, Bolivia). Esta especie es pariente de los lupinos o altramuces originarios del viejo mundo que aún hoy son cultivados en Europa mediterránea, especialmente en España e Italia, pero que tienen un número cromosómico diferente. El grano de tarwi es rico en proteínas y grasas, su

contenido proteico es incluso superior al de la soya y su contenido en grasas y demás componentes es similar (Morón, 2005).

El cultivo del tarwi en la sierra se localiza entre los 2800 a 3900 msnm. Correspondiendo aproximadamente el 20 % del área sembrada en la sierra norte entre los departamentos de Cajamarca, La libertad y Amazonas; el 41 % de la sierra central entre los departamentos de Ancash, Huánuco, y un mínimo porcentaje en Junín y el 39 % en la sierra sur, en los departamentos de Cusco, Puno y Apurímac (Palacios *et al.*, 2004).

2.1.5.2.1. Clasificación taxonómica

Reino : Vegetal.

División : Phanerogamae.

Subdivisión : Angiospermae.

Clase : Dicotyledoneae

Subclase : Methachlamydeae.

Orden : Leguminosales

Familia : Fabaceae.

Sub Familia : Papillioneoidea.

Tribu : Ginesteae

Género : Lupinus.

Especie : ***Lupinus mutabilis S.***

Wikipedia (2013).

2.1.5.2.2. Distribución geográfica

Su cultivo se mantiene desde Ecuador hasta Chile y el norte de Argentina bajo distintos sistemas de producción. Fue desplazada por la introducción de cultivos europeos, y a causa de dicha marginación, el tarwi ha sido una de las especies nativas más afectadas. Por su contenido de alcaloides en el grano y en el contenido de su biomasa, es que le da un fuerte sabor amargo, requiere un proceso que lo elimine; este requisito constituye una desventaja frente a otras leguminosas introducidas. Ello motivó la disminución de su área cultivada, a pesar de contar con ventajas agronómicas y nutricionales, como la fijación del nitrógeno atmosférico (más de 100 kg/ha), resistencia al frío y alto contenido de proteína y aceite. El ciclo vegetativo varía entre 150 y 360 días, dependiendo del genotipo y si se toma en cuenta la maduración del eje central solo, o la de las demás ramas. Las diferentes fases fenológicas son: emergencia, primera hoja verdadera, formación del racimo en el tallo central, floración, envainado, maduración de vainas y madurez fisiológica. Las semillas presentan latencia por inmadurez, ya que requieren una fase de postmaduración antes de germinar. En especies silvestres de *Lupinus* la dispersión es espontánea por la dehiscencia, pudiendo incluso alcanzar varios metros (Mori *et al.*, 2008).

2.1.5.2.3. Composición química del tarwi

Mori *et al.*, (2008), señala que el contenido de alcaloides en el tarwi varía de 0,02 a 4,45% y en el follaje de 0,1 a 0,4%; los alcaloides reportados son los quinolizidinicos tales como: lupina, esparteína, 13-hidroxilupanina, 4-hidroxilupanina, islupanina entre otros. Entre todos los indicados, los que se presentan en mayor cantidad son las lupininas (27-74%), estos alcaloides

quinolizidinicos amargos en la semilla del tarwi son sustancias antinutritivas que hasta el momento han sido mayor obstáculo para su utilización en la alimentación humana y animal, se reporta que las variedades mejoradas denominadas dulces tienen un contenido de alcaloides menor al 1,16%.

2.1.5.2.4. Distribución geográfica del tarwi silvestre

Proviene de los andes centrales, principalmente de Perú, Bolivia y Ecuador, aunque las relaciones comerciales que existen en esa zona han expandido su cultivo por todos los países andinos, en el Perú se cultiva principalmente en zonas de Cajamarca, Ancash, en el valle del Mantaro, Ayacucho, Cusco y en puno. Se conoce el contenido de proteínas y extractos de las especies cultivadas y silvestres variando de 35-45% en proteínas y de 35- 45 e 15-23% en aceites, siendo el mayor el contenido proteico en las silvestres. (Mujica *et al.* 2001).

2.1.5.2.5. Composición química

Cuadro 3. Composición química del tarwi silvestre por cada 100g

Proteína (g)	44.33
Grasa (g)	16.5
carbohidratos(g)	28.2
Fibra	7.1
Ceniza (%)	3.3
Humedad	7.7

Fuente: Collazos (1996).

2.2. MARCO CONCEPTUAL

Alelopatía

Es la ciencia que estudia las interrelaciones entre plantas, mediante las relaciones de regulación o repulsión entre ellas y otros organismos. Muchas plantas producen sustancias químicas que repelen a otras plantas, hongos, bacterias, nematodos, virus e insectos, por lo que representan un control natural muy efectivo que en muchos casos evita la utilización de insecticidas, herbicidas y funguicidas.

Aceite vegetal

Es un compuesto orgánico obtenido a partir de semillas u otras partes de las plantas en cuyos tejidos se acumula como fuente de energía. Como todas las grasas está constituido por glicerina y tres ácidos grasos

Bioplaguicidas

Son productos a base de extractos de sustancias naturales con propiedades de control de la población y/o reguladoras sobre insectos y microorganismos consideradas plagas para los cultivos. Los bioplaguicidas presentan acción preventiva, repelente, eliminación o reducción del agente causal de daños al cultivo.

Ciclo biológico

Sucesión de formas que se producen en el crecimiento y desarrollo del microorganismo.

Control

El acto de combatir cualquier peste hasta un punto en que los daños que causan dejan de tener importancia económica. También en el caso en que los daños evitados compensan por los gastos en se ha incurrido.

Dosis

Cantidad de pesticida que resulta eficaz contra determinadas fitopestes. Se expresa ordinariamente como cantidad por hectárea.

Extracto vegetal

Es un preparado que permite extraer de las plantas determinadas sustancias útiles. Estas sustancias pueden tener diferentes efectos:

- Fortificantes: empleados para tener cultivos resistentes.
- Control de enfermedades: permiten prevenir los hongos que atacan a los cultivos.
- Control de plagas: usados para el control de insectos plaga.

Los extractos se pueden hacer a partir de varias plantas, con fermentaciones, decocciones, maceraciones e infusiones.

Ectoparásito

Parásito que se nutre sobre su hospedero desde el exterior.

Endoparásito

Organismo parásito que vive dentro del huésped.

Estilete

Estructura en forma de lanza hueca sujeta con fuertes músculos que es retractable y que caracteriza a los nematodos parásitos de plantas. Funciona como boca y a la vez como órgano de penetración, succión para alimentarse del contenido de las células. También despachan sustancias químicas como enzimas que disuelven paredes celulares o estimulan la formación de células gigantes.

Fitopatógeno

Término que se aplica a los microorganismos que producen enfermedades en las plantas.

Hospedante

Planta que proporciona un medio adecuado para el desarrollo de un patógeno.

Hospedero

Planta que es invadida por un parásito y de la cual éste obtiene sus nutrientes.
Cultivo que multiplica al nematodo.

In vitro

In vitro (latín: *dentro del vidrio*) se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación *in vitro* es un ejemplo ampliamente conocido. Se puede decir también que es un conjunto de fenómenos observados en el laboratorio a partir de productos biológicos vivos o

es método para mantener en vida diversos organismos vivos (células, espermatozoides, óvulos, virus, etc.) en condiciones diferentes a las naturales, con técnicas de laboratorio.

Manejo Integrado

Se consideran las piezas fundamentales sobre las que deben marchar el manejo integrado de nematodos el uso de cultivares resistentes, cultivares susceptibles y tolerantes, la rotación de cultivos, complementando con otras alternativas de manejo como la remoción del suelo, sanidad de los tubérculos y semillas, la eliminación de plantas voluntarias, la aplicación de enmiendas orgánicas y productos químicos, no hospedantes contribuirán a mejorar los rendimientos.

Nematodo fitoparásito

Son aquellos nematodos equipados con una lanza o aguja filuda y hueca propulsada por un fuerte músculo denominado estilete, que tiene la habilidad de punzar y succionar los líquidos de las células para alimentarse.

Nódulo

Concreción de poco volumen, síntoma hipertrófico.

Síntoma

Reacciones o alteraciones internas y externas que sufre una planta como resultado de su enfermedad.

2.3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

2.3.1. Hipótesis general

El uso de extractos de lechuga (*Lactuca sativa* L.), Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y Tarwi silvestre (*Lupinus chlorilepis*) influye sobre el control *in vitro* del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.)

2.3.2. Hipótesis específica

- El efecto de la aplicación *in vitro* de los extractos de tres plantas con potencial nematocida a diferentes concentraciones sobre juveniles del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) es diferente.
- El tiempo de mortalidad óptimo de juveniles del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) a la aplicación de los extractos vegetales *in vitro* son diferentes.

CAPITULO III

METODO DE INVESTIGACIÓN

2.1. MATERIAL EXPERIMENTAL

- Plantas con propiedades nematocidas
 - Lechuga (*Lactuca sativa* L.)
 - Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet)
 - Tarwi silvestre (*Lupinus chlorilepis*)
- Juveniles de *Nacobbus* spp.

2.2. METODOLOGÍA

Para el desarrollo del presente trabajo se consideraron dos fases las mismas que se detallan a continuación:

2.2.1. Fase de campo

En primer lugar se procedió a recolectar las plantas con propiedades nematocidas en estudio (lechuga, tarwi y tarwi silvestre) pasando por un proceso de selección, en el que se eliminaron los tejidos dañados ya sea por factores ambientales y/o fitopatológicos procurando que todas las muestras sean de un misma fase fenológica (floración) luego estas plantas fueron llevadas al laboratorio de Fitopatología para la obtención de los extractos de plantas, en segundo lugar se procedió a recolectar muestras de suelo infestado con *Nacobbus* spp. del distrito de Acora localidad Ccopamaya, de donde se obtuvieron los juveniles de *Nacobbus* spp. empleando el método del embudo

de Baermann citado por (Cepeda, 1995), para ser sometidos a la aplicación de los extractos de plantas en sus correspondientes concentraciones.

2.2.2. Fase de laboratorio

En esta fase se efectuaron las siguientes actividades:

2.2.2.1. Separación de los extractos de las plantas con propiedades nematocidas

El cual se realizó aplicando el método químico denominado “Arrastre por vapor” siguiendo el procedimiento propuesto por (Orgánica, 2011). Teniendo en consideración que la destilación por arrastre con vapor se emplea con frecuencia para separar extractos de plantas de tejidos vegetales. Procedimiento que se detalla a continuación:

Procedimiento:



Figura 1. Montar el equipo tal como se muestra en la siguiente fotografía

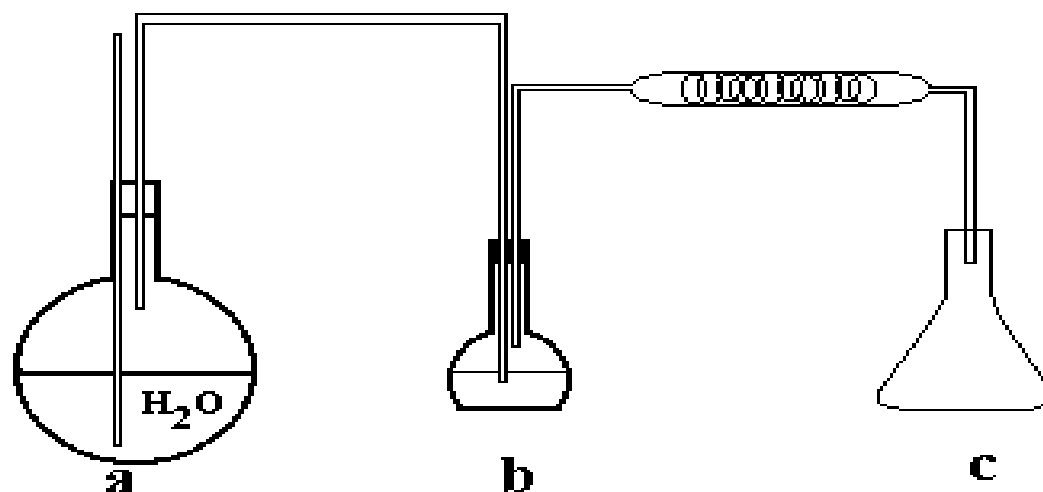


Figura 2. Destilación de arrastre por vapor

- Colocar aproximadamente 150 ml de agua destilada en el matraz (a).
- En el matraz (b) colocar hojas de la planta en estudio cortado en trozos pequeños en una cantidad aproximada de 40 g.
- Con el mechero, caliente hasta ebullición el matraz (a) a fin de generar el vapor de agua que pasará al matraz (b), extrayéndose de esta manera el extracto de planta de las muestras, que inmediatamente es arrastrado por el vapor de agua en un proceso de codestilación al matraz (c).
- Suspenda el calentamiento cuando el volumen del destilado sea de 100 ml aproximadamente.

El extracto de planta obtenido será luego envasado en un frasco ámbar y colocado en refrigeración (8°C) hasta el momento de su uso.

El tiempo empleado para la obtención del extracto de planta fue de aproximadamente una hora.

2.2.2.2. Obtención de los juveniles de *Nacobbus* spp.

Se realizó empleando el método modificado de Baermann (1917), método que se detalla a continuación:

Es una técnica sencilla, con materiales al alcance de cualquier investigador y que da resultados aceptables. El material consiste en un embudo de 10 cm. de boca al que se adosa un tubo de goma con una llave de cierre. El embudo se coloca en un soporte universal y dentro de él se ubica una pequeña rejilla para soportar la muestra. Esta se obtiene de suelo, raíces, hojas o tallos en estudio, bien lavados y cortados en trocitos de 1 cm. aproximadamente. Una cantidad determinada de 50 g. se coloca dentro de una bolsita de muselina o tejido semejante y ésta dentro del embudo. Se agrega agua por las paredes del mismo hasta que la muestra quede totalmente cubierta. En vez de la bolsita de tela puede utilizarse también un vaso de precipitados de 100 ml, colocar la muestra en su interior y tapar la boca con una tela o filtro de algodón que se sujeta con una bandita de goma. Luego se coloca el vaso invertido en el embudo y se procede a agregar agua.

Una vez en contacto la muestra con el agua debe evitar moverse el aparato y luego de 24 a 48 horas se recoge el agua por el tubo de goma que sale del embudo. Se deja precipitar y se concentra o se diluye la suspensión obtenida hasta llevar a un volumen de 100 ml. se homogeniza bien y se toman dos partes alícuotas de 10 cc cada una; se cuentan separadamente, se promedian y multiplicando por diez el resultado obtenido se tienen los nematodos que hay

en 50 gramos (la muestra original) de suelo, raíces, hojas o tallos. (Fraga, 1984).

2.2.2.3. Aplicación de los extractos de plantas

Para la aplicación de los extractos de planta en sus concentraciones propuestas inicialmente se efectuaron los cálculos correspondientes, luego se prepararon la solución correspondiente (extracto de plantas + agua destilada). Obtenida la solución luego con ayuda de micropipetas se aplicaron sobre los 10 juveniles de *Nacobbus* spp., por repetición juveniles que estuvieron sobre una placa tipo siracusa, en las dosis y tiempos de exposición propuestos en la presente investigación, procediendo luego a tomar el tiempo y contabilizando el número de juveniles muertos a los 15 y 30 minutos.

2.3. ANALISIS ESTADISTICO

2.3.1. Variables en estudio

2.3.1.1. Variable independiente

Plantas con propiedades nematocidas a las concentraciones del 15% y 40%.

Cuadro 4. Plantas con propiedades nematocidas

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTIFICO	CONCENTRACION	
		BAJA	ALTA
Lechuga	<i>Lactuca sativa</i> L.	15%	40 %
Tarwi	<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet	15%	40 %
Tarwi silvestre	<i>Lupinus chlorilepis</i>	15%	40 %

2.3.1.2. Variable dependiente

Número de nematodos (juveniles) muertos a los 15 y 30 minutos.

2.3.2. Tratamientos**Cuadro 5.** Tratamientos, concentración y dosis en estudio.

TRATAMIENTOS	EXTRACTOS	DÓSIS
		(ml de extracto de plantas/ml de agua destilada)
T1	Lechuga al 15% (p/v)	15ml/85ml
T2	Lechuga al 40% (p/v)	40ml/60ml
T3	Tarwi al 15 % (p/v)	15ml/85ml
T4	Tarwi al 40 % (p/v)	40ml/60ml
T5	Tarwi silvestre al 15 % (p/v)	15ml/85ml
T6	Tarwi silvestre al 40 % (p/v)	40ml/60ml

p/v= Procentaje en volumen

Cuadro 6. Tratamientos, repeticiones y unidades experimentales sin aleatorizar.

Repetición	TRATAMIENTOS					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
R1	T1R1	T2R1	T3R1	T4R1	T5R1	T6R1
R2	T1R2	T2R2	T3R2	T4R2	T5R2	T6R2
R3	T1R3	T2R3	T3R3	T4R3	T5R3	T6R3

Cuadro 7. Operacionalización de variables

Variable Independiente	Sub variables	Indicador	Escala
Plantas con propiedades nematocidas a las concentraciones del 15% y 40%	Actividad nematocida contra <i>Nacobbus</i> spp.	Mortalidad	Mortalidad de juveniles a los 15 y 30 minutos
Variable Dependiente	Sub variables	Indicador	Escala
Número de nematodos (juveniles) muertos a los 15 y 30 minutos	Frecuencia de tiempo (cada 15 minutos)	Nº vivos y muertos	Es vigesimal el conteo es de 10 en 10

2.3.3. Diseño Experimental

Se utilizó el Diseño Experimental Completamente al Azar (D.C.A), con un arreglo factorial de tres plantas con propiedades nematocidas por dos dosis de aplicación, con un total de seis tratamientos, con tres repeticiones, haciendo un total de 18 unidades experimentales. Antes de realizar los análisis de varianza, los datos originales fueron transformados a la función de $\sqrt{x+1}$, para homogenizar las varianzas debido a que estos constituyen valores de contadas (Calzada, 1996).

El modelo estadístico lineal aditivo en el arreglo factorial de dos factores conducido bajo un diseño completo al azar, es el siguiente:

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i=1,2,\dots,a; j=1,2,\dots,b; k=1,2,\dots,r$$

Donde:

X_{ijk} = Es la variable dependiente de la k-ésima observación bajo el j-ésimo nivel de factor B (dosis de aplicación), sujeto al i-ésimo nivel de tratamiento A (Plantas nematocidas).

μ = Constante, media de la población a la cual pertenecen las observaciones.

α_i = Efecto del del i-ésimo nivel del factor A (plantas nematocidas).

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B (dosis de aplicación).

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A (Plantas nematocidas), en el j-ésimo nivel del factor B (dosis de aplicación).

ε_{ijk} = Efecto del error experimental.

Para el análisis de los datos de conteo de nematodos muertos (juveniles) por aplicación de plantas con propiedades nematocidas se propone en el siguiente cuadro 8, en donde se muestra el análisis de varianza para la evaluación de la efectividad de plantas con propiedades nematocidas a diferentes dosis.

Cuadro 8. Análisis de varianza para los factores en estudio

F. de V.	G. L.	
A (Plantas con propiedades nematocidas)	a-1	3 - 1 = 2
B (Dosis de aplicación)	b-1	2 - 1 = 1
A x B	(a-1)(b-1)	2 x 1 = 2
Error experimental	ab(r-1)	3 x 2 (3-1)=12
TOTAL	abr-1	3 x 2 x3 -1=17

CAPITULO IV

CARACTERIZACIÓN DEL AREA DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. Ubicado en el departamento, provincia y distrito de Puno, ubicado sobre los 3 800 msnm, situado entre las coordenadas geográficas 15°50'15'' latitud sur y 70°01'18'' longitud oeste del meridiano de Greenwich.

Siendo este un trabajo de investigación aplicativo, la clase de investigación es experimental el mismo que dará lugar a nuevos conocimientos científicos para lograr mayor comprensión de los problemas, y una técnica inmediata.



Figura 3. Ubicación donde se llevó a cabo la investigación.

CAPITULO V

EXPOSICIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

5.1. MORTALIDAD DE JUVENILES DEL FALSO NEMATODO DE LA RAÍZ (*Nacobbus* spp.) CON LA APLICACIÓN DE DOS DOSIS DE TRES EXTRACTOS DE PLANTAS CON POTENCIAL NEMATICIDA A LOS 15 MINUTOS

El análisis de varianza para la mortalidad de juveniles (*Nacobbus* spp.) a los 15 minutos de su aplicación con extractos de plantas de Lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%, con datos transformados a $\sqrt{(X+1)}$, (cuadro 9) muestra una diferencia estadística altamente significativa para plantas nematicidas (A), lo cual nos indica que entre ellas hay diferencias en los efectos de mortalidad debido a sus propiedades nematicidas de estas. Para el caso de las dosis (B) existe también una diferencia altamente significativa, lo cual indica que entre las dosis hay diferencias en los efectos de mortalidad debido a que cada dosis propuesta muestra un efecto diferente. Respecto a la interacción A x B, hubo una diferencia también altamente significativa, lo cual nos indica que tanto el factor de plantas nematicidas (A) así como el factor dosis (B) actúan de forma dependiente uno del otro sobre la mortalidad de juveniles de *Nacobbus* spp., estos resultados se deben probablemente debido a su composición y sus propiedades de estas plantas. Por otro lado, el CV=5.128% nos indica la confiabilidad de los datos logrados en el presente trabajo, ya que Vásquez (1990), manifiesta que para experimentos en laboratorio el coeficiente de variación debería ser menor a 10%.

Cuadro 9. Análisis de varianza para la mortalidad de juveniles (*Nacobbus spp.*) a los 15 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F Calculada	F Tabular		Sig.
					0.05	0.01	
Plantas nematocidas (A)	2	11.3192	5.6596	408.62	3.89	6.93	**
Dosis (B)	1	0.3781	0.3781	27.30	4.75	9.33	**
A x B	2	2.3442	1.1721	84.62	3.89	6.93	**
Error	12	0.1662	0.0139				
Total correcto	17	14.2076					

CV= 5.12%

Promedio general=2.30

En el cuadro 9, se observa la alta significancia estadística de todos los factores en estudio al 0.01 de probabilidad, por lo que se procedió a realizar la prueba de medias de Duncan.

Realizada la prueba de significancia de Duncan a un nivel del 0.01 de probabilidad (cuadro 10) para detectar las diferencias entre tratamientos nos muestra que hay diferencia significativa entre las plantas con propiedades nematocidas, donde el tarwi silvestre muestra una mortalidad promedio de 9.2 Juveniles, el cual es estadísticamente superior a las demás plantas nematocidas, seguido del resto de los tratamientos, probablemente estas diferencias se deban por la importancia que representan los alcaloides quinolizidínicos (AQ) en las especies del género *Lupinus* (Fabaceae) como defensa química contra patógenos (hongos, bacterias, nematodos, virus)

(Montes y Belmont, 1996). Así como también por lo señalado por (Mori *et al.*, 2008), quienes indican que el contenido de alcaloides en el tarwi varia de 0,02 a 4,45% y en el follaje de 0,1 a 0,4%; los alcaloides reportados son los Quinolizidinicos tales como: lupina, esparteína, 13-hidroxilupanina, 4-hidroxilupanina, islupanina entre otros. Entre todos los indicados, los que se presentan en mayor cantidad son las lupininas (27-74%), estos alcaloides quinolizidinicos son amargos y se hallan en la semilla del tarwi, se reportó también que las variedades mejoradas denominadas dulces tienen un contenido de alcaloides menor al 1,16%. En último lugar se la lechuga con 0.7 en promedio de juveniles muertos.

Cuadro 10. Prueba de Duncan para el factor plantas nematicidas (A) a los 15 minutos de su aplicación con extracto de planta de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.

Orden de Mérito	Plantas nematicidas	Mortalidad de Juveniles (datos reales)	Mortalidad de Juveniles (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$)	Sig. 0.01
1	Tarwi silvestre	9.2	3.19	a
2	Tarwi	5.3	2.44	b
3	Lechuga	0.7	1.26	c

En el cuadro 11, se observa que la dosis al 40% ocasiono mayor mortalidad sobre los juveniles de *Nacobbus* spp. causando 6.0 muertos en promedio, el cual es estadísticamente superior a la dosis de 15%, ubicándose al final con menor mortalidad, ocasionando 4.1 muertos en promedio.

Cuadro 11. Prueba de Duncan para el factor dosis (B) a los 15 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%.

Orden de Mérito	Dosis	Mortalidad de Juveniles (datos reales)	Mortalidad de Juveniles (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$)	Sig. 0.01
1	40%	6.0	2.44	a
2	15%	4.1	2.15	b

En el cuadro 12, se observa que la combinación de Tarwi silvestre al 40% causó la mayor mortalidad sobre los juveniles de *Nacobbus* spp. en un número de 9.7 muertos en promedio, probablemente sea debido a que en el tarwi silvestre se tenga mayor contenido de alcaloides, sumándose a este se le encuentran las combinaciones de tarwi silvestre al 15% y tarwi al 40% con 8.7 y 8.3 muertos en promedio respectivamente, los cuales son estadísticamente superiores a las demás combinaciones en estudio;

También se observa que, al final que, las combinaciones de lechuga al 15 % y 40%, los cuales causaron una mortalidad de 1.3 y 0.0 juveniles de *Nacobbus* spp. en promedio.

Las diferencias entre tratamientos en estudio, se pueden apreciar en la figura 4.

Cuadro 12. Prueba de Duncan para la interacción de plantas nematicidas (A) x dosis (B) a los 15 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%

Orden de Mérito	Dosis	Mortalidad de Juveniles (datos reales)	Mortalidad de Juveniles (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$)	Sig. 0.01
1	Tarwi Silvestre x 40%	9.7	3.27	a
2	Tarwi Silvestre x 15%	8.7	3.11	a
3	Tarwi x 40%	8.3	3.05	a
4	Tarwi x 15%	2.3	1.82	b
5	Lechuga x 15%	1.3	1.52	c
6	Lechuga x 40%	0.0	1.00	d

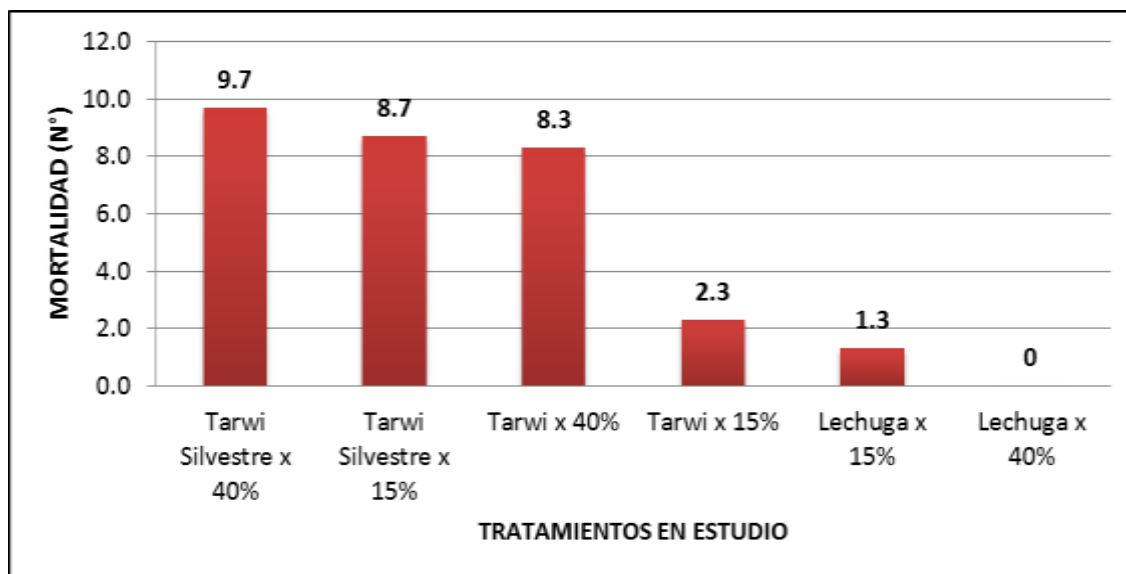


Figura 4. Mortalidad de juveniles con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 15 minutos de aplicación.

5.2. MORTALIDAD DE JUVENILES DEL FALSO NEMATODO DE LA RAÍZ (*Nacobbus* spp.) CON LA APLICACIÓN DE DOS DOSIS DE TRES EXTRACTOS DE PLANTAS CON POTENCIAL NEMATICIDA A LOS 30 MINUTOS

El análisis de varianza para la mortalidad de juveniles (*Nacobbus* spp.) a los 30 minutos de su aplicación con extracto de planta de Lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%, con datos transformados a $\sqrt{(X+1)}$, (cuadro 13) muestra una diferencia estadística altamente significativa para plantas nematocidas (A), lo cual nos indica que entre ellas hay diferencias en los efectos de mortalidad debido a sus propiedades nematocidas de estas. Para el caso de las dosis (B) existe también una diferencia altamente significativa, lo cual indica que entre las dosis hay diferencias en los efectos de mortalidad debido a que cada dosis propuesta muestra un efecto diferente. Respecto a la interacción A x B, hubo una diferencia también altamente significativa, lo cual nos indica que tanto el factor de plantas nematocidas (A) así como el factor dosis (B) actúan de forma dependiente uno del otro sobre la mortalidad de juveniles de *Nacobbus* spp., estos resultados se deben probablemente debido a su composición y sus propiedades de estas plantas. Por otro lado el CV=6.85% nos indica la confiabilidad de los datos logrados en el presente trabajo, ya que Vásquez (1990), manifiesta que para experimentos en laboratorio el coeficiente de variación debería ser menor a 10%.

Cuadro 13. Análisis de varianza para la mortalidad de juveniles (*Nacobbus spp.*) a los 30 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F Calculada	F Tabular		Sig.
					0.05	0.01	
Plantas nematocidas (A)	2	13.3288	6.6644	242.20	3.89	6.93	**
Dosis (B)	1	0.2708	0.2708	9.84	4.75	9.33	**
A x B	2	2.5018	1.2509	45.46	3.89	6.93	**
Error	12	0.3302	0.0275				
Total correcto	17	16.4316					

CV= 6.85%

Promedio general=2.42

En el cuadro 13, se observa la alta significancia estadística de todos los factores en estudio al 0.01 de probabilidad, se realizó la prueba de medias de Duncan.

Realizada la prueba de significancia de Duncan a un nivel del 0.01 de probabilidad (cuadro 14) para detectar las diferencias entre tratamientos nos muestra que hay diferencia significativa entre las plantas con propiedades nematocidas, donde el tarwi silvestre muestra una mortalidad promedio de 10.0 Juveniles, el cual es estadísticamente superior a las demás plantas nematocidas, seguido del resto de los tratamientos, probablemente estas diferencias se deban en el caso del tarwi silvestre tenga buen contenido de alcaloides que causaron la mayor mortalidad de juveniles. En último lugar se la lechuga con 0.7 en promedio de juveniles muertos en promedio.

Cuadro 14. Prueba de Duncan para el factor plantas nematicidas (A) a los 30 minutos de su aplicación con extracto de planta de la lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%

Orden de Mérito	Plantas nematicidas	Mortalidad de Juveniles (datos reales)	Mortalidad de Juveniles (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$)	Sig. 0.01
1	Tarwi silvestre	10.0	3.32	a
2	Tarwi	6.7	2.69	b
3	Lechuga	0.7	1.26	c

En el cuadro 15, se observa que la dosis al 15% ocasiono mayor mortalidad sobre los juveniles de *Nacobbus* spp. causando 6.7 muertos en promedio, el cual es estadísticamente superior a la dosis de 40%, ubicándose al final con menor mortalidad, ocasionando 4.9 muertos en promedio.

Cuadro 15. Prueba de Duncan para el factor dosis (B) a los 30 minutos de su aplicación con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%

Orden de Mérito	Dosis	Mortalidad de Juveniles (datos reales)	Mortalidad de Juveniles (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$)	Sig. 0.01
1	15%	6.7	2.54	a
2	40%	4.9	2.30	b

En el cuadro 16, se observa que la combinación de Tarwi silvestre al 40% causó la mayor mortalidad sobre los juveniles de *Nacobbus* spp. en un número de 10.0 muertos en promedio, a este se le agrega las combinaciones de tarwi silvestre al 15% y tarwi al 40% con 10.0 muertos en promedio respectivamente, los cuales son estadísticamente superiores a las demás combinaciones en estudio; ubicándose al final las combinaciones de lechuga al 15 % y 40%, los cuales causaron una mortalidad de 1.3 y 0.0 juveniles de *Nacobbus* spp. en promedio. Las diferencias entre tratamientos en estudio, se pueden apreciar en la figura 5.

Cuadro 16. Prueba de Duncan para la interacción de plantas nematicidas (A) x dosis (B) a los 30 minutos de su aplicación con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40%

Orden de Mérito	Dosis	Mortalidad de Juveniles (datos reales)	Mortalidad de Juveniles (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$)	Sig. 0.01
1	Tarwi Silvestre x 40%	10.0	3.32	a
2	Tarwi Silvestre x 15%	10.0	3.32	a
3	Tarwi x 40%	10.0	3.32	a
4	Tarwi x 15%	3.3	2.06	b
5	Lechuga x 15%	1.3	1.52	c
6	Lechuga x 40%	0.0	1.00	d

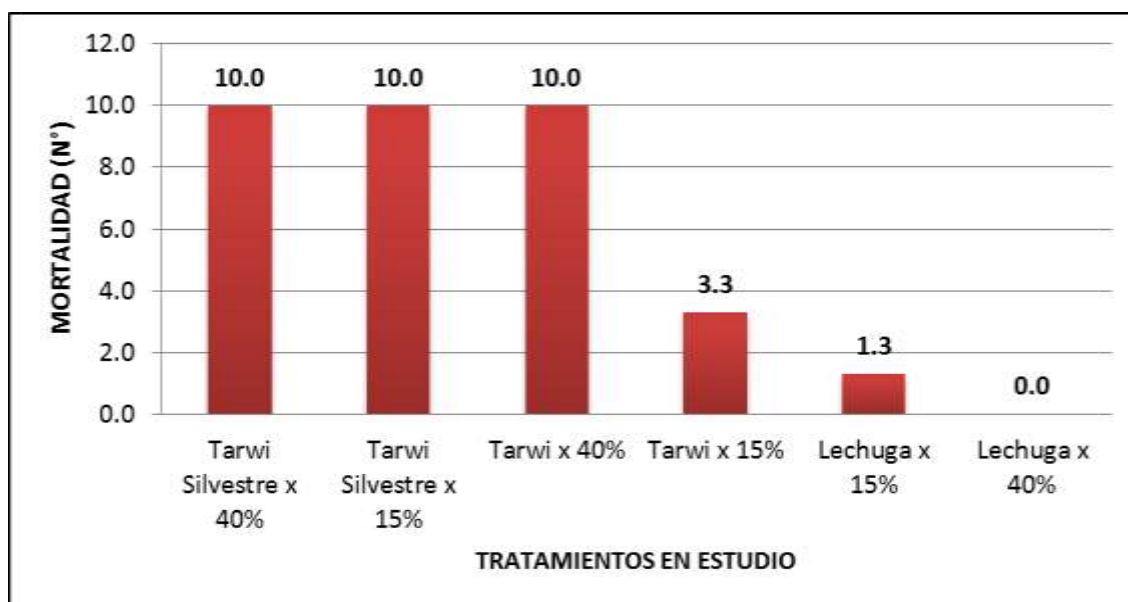


Figura 5. Mortalidad de juveniles con extracto de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 30 minutos de aplicación.

CONCLUSIONES

El extracto vegetal que tuvo mejor resultado en la mortalidad de nematodos juveniles de *Naccobus* spp. fue el extracto de tarwi silvestre al 40% en las evaluaciones realizadas, a los 15 minutos (96.7% de mortalidad) y 30 minutos (100.0% de mortalidad).

El mejor tiempo en mortalidad de nematodos juveniles de *Naccobus* spp. fue a los 30 minutos con un número promedio de mortalidad de 10 con la aplicación de dosis de 40% de extracto de tarwi silvestre In Vitro.

RECOMENDACIONES

Incentivar y difundir la aplicación de extracto de tarwi silvestre en un 40% para el control de *Naccobus* spp. Realizando similares trabajos experimentales cuyo objetivo principal sea obtener mayor mortalidad de *Naccobus* Spp.

Realizar investigaciones con alternativas de control a diferentes concentraciones de dosis del extracto de tarwi silvestre para dar uso a plantas nematocidas para el control de *Naccobus* spp.

Continuar con investigaciones, compartiendo conocimiento cara a cara con el agricultor mediante charlas y realizar demostraciones, para reducir la población de *Naccobus* en menor tiempo determinado con plantas de potencial nematocida y así obtener resultados satisfactorios para el agricultor.

BIBLIOGRAFÍA

Arning, I y Velásquez, H. (2000). *Plantas con potencial biocida*. Red de acción en alternativas al uso de agroquímicos. Editorial Gráfica Sttefany S.R. Ltda. Lima, Perú. 35p.

Agrios, G. (1997). *Fitopatología*. Editorial Limusa. México. 756 p.

Astorga, L. V. (1974). *Mapeo del Falso Nematodo del Nudo (Nacobbus spp) y correlación con el pH del suelo de la provincia de Chucuito*. Tesis Ing. Agr. UNTA-Puno. 45p.

Balderrama, F. y Franco, J. (1994). *Evaluación de Cultivos Andinos al Ataque de Nacobbus aberrans*. VIII Congreso Internacional de Sistemas Agropecuarios Andinos. Chile. 98p.

Chitwood, D.J. (1992). *Nematicidal compounds from plants*. p. 185-204. In H.N.Nigg and D. Seigler (eds.). *Phytochemical resources for medicine and agriculture*. Plenum Press, New York, USA. 20p.

Canto, S. M. (1999). *Nematodos que atacan la Papa*. Universidad Nacional Agraria-La Molina.Lima, Perú. 110p.

Collazos, C. J. (1996). *Tablas peruanas de Composición Química de los Alimentos*. Séptima Edición, Lima.

Duke, S. O.; Cantrell, C. L.; Meepagala, K. M.; Wedge, D. E.; Tabanca, N.; & Schrader, K.K. (2010). *Natural toxins for use in pest management*. *Toxins*, 2, 1943-1962.

Dueñas, A. (1978). *La huerta popular*. Ed. FAO. Santiago de Chile. Chile. pp 12-56. e.campo.com. 2005. Malargüe, Área de Semillero de Papa. Disponible en:

<http://www.e-campo.com/sections/news/display.php/uuid.18DA7896-373E-11D4-A5390006292E2740/>

Franco, J.; González, A. y Matos, A. (1992). *Manejo Integrado del nematodo quiste de la papa*. CIP. Lima, Perú.30p.

Fraga, P. (1984). *Introducción a la Nematología Agrícola*. Edición Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires, Argentina. 60p.

Franco, J.; Montecinos, R.; Ortuño, N. (1994). *Nacobbus aberrans*. Nematodo Fitoparásito del Cultivo de Papa en Bolivia; Desarrollo de una Estrategia para su Manejo Integrado. *Revista de Agricultura* nº 12. Cochabamba, Bolivia. 40p.

Garmendia, A. (1994). *Fitopatología General*. Ed. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Perú. 130p.

Gómez, L.; Rodríguez, M. y Enrique, R. (2009). *Efectividad de Lactuca sativa usada como planta trampa de Meloidogyne spp. en la producción protegida de*

hortalizas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). San José de las Lajas, La Habana. 12 p.

Hasan, A. (1992). *Allelopathy in the management of root-knot nematodes*. p. 413-441. In S.J.H Rizvi and V. Rizvi (eds.). *Allelopathy: basic and applied aspects*. Chapman & Hall, London, UK.30p.

Halbrendt, J. M. (1996). *Allelopathy in the management of plant-parasitic nematodes*. *Journal of Nematology*. 10p.

Higidio, E. A. (2006). *Plantas biocidas y repelentes*. Consejo de Gestión de la Calidad del valle de Chancay y Huaraz. Disponible en:

http://sia.huaral.org/sia_uploads/10ecacb8e1dfc97d8af3e4e5ee4202d9/pb.doc

Infoagro. s. f. *El cultivo de la Lechuga*. (En línea). Consultado 1 abr. 2013. Disponible en <http://www.infoagro.com/hortalizas/lechuga.htm>

Inserra, R. N.; Vovlas, N.; Griffin, G. D.; and Anderson, J. L. (1983). *Development of the root-knot nematode *Nacobbus aberrans*, on sugarbeet*. *j. Nematology*. 02.21p.

Karssen, G; Moens, M. *Root-knot nematodes*. (2006). In: Perry R, Moens M, editors. *Plant nematology*. CABI, UK. pp: 59-90.

Ministerio de Agricultura. (1972). *Enfermedades de la Papa en el Perú*. Estación Experimental la Molina. Lima, Perú. 42p.

Maroto, J. V. (1989). *Horticultura herbácea especial*. 3° ed. Madrid, España. Ediciones Mundi Prensa. pp: 200 - 217.

Morón, C. (2005). *Importancia de los cultivos andinos en la seguridad alimentaria y nutrición*. Cultivos Andinos-FAO.

Mori, C. L.; Paz, R. y otros. (2008). *Eliminación de alcaloides en el tarwi (Lupinus mutabilis) mediante lavado con agua a diferentes pH*. Universidad Católica de Santa María. Arequipa- Perú.

Montes, L. y Belmont, R. (1996). *Productos naturales de origen vegetal para el combate de fitopatógenos*. Revista Mexicana de Fitopatología. 14:9-14.

Mujica, A.; Aguilar J. y S. Jacobsen. (2001). *Resúmenes de investigaciones en Tarwi (Lupinus mutabilis Sweet) 1976-2001*. UNA, Puno. 87p.

Orgánica. (2011). *Destilación por arrastre con vapor y otros métodos de aislamiento*. Consultado el 3 de junio del 2011: <http://organica1.org/1345/1345pdf10.pdf>

PROINPA. (1993). *Diagnóstico de los Principales Nematodos del Cultivo de la Papa*. Programa de Investigación de la Papa. Cochabamba, Bolivia. 38p.

PROINPA. (1991). *Informe anual (1990-1991)*. Programa de Investigación de la Papa. Cochabamba, Bolivia. 60p.

Palacios, A.; Demetrio, M.; Espinoza, L.; Herrera, M. y Huamancaja, C. (2004). *Obtención de alcohol a partir de la malta de Lupinus mutabilis (tarwi)*. Universidad Nacional del Centro del Perú. Junín, Perú.

Parodi, L. (1971). *La huerta Hidropónica popular*. Ed. FAO. Santiago de Chile, Chile. pp. 12-56.

Peña, R. (1955). *Horticultura y Fruticultura*. 3 ed. Edit. Artes gráficas. Barcelona, España. pp. 65-89.

Quimi, V. H. (1981). *Ciclo Biológico y comportamiento de Nacobbus aberrans*. Nematrópica. N° 11. 27p.

Sociedad Española de Fitopatología. (2000). *Patología Vegetal*. 2ª Edic. Edit. Phytoma-España. 140p.

Toovey, W. (1983). *Cultivo de hortalizas*. Dpto. de Horticultura. La Molina. Lima, Perú. p.37-42.

Untiveros, D. O. (1986). *Principales Plagas y Enfermedades de la Papa en el Perú*. Manual Técnico. INIPA. Lima, Perú. 98p.

Varas, N.; Espino, R.; Guillermo, J.; Quispe, L. y Machahuay, L. (2008). *Optimización de dosis de extractos de Bidens pilosa L. para el control de*

Meloidogyne incógnita Kofoid & Chitwood 1949 *in Vitro*. Universidad Nacional San Luís Gonzaga de Ica. Facultad de Agronomía. Ica, Perú. 60p.

Vásquez, V. (1990). *Experimentación agrícola*. Diseños estadísticos para la investigación científica y tecnológica. Editores Amaru. 1ra ed. Lima, Perú. 278 p.

Wania, S. Neves; Leandro; G. Freitas; Marcelo, M. Coutinho; Douglas, F. Parrera; Silamar Ferraz y Maurício, D. Costa. (2010). *Biofumigação do Solo com Espécies de Brássicas para o Controle de Meloidogyne javanica*. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Brasil. 10 p.

Wikipedia, (2013). *Lupinus mutabilis*. Disponible en:
http://es.wikipedia.org/wiki/Lupinus_mutabilis

Yépez, G. (1970). *Nematología*. Facultad de Agronomía. Caracas, Venezuela. 54p.

ANEXOS

Cuadro 17. Evaluación de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 15 minutos de aplicación (datos reales).

Rep.	LECHUGA		TARWI		TARWI SILVESTRE	
	15 %	40 %	15 %	40 %	15 %	40 %
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	2	0	2	9	8	10
2	1	0	2	8	9	9
3	1	0	3	8	9	10
SUMA	4.0	0.0	7.0	25.0	26.0	29.0
PROM.	1.3	0.0	2.3	8.3	8.7	9.7
PROM. A	0.7		5.3		9.2	
PROM. B	4.1			6.0		

Cuadro 18. Porcentaje de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 15 minutos de aplicación (datos reales).

Rep.	LECHUGA		TARWI		TARWI SILVESTRE	
	15 %	40 %	15 %	40 %	15 %	40 %
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	20	0	20	90	80	100
2	10	0	20	80	90	90
3	10	0	30	80	90	100
SUMA	40	0	70	250	260	290
PROM.	13.3	0.0	23.3	83.3	86.7	96.7
PROM. A	6.7		53.3		91.7	
PROM. B	41.1			60.0		

Cuadro 19. Evaluación de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 15 minutos de aplicación (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$).

Rep.	LECHUGA		TARWI		TARWI SILVESTRE	
	15 %	40 %	15 %	40 %	15 %	40 %
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	1.73	1.00	1.73	3.16	3.00	3.32
2	1.41	1.00	1.73	3.00	3.16	3.16
3	1.41	1.00	2.00	3.00	3.16	3.32
SUMA	4.56	3.00	5.46	9.16	9.32	9.80
PROM.	1.52	1.00	1.82	3.05	3.11	3.27
PROM. A	1.26		2.44		3.19	
PROM. B	2.15			2.44		

Cuadro 20. Evaluación de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 30 minutos de aplicación (datos reales).

Rep.	LECHUGA		TARWI		TARWI SILVESTRE	
	15 %	40 %	15 %	40 %	15 %	40 %
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	1	0	2	10	10	10
2	2	0	3	10	10	10
3	1	0	5	10	10	10
SUMA	4.0	0.0	10.0	30.0	30.0	30.0
PROM.	1.3	0.0	3.3	10.0	10.0	10.0
PROM. A	0.7		6.7		10.0	
PROM. B	4.9			6.7		

Cuadro 21. Porcentaje de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 30 minutos de aplicación (datos reales).

Rep.	LECHUGA		TARWI		TARWI SILVESTRE	
	15 %	40 %	15 %	40 %	15 %	40 %
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	10	0	20	100	100	100
2	20	0	30	100	100	100
3	10	0	50	100	100	100
SUMA	40	0	100	300	300	300
PROM.	13.3	0.0	33.3	100.0	100.0	100.0
PROM. A	6.7		66.7		100.0	
PROM. B	48.9			66.7		

Cuadro 22. Evaluación de mortalidad con extractos de plantas de lechuga, tarwi y tarwi silvestre al 15% y 40% a los 30 minutos de aplicación (datos transformados $Y = \sqrt{x+1}$).

Rep.	LECHUGA		TARWI		TARWI SILVESTRE	
	15 %	40 %	15 %	40 %	15 %	40 %
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	1.41	1.00	1.73	3.32	3.32	3.32
2	1.73	1.00	2.00	3.32	3.32	3.32
3	1.41	1.00	2.45	3.32	3.32	3.32
SUMA	4.56	3.00	6.18	9.95	9.95	9.95
PROM.	1.52	1.00	2.06	3.32	3.32	3.32
PROM. A	1.26		2.69		3.32	
PROM. B	2.30			2.54		



Figura 6. Equipo para la obtención de aceites esenciales.



Figura 7. Planta nematicida en estudio (Lechuga).



Figura 8. Planta nematocida en estudio (Tarwi).



Figura 9. Planta nematocida en estudio (tarwi silvestre).



Figura 10. Proceso de Obtención del extracto del tarwi.



Figura 11. Obtención del extracto de lechuga.



Figura 12. Resultado del extracto de planta obtenido.



Figura 13. Extractos de plantas obtenidos de Lechuga, Tarwi cultivado y Tarwi silvestre.



Figura 14. Obtención de los juveniles, empleando el método modificado de Baermann.



Figura 15. Muestra de suelo 50g, para obtención de juveniles.



Figura 16. Tratamiento en estudio.



Figura 17. Aplicación de los extractos de plantas en estudio.

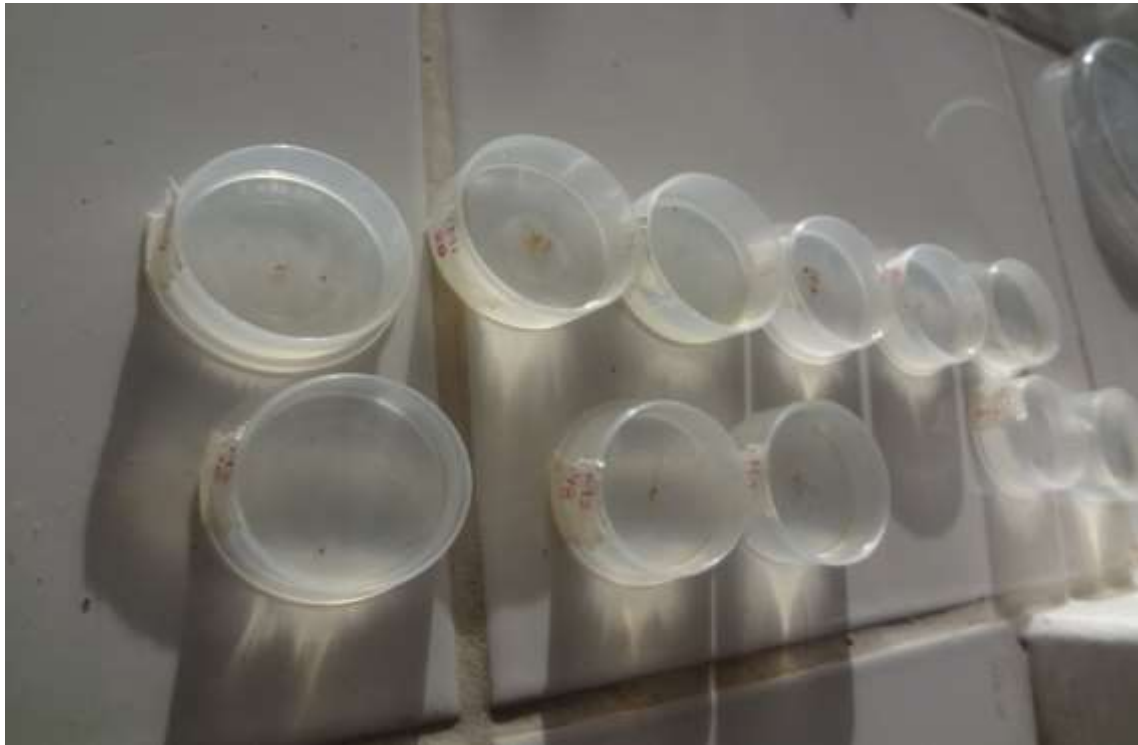


Figura 18. Aplicación de las soluciones en estudio.



Figura 19. Juveniles de *Nacobbus* spp. Muertos.



Figura 20. *Nacobbus spp.* Muerto por extracto de tarwi silvestre al 40% dosis en 30 min.