

EFFECTO NEMATICIDA DE EXTRACTOS DE *Quassia amara* Y *Brugmansia suaveolens* SOBRE *Meloidogyne* sp. ASOCIADO AL TOMATE EN NICARAGUA¹

Wilber Salazar-Antón², Tomás de Jesús Guzmán-Hernández³

RESUMEN

Efecto nematocida de extractos de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. asociado al tomate en Nicaragua. El objetivo de este trabajo fue evaluar extractos de hojas de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) y flores de *Brugmansia suaveolens* L. (Solanaceae) para determinar su efecto nematocida contra *Meloidogyne* sp. El estudio se realizó en el Campus Agropecuario de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León (UNAN-León) en el año 2012. El material vegetal fue deshidratado, pulverizado y sus compuestos fueron extraídos utilizando como solvente metanol. Este estudio se realizó *in vitro*, se evaluó la mortalidad de los juveniles de *Meloidogyne* sp. en segundo instar después de 12, 24 y 48 horas de exposición a los extractos. Además, estos se aplicaron a plantas de tomate en maceteras bajo condiciones de invernadero, cuantificándose las poblaciones de nematodos a los 25, 50 y 75 días de exposición al extracto (DEE). En el experimento *in vitro* *Q. amara* y *B. suaveolens* diluidos al 10%, presentaron los más altos porcentajes de mortalidad después de 48 h, alcanzando 89 y 78% de juveniles muertos, respectivamente. En maceteras se evaluó la mortalidad de juveniles, índice de agallamiento (IA) y factor de reproducción (FR). Los mejores resultados para *Q. amara* se obtuvieron a los 25 DEE, con un porcentaje de mortalidad de 80%, un IA de 1 en una escala de 0-5 y FR de 0,20. Con *B. suaveolens*, a los 25 DEE se alcanzó el mayor porcentaje de mortalidad de 71%, un IA de 1,2 y un FR de 0,29. Estos resultados *in vitro* y en maceteras evidenciaron que ambos extractos poseen propiedades nematocidas, ya que redujeron significativamente ($P \leq 0,05$) las poblaciones de nematodos, su reproducción y el nivel de agallamiento de las raíces de tomate.

Palabras clave: cuasina, escopolamina, índice de agallamiento.

ABSTRACT

Nematicidal effect of plant extracts from *Quassia amara* and *Brugmansia suaveolens* against *Meloidogyne* sp. on tomato plants in Nicaragua. The nematicidal activity of leaves of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) and flowers of *Brugmansia suaveolens* L. (Solanaceae) was evaluated against *Meloidogyne* sp. during a study conducted at the Agricultural Campus of the National Agricultural University in León (UNAN- León). The plant material was dehydrated, ground and the compounds quassin and scopolamine were extracted using methanol as a solvent. Then a study was conducted *in vitro* to evaluate mortality in second stage juveniles of *Meloidogyne* sp. after exposure to extracts (12, 24 and 48 hours). Subsequently, extracts were also evaluated in tomato plants established in pots under greenhouse conditions, and the corresponding nematode population was quantified after exposure to the extract (25, 50 and 75 days of exposure to extract, DEE). *In vitro* tests with extracts of *B. suaveolens* and *Q. amara* diluted at 10% showed that the highest rate of nematode mortality occurs after 48 h of exposure, leaving 89% and 78% of all juveniles dead, respectively. In the test in pots, several aspects were evaluated including juvenile mortality, the plant galling index (GI), and the nematode reproduction factor (RF). The best result for *Q. amara* was obtained at 25 DEE, with 80% of mortality, a GI of 1 (in a scale from 0-5) and a RF of 0.2. Similarly, the best effect for *B. suaveolens*, was obtained at 25 DEE with a 71% of mortality, a GI of 1.2, and a RF of 0.29. These results from tests *in vitro* and in pots results indicate that both extracts have nematicidal activities, as they significantly reduced the nematode population ($P \leq 0.05$), the reproductive ability and the incidence of root galling in tomato plants.

Palabras clave: quassin, scopolamine, galling index.

¹ Recibido: 13 de junio, 2013. Aceptado: 18 de marzo, 2014. Este trabajo forma parte de la tesis de Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo (DOCINADE) del primer autor.

² Laboratorio de Fitopatología, Departamento de Agroecología, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. Nicaragua. Apartado postal N.º 64. Teléfono:(505) 311-1779. wilber.salazar@ct.unanleon.edu.ni

³ Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San Carlos, Alajuela, Costa Rica. Apartado 159-7050, Florencia, Alajuela. Tel: (506) 2475-5310. tjguzman@iter.ac.cr



INTRODUCCIÓN

El cultivo del tomate *Solanum lycopersicum* L. es uno de los vegetales de mayor consumo en Nicaragua debido a su sabor y alto contenido en vitaminas A, B y C, adicionalmente provee una considerable cantidad de potasio, hierro y fósforo (Henriques da Silva et al., 2008). Una de las principales limitantes en su producción es el nematodo agallador (*Meloidogyne* spp.) (Salazar-Antón y Guzmán-Hernández, 2013), el cual causa pérdidas de alrededor de un 20% en la producción (Sasser y Freckman, 1987), y con un estimado de US \$ 500.00 millones invertidos para el control de este nematodo (Keren-Zur et al., 2000).

Meloidogyne spp. es del tipo endoparásito sedentario, al emerger del huevo, los juveniles invaden las raíces de sus hospederos e inducen la formación de células gigantes que utiliza para su alimentación (Hunt et al., 2005). Una vez que penetra las raíces del tomate, migra hacia el tejido vascular donde produce una serie de cambios fisiológicos y morfológicos que impiden a la planta la absorción de agua y nutrientes esenciales para su normal desarrollo (Castagnone-Sereno, 2006; Milligan et al., 1998).

En Nicaragua los nematodos fitoparásitos se combaten casi exclusivamente con nematicidas sintéticos, los cuales a pesar de ser efectivos y de rápida acción tienen las desventajas de contaminar fuentes de agua, ser altamente costosos y riesgosos para la salud humana (Wachira et al., 2009). Esto indica la importancia de la investigación en nematicidas botánicos, especialmente en la agricultura orgánica.

Existen unas 57 familias botánicas que contienen compuestos fitoquímicos con potencial para ser usados en el combate de enfermedades de plantas (Sukul, 1992). Entre estos se destacan aquellos con propiedades nematicidas como: terpenos, alcaloides, esteroides, taninos y aceites esenciales. Estos compuestos de origen vegetal tienen la ventaja de ser más seguros para el ambiente y la salud humana que sus contrapartes sintéticos y adicionalmente son considerados no persistentes en el campo (Chitwood, 2002).

Entre las plantas que han sido reportadas con propiedades nematicidas se encuentran *Chamaesyce maculata*, *Euphorbia pulcherima* y *Lantana camara* (Cox et al., 2006), *Inula viscosa* (Oka et al., 2006), *Bixa Orellana* (Oladoye et al., 2007), *Tagetes erecta*

L., *Hyptis suaveolens* Poit y *Ocimum gratissimum* L. (Olabiya, 2008) y *Ricinus communis* (Arboleda et al., 2010).

Al menos treinta especies de plantas provenientes de catorce familias botánicas, se han validado con diferentes niveles de efectividad (Insunza et al., 2001). Esto demuestra la diversidad de esfuerzos que han sido realizados para encontrar moléculas naturales con efecto nematicida.

El objetivo de este trabajo fue evaluar extractos metanólicos de *Quassia amara* L. y *Brugmansia suaveolens* L., para determinar su efecto nematicida contra *Meloidogyne* sp. Estas plantas crecen naturalmente en Nicaragua y han sido reportadas con propiedades biocidas, insecticidas y nematicidas (Gutiérrez, 1988; Ocampo, 1994; López, 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

El proceso de extracción de los compuestos evaluados se realizó en el Laboratorio de Química del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San Carlos, Alajuela, Costa Rica. Las pruebas de mortalidad se realizaron en el Laboratorio de Fitopatología, ubicado en el Campus Agropecuario de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, Nicaragua, en el año 2012.

Preparación del inóculo de *Meloidogyne* sp.

Una masa de huevos obtenida de raíces agalladas de tomate *Solanum lycopersicum* var. Shanty susceptible a *Meloidogyne* sp. fue colocada en un beaker con agua destilada y un inyector de burbujas de aire por 24 h, con el propósito de generar oxígeno para los nematodos. Los huevos y juveniles de segundo estadio fueron recuperados en tamices de 500 mesh y aplicados al suelo esterilizado colocado en maceteras que contenían una planta de tomate, previamente mantenidas en invernadero por 75 días (Castro et al., 2011). Posteriormente, se extrajo el sistema radical de las plantas anteriormente inoculadas y se obtuvieron huevos y juveniles de *Meloidogyne* sp., los cuales fueron liberados utilizando una solución al 0,5% de hipoclorito de sodio tal como fue descrito por Hussey y Janssen (2002).

Proceso de extracción de compuestos botánicos

Las hojas de *Quassia amara* y flores de *Brugmansia suaveolens* fueron lavadas en agua potable, luego secadas y deshidratadas en un horno a 35°C por 96 horas y se pulverizaron en un molino foliar.

Los compuestos vegetales fueron extraídos de 350 g de material vegetal usando 200 ml de metanol mediante un extractor Soxhlet por 24 horas. Posteriormente, la solución fue filtrada a través de un papel filtro Whatman No. 1 y el disolvente evaporado en un rotavapor por tres horas (Naz et al., 2012).

Experimento *in vitro*

Se evaluaron cinco concentraciones de cada extracto diluidos en agua destilada (1% v/v, 2,5% v/v, 5% v/v, 7,5% v/v y 10% v/v), un testigo absoluto (agua destilada) y un testigo químico (oxamil 50 mg/l), se colocaron 20 ml de estas soluciones en platos petri junto con 50 juveniles de segundo estadio de *Meloidogyne* sp. Los nematodos fueron colocados en cada plato e incubados por 12, 24 y 48 horas. Después de este tiempo, los nematodos fueron transferidos a un plato petri con agua destilada por 24 horas.

Se determinó la mortalidad de nematodos observándolos bajo un estereoscopio, aquellos que presentaban su cuerpo en posición recta y sin movimiento cuando se les tocaba con una aguja de disección, se consideraban muertos. Los datos se analizaron mediante un diseño completamente al azar ($Y_{ij} = \mu + t_i + E_{ij}$) con siete tratamientos y cuatro repeticiones para un total de 28 unidades experimentales en cada uno de los tres periodos de incubación. Ambos experimentos fueron realizados dos veces.

Experimento *in planta*

Se utilizaron plantas de tomate var. Shanty susceptible a *Meloidogyne* sp., sembradas en un sustrato comercial estéril. A los veinte días de edad fueron trasplantadas a maceteras colocándose 1 kg de suelo, aplicándose 50 ml de cada extracto a una concentración de 7,5% v/v. Cinco días después, se aplicó una solución que contenía 200 juveniles en segundo estadio alrededor de la base del tallo de la plántula, adicionándose dos centímetros de suelo esterilizado para cubrir los nematodos (Hussey y Janssen, 2002). Las variables medidas fueron, porcentaje de mortalidad de

Meloidogyne sp., a los 25, 50 y 75 días de exposición al extracto (DEE). Se midió el índice de agallamiento (IA) a cada planta a los 75 DEE cuantificándose el número de agallas y asignándose un índice de acuerdo a la escala propuesta por Taylor y Sasser (1978). Esta sigue un esquema de 0-6, donde 0 = 0 agallas; 1 = 1-2 agallas; 2 = 3-10 agallas; 3 = 11-30 agallas; 4 = 31-100 agallas; 5 = >100 agallas.

La extracción de nematodos se realizó mediante el método de Baermann modificado (Hooper et al., 2005). Se pesaron 100 g de suelo y se colocaron en un filtro de papel toalla extendido sobre un tamiz dentro de un recipiente plástico. Luego se agregó agua hasta humedecer el nivel superior del suelo sin saturarlo. Se incubó por 48 horas y luego se filtró la suspensión dos veces a través de un tamiz de 400 mesh, colectando 20 ml. Una vez obtenida la solución con los juveniles, se homogenizó para tomar 10 alícuotas de 5 ml cada uno y cuantificar la población utilizando un estereoscopio (Castro et al., 2011).

Se midió el factor de reproducción (FR) a los 75 DEE, el cual es una medida de la capacidad reproductiva de los nematodos, utilizando la fórmula $R = P_f/P_i$, donde P_f representa la población final de nematodos encontrados y P_i representa la población inicial de juveniles de segundo estadio que fueron inoculados.

Se utilizó un diseño completamente al azar ($Y_{ij} = \mu + t_i + E_{ij}$) en el que se evaluó el efecto de los extractos sobre *Meloidogyne* sp. a los 25, 50 y 75 DEE, un testigo absoluto (agua destilada) y un testigo químico (oxamil 50 mg/l), cada uno de estos tratamientos se repitió cuatro veces, para un total de veinte unidades experimentales. Ambos experimentos fueron realizados dos veces. Posteriormente se realizó análisis de varianza y prueba de rango múltiple de Duncan al 0,5 cuando fue necesario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de cinco concentraciones de *Q. amara* y *B. suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. a nivel de laboratorio

Efecto de Quassia amara sobre nematodos *in vitro*

Las poblaciones de nematodos expuestas al extracto por 12, 24 y 48 horas, presentaron reducciones

significativas ($P < 0,05$) en todas las concentraciones evaluadas, en comparación con el testigo absoluto, lo que demuestra sus propiedades nematocidas. Los promedios de mortalidad más altos se lograron a las 48 horas en las diluciones al 7,5 y 10%, donde se obtuvo un porcentaje de 88 y 89% de nematodos muertos respectivamente. Se comprobó que los factores, tiempo y concentración del extracto fueron fundamentales en la mortalidad de nematodos (Cuadro 1). La viabilidad de los juveniles decreció en la medida que se utilizaba una dilución más alta (10%) por un periodo de tiempo más largo (48 h). El testigo absoluto (agua destilada) presentó el nivel más bajo de mortalidad con 13%, siendo superada por todos los tratamientos evaluados. El testigo químico (oxamil) presentó el nivel más alto de mortalidad con 96% (Cuadro 1).

Niveles de mortalidad similares a los encontrados en este estudio fueron reportados previamente por López (2010), quien al evaluar la mortalidad *in vitro* de *Radopholus similis* observó un 86% de mortalidad utilizando extractos de *Q. amara*. Estos altos niveles de mortalidad han sido atribuidos por Coats (1994) a metabolitos secundarios presentes como aminoácidos y alcaloides. De este último, se destaca la cantina que posee propiedades citotóxicas, que causan daño a las células de organismos vivos (López y Pérez, 2008).

Por otro lado, Mancebo et al. (2000) reportan la cuasina, como un alcaloide que posee potencial nematocida y que igualmente está presente en *Q. amara*. La cuasina es un terpeno descrito como el compuesto más activo que utiliza la planta en contra de organismos que la atacan, lo que le permite ejercer

una acción biocida sobre organismos fitoparásitos (Ocampo, 1994; López, 2010).

Efecto de B. suaveolens sobre nematodos in vitro

Se comprobó que las mayores mortalidades de juveniles de segundo estadio de *Meloidogyne* sp. fueron encontradas a las 48 horas de exposición en las diluciones al 7,5 y 10% con promedios de 77 y 78% respectivamente, resultados similares a los del experimento anterior. Estos porcentajes fueron significativamente ($P < 0,05$) más altos que los porcentajes de mortalidad encontrados en los otros tratamientos y claramente superiores a los porcentajes de mortalidad hallados en el tratamiento testigo (agua destilada). El testigo químico, con promedios de juveniles muertos de 43 (12 horas), 44 (24 horas) y 46 (48 horas), presentó los niveles más altos de mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* sp. con porcentajes de entre 86 al 92% (Cuadro 2).

Estudios previos demostraron que la mortalidad causada por *B. suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. se debe a la presencia de alcaloides del grupo tropano, como escopolamina, hiosciamina y atropina (Kvist y Moraes, 2006). En particular la escopolamina es ampliamente conocida por poseer propiedades nematocidas, responsables directas de la mortalidad encontrada en las evaluaciones realizadas en el presente experimento (Shahwar et al., 1995).

El porcentaje de mortalidad de nematodos más alto fue de 78%, lo que representa un alto efecto nematocida, sin embargo, estos resultados son inferiores

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad de juveniles de segundo estadio *Meloidogyne* sp. expuestos al extracto de *Q. amara* en condiciones *in vitro* en el año 2012. León, Nicaragua.

| | Tiempo de exposición de juveniles a extractos de <i>Q. amara</i> | | |
|-------------------|--|----------------|----------------|
| | 12 horas | 24 horas | 48 horas |
| Testigo absoluto | 4,88 ± 0,83 a | 6,50 ± 1,51 a | 6,62 ± 2,20 a |
| Dilución al 1.0% | 14,25 ± 2,82 b | 16,13 ± 2,80 b | 17,75 ± 4,50 b |
| Dilución al 2.5% | 24,00 ± 3,46 c | 24,25 ± 2,82 c | 25,75 ± 3,77 c |
| Dilución al 5.0% | 28,37 ± 2,26 d | 28,88 ± 4,22 d | 30,12 ± 4,52 d |
| Dilución al 7.5% | 40,25 ± 3,65 e | 43,62 ± 3,74 e | 44,00 ± 2,98 e |
| Dilución al 10.0% | 40,00 ± 3,25 e | 43,25 ± 3,85 e | 44,50 ± 3,89 e |
| Testigo químico | 42,38 ± 4,41 f | 47,12 ± 1,36 f | 48,37 ± 1,19 f |

Números seguidos por la misma letra y dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) según la prueba de Rangos múltiples de Duncan al 5%.

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* sp. expuestos al extracto de *B. suaveolens* en condiciones *in vitro* en el año 2012. León, Nicaragua.

| | Tiempo de exposición de juveniles a extractos de <i>B. suaveolens</i> | | |
|-------------------|---|----------------|----------------|
| | 12 horas | 24 horas | 48 horas |
| Testigo absoluto | 6,75 ± 2,55 a | 6,87 ± 1,64 a | 7,25 ± 1,28 a |
| Dilución al 1,0% | 11,25 ± 2,66 b | 14,00 ± 3,63 b | 15,37 ± 2,92 b |
| Dilución al 2,5% | 21,00 ± 2,93 c | 22,37 ± 3,58 c | 24,75 ± 2,60 c |
| Dilución al 5,0% | 28,87 ± 2,80 d | 30,62 ± 4,37 d | 30,87 ± 4,32 d |
| Dilución al 7,5% | 33,62 ± 3,62 e | 38,00 ± 4,44 e | 38,75 ± 4,50 e |
| Dilución al 10,0% | 34,75 ± 4,27 e | 38,62 ± 3,66 e | 39,00 ± 4,69 e |
| Testigo químico | 43,00 ± 4,07 f | 44,25 ± 4,86 f | 46,25 ± 4,95 f |

Números seguidos por la misma letra y dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) según la prueba de Rangos múltiples de Duncan al 5%.

a los obtenidos por Gutiérrez (1988) quien encontró niveles de mortalidad de hasta 91% en juveniles de *Meloidogyne* sp. Posteriormente, Insunza et al. (2001) realizó nuevas evaluaciones con escopolamina, y encontró que este ejerció una alta actividad tóxica contra fitonematodos. Estos autores evaluaron las propiedades nematocidas *in vitro* de escopolamina contra el nematodo fitoparásito *Xiphinema americanum* el cual luego de ser expuesto al extracto por 24 horas presentó promedios de mortalidad que oscilaron entre 88 y 100% de mortalidad.

Efecto de *Q. amara* y *B. suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. asociado a tomate en maceteras

Efecto de Quassia amara sobre *Meloidogyne* sp. en maceteras

En los muestreos de nematodos realizados a los 25, 50 y 75 días de exposición al extracto (DEE), se observó que las poblaciones de *Meloidogyne* sp. fueron reducidas significativamente en comparación con el testigo sin aplicación de extractos. Los mayores niveles de eficacia del extracto fueron encontrados a los 25 DEE, encontrándose únicamente cuarenta juveniles vivos representando un 80% de mortalidad de un total de 200 juveniles inoculados (Cuadro 3). Al cuantificar el IA se obtuvo un índice de 1,1 en la escala de 0-5 sugerida por Taylor y Sasser (1978), lo que representa de una a dos agallas por planta (Figura 1). Adicionalmente, al evaluar el FR se obtuvo un factor de 0,2, el cual por ser menor que 1 indica que la

población del nematodo en lugar de crecer, se redujo, en este caso en un 80%, coincidiendo con el bajo nivel de daño reportado en el IA. Esto indica que las poblaciones de *Meloidogyne* sp. vieron reducida su capacidad de reproducirse e infectar a la planta en presencia del extracto.

Las evaluaciones hechas a los 50 y 75 DEE demostraron una elevación tanto en los niveles poblacionales, como en el IA de la planta y en el FR de *Meloidogyne* sp. A los 50 DEE el porcentaje de mortalidad fue reducido a 65% cuantificándose setenta nematodos vivos, el IA sufrió un leve aumento y fue medido en 1,62 y el FR alcanzó a 0,34. Las mediciones a los 75 DEE demostraron un incremento en los niveles poblacionales de juveniles de *Meloidogyne* sp. al reducirse la mortalidad de estos a 46,37%, representando 107 nematodos vivos. Igualmente se aumentaron el IA a 1,87 y el FR a 0,53 (Figura 2).

Estos resultados señalan que el efecto nematocida del extracto de *Q. amara* decrece con el tiempo. Esto podría deberse a la degradación natural del extracto al exponerse a las condiciones del ambiente, lo cual reduce su efectividad con el paso del tiempo. Esta degradación de los principios activos del extracto de *Q. amara* fue previamente reportado por Flores et al. (2008) quienes encontraron que los compuestos que causan la inhibición alimenticia se descomponen y pierden su efecto al exponerse a las condiciones ambientales. Algunos alcaloides encontrados en los extractos de *Q. amara*, como es el caso de los cuasinoides pueden ser descompuestos por la luz y probablemente por la exposición al aire (Flores et al., 2008).

Cuadro 3. Efecto de extractos de *Q. amara* y *B. suaveolens* sobre la sobrevivencia y el factor de reproducción de juveniles de *Meloidogyne* sp. en condiciones *in vitro* en el año 2012. León, Nicaragua.

| Tratamiento | Extracto de <i>Q. amara</i> | | Extracto de <i>B. suaveolens</i> | |
|------------------|-----------------------------|------------------------|----------------------------------|------------------------|
| | Sobrevivencia | Factor de reproducción | Sobrevivencia | Factor de reproducción |
| Testigo químico | 29,26 ± 9,14 a | 0,14 ± 0,05 a | 30,00 ± 5,02 a | 0,15 ± 0,03 a |
| Extracción 25DEE | 40,76 ± 11,08 b | 0,20 ± 0,03 b | 58,00 ± 6,60 b | 0,29 ± 0,09 b |
| Extracción 50DEE | 69,76 ± 9,74 c | 0,34 ± 0,06 c | 79,74 ± 9,82 c | 0,39 ± 0,07 c |
| Extracción 75DEE | 107,26 ± 11,36 d | 0,53 ± 0,06 d | 109,50 ± 13,04 d | 0,54 ± 0,08 d |
| Testigo absoluto | 244,50 ± 19,12 e | 1,22 ± 0,10 e | 249,24 ± 18,24 e | 1,24 ± 0,09 e |

Números seguidos por la misma letra y dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) según la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5%.

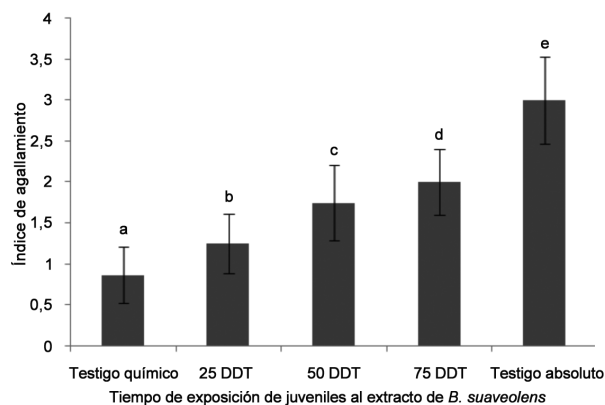


Figura 1. Índice de agallamiento ocasionado por juveniles de *Meloidogyne* sp. en raíces de tomate expuestos a extractos de *Q. amara* en el año 2012. León, Nicaragua.

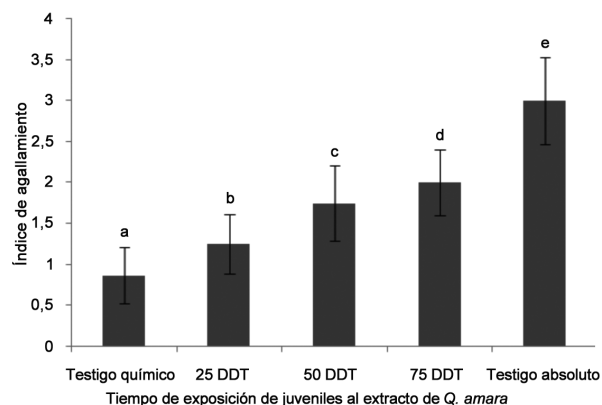


Figura 2. Índice de agallamiento ocasionado por juveniles de *Meloidogyne* sp. en raíces de tomate expuestos a extractos de *B. suaveolens* en el año 2012. León, Nicaragua.

La mortalidad de nematodos expuestos a extractos de *Q. amara* fue reportada previamente por López (2010) y podría ser explicada por la presencia de compuestos como cuasina y neocuasina en dichos extractos (López y Pérez, 2008). Estos alcaloides inhiben la capacidad de alimentación de diferentes organismos fitófagos (Mancebo et al., 2000). Sobre este tema Hilje y Stansly (2001), encontraron propiedades disuasivas alimenticias en estos dos cuasinoides. Por otro lado, Veierov (1996) afirma que estos alcaloides reducen los niveles de energía y causan deshidratación a los organismos expuestos a ellos.

El IA en este estudio fue en promedio menor o igual a 2, esto podría deberse a las propiedades de las cuasinas y neocuasinas las que han demostrado ser capaces de inhibir la alimentación de organismos plagas como los insectos (Hilje y Stansly, 2001). Niveles de agallamiento menores a dos son considerados bajos, ya que de acuerdo con Canto-Saénz (1983), son más tolerantes, lo que sugiere que el extracto reduce el IA a niveles que son tolerables por la planta.

El factor de reproducción (FR) de *Meloidogyne* sp. se redujo con las aplicaciones de extractos de *Q. amara*, observándose el mayor efecto en el tratamiento

evaluado a los 25 días de exposición al extracto con un FR de 0,20. Otros autores encontraron FR de 9 al evaluar variedades de tomate categorizadas como muy susceptibles a *Meloidogyne* sp. con suelo esterilizado y sin ningún método de control (Navarro-Barthelemy et al., 2009). Sin embargo, Castro et al. (2011), al utilizar vermicompost y quitina lograron reducir el FR en tomate susceptible a 3,76 versus 0,20 a 0,53 en el presente estudio, lo que hace suponer el potencial que posee este extracto como un nematocida alternativo.

El FR encontrado, brinda información muy importante sobre la utilidad del extracto debido a que es un indicador de la eficiencia del hospedero (Jiménez, 1985), demostrando que plantas a las que se les aplica el extracto se vuelven hospedero menos receptivos para las poblaciones de nematodos.

Efecto de B. suaveolens sobre nematodos en maceteras

Las evaluaciones realizadas a los 25, 50 y 75 DEE indican que las poblaciones de juveniles de *Meloidogyne* sp. en los tratamientos evaluados fueron reducidas por efecto del extracto en comparación con el testigo. Los mayores niveles de control fueron observados a los 25 DEE, encontrándose 58 nematodos vivos, lo que representa una mortalidad del 71% del total de 200 juveniles inoculados (Cuadro 3). El IA ocasionado por los nematodos fue de 1,25, equivalente a una o dos agallas por planta siendo insuficiente para causar un daño severo a la planta (Figura 2). Por otro lado, el FR fue de 0,29 indicando que las poblaciones decrecieron en presencia del extracto, reduciéndose su capacidad de reproducirse e infectar las plantas.

Las evaluaciones realizadas a los 50 y 75 DEE demostraron un incremento en los niveles poblacionales de *Meloidogyne* sp., así como una elevación en los IA y FR. A los 50 DEE el porcentaje de mortalidad del nematodo se redujo a 60%, demostrando un incremento poblacional encontrándose 80 nematodos vivos (Cuadro 3), el IA sufrió un leve incremento y fue medido en 1,7 y el FR fue medido en 0,39. Las mediciones a los 75 DEE muestran un 45% de mortalidad, lo que demuestra un aumento en la población de *Meloidogyne* sp. a 110 nematodos vivos, el IA se elevó a 2,0 y el FR también llegando a 0,54. El incremento en estas dos últimas variables en comparación con las evaluaciones hechas a los 25

DEE muestra que los nematodos tuvieron en las dos últimas evaluaciones menos dificultades para penetrar la planta, infectarla y reproducirse.

La mortalidad causada por extractos de *B. suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. puede ser atribuida a alcaloides tóxicos que producen plantas de la familia solanácea como la atropina, hioscina y escopolamina (Pino y Alvis, 2008; Pino, 2010). De estos alcaloides, se sabe que la escopolamina es el alcaloide que se presenta en mayores concentraciones en *B. suaveolens* (Flores-Hernández, 2011) y el que posee mayor potencial nematocida (Shahwar et al., 1995).

De igual manera, Gutiérrez (1988) utilizó extractos de *Brugmansia* sp. y encontró un 91% de mortalidad en poblaciones de *Meloidogyne* sp. asociados a tomate en maceteras. Posteriormente, otros autores evaluaron nuevamente su actividad nematocida y encontraron niveles de mortalidad entre 90 y 100% sobre *Hoplolaimus indicus*, *Helicotylenchus multicinctus*, y *M. incognita* (Hussain et al., 2011). Los niveles de agallamiento en tomate, fueron reducidos gradualmente en la medida que se incrementaba la dosis de escopolamina, donde se demostró una correlación inversa entre las concentraciones de este alcaloide aplicado al suelo y el nivel de infestación de *Meloidogyne* sp. (Abid, 1996).

En el presente estudio el IA promedio en los tratamientos con extracto de *B. suaveolens* fue de 1,6, lo que demuestra la efectividad del extracto como nematocida ya que un índice menor a 2 indica que los nematodos presentaron limitaciones en su capacidad de dañar las plantas (Jiménez, 1985). Esto podría ser atribuido a las propiedades repelentes y disuasivas alimenticias que le han sido atribuidas a este extracto (Pérez y Iannacone, 2008). El IA menor que 2 obtenido, es propio de plantas tolerantes a *Meloidogyne* sp. según la escala de resistencia propuesta por Canto-Sáenz (1983). El estudio reporta que el IA del tratamiento testigo fue de 3, lo que indica que la variedad utilizada es susceptible según los parámetros utilizados por el mismo autor (Canto-Sáenz, 1983). De lo anterior, se deduce que los bajos IA obtenidos en las plantas tratadas con el extracto fueron debido al efecto protector de este y no a la tolerancia de la variedad utilizada.

El FR en los tratamientos con extractos no superó 0,54 en las poblaciones de *Meloidogyne* sp. lo que indica que los nematodos no incrementaron

en presencia del extracto, sino que por el contrario, decrecieron. Este FR menor a 1 es propio de plantas tolerantes según la escala propuesta por Suarez y Rosales (2008). En este caso, el bajo FR no se debe a la tolerancia de la variedad utilizada, ya que el tratamiento testigo absoluto tuvo un FR de 1,24, sino a la acción protectante del extracto observado por la tolerancia de las plantas de tomate a *Meloidogyne* sp.

LITERATURA CITADA

- Abid, M. 1996. Studies on the control of Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) with botanical toxicants. Department of Botany, National Nematological Research Centre, University of Karachi.
- Arboleda, F.J., O.A. Guzmán Piedrahita, y J.F. Restrepo Henao. 2010. Efecto *in vitro* de extractos acuosos de higuera (*Ricinus communis* Linneo) sobre el nematodo barrenador [*Radopholus similis* (Cobb) Thorne]. *Agronomía* 18(2):25-36.
- Canto-Saénz, M. 1983. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White 1919) Chitwood 1949. En: Carter, C.C., editor, Proc. Third Res. & Plann.Conf. on Root knot nematodes *Meloidogyne* spp. International *Meloidogyne* Project, Lima, Peru. p. 160-165.
- Castagnone-Sereno, P. 2006. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. *Heredity* 96:282-289.
- Castro, L., L. Flores, y L. Uribe. 2011. Efecto del vermicompost y quitina sobre el control de *Meloidogyne incognita* en tomate a nivel de invernadero. *Agronomía Costarricense* 35(2):21-32.
- Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology* 40:221-9.
- Coats, J. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Revision Entomology EEUU* 39:489-515.
- Cox, C.J., L.B. McCarty, J.E. Toler, S.A. Lewis, y S.B. Martin. 2006. Suppressing sting nematodes with *Brassica* sp., *Poinsettia* and spotted spurge extracts. *Agron. J.* 98: 962-967.
- Flores-Hernández, M.A. 2011. Compilación bibliográfica *Brugmansia* spp. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, México. p. 1-49.
- Flores, G., L. Hilje, G.A. Mora, y M. Carballo. 2008. Antifeedant activity of botanical crude extracts and their fractions on *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) adults: III. *Quassia amara* (Simaroubaceae). *Rev. Biol. Trop.* 56(4):2131-2146.
- Gutiérrez, P. 1988. Uso de extractos vegetales para el control de nematodos en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). Tesis Licenciatura en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos, Costa Rica.
- Henriques da Silva, D.J., F. Barbosa, F.R. Brunele, A. Castro, y V. Patel. 2008. Tomatoes: origin, cultivation techniques and germplasm resources. En: V. Preddy, y R. Watson, editores, Tomatoes and tomato products: nutritional, medicinal and therapeutic properties. Science Publisher, Enfield, NH, USA. p. 3-25.
- Hilje, L., y P.A. Stansly. 2001. Development of crop associations for managing geminiviruses vectored by whiteflies in tomatoes. Final report. U.S. Dept. Agr. (USDA). CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Hooper, D.J., J. Hallmann, y S.A. Subbotin. 2005. Methods for extraction, processing and detection of plant and soil nematodes. En: M. Luc, R.A. Sikora, y J. Bridge, editores, Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 2 ed, CABI, UK. p. 53-86.
- Hunt, D., Luc, M; Manzanilla-López, R. 2005. Identification, morphology and biology of plant parasitic nematodes En: M. Luc, R.A. Sikora, y J. Bridge, editores, Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CABI publishing. p. 11-52.
- Hussain, M.A., T. Mukhtar, y M.Z. Kayani. 2011. Efficacy evaluation of *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* and *Tagetes erecta* against root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. *Pak. J. Bot.*, 43:197-204.
- Hussey, R.S., y G. Janssen. 2002. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. En: J.L. Starr, R. Cook, y J. Bridge, editores, Plant resistance to parasitic nematodes. USA. CAB International. p. 43-70.
- Insunza, V., E. Aballay, y J. Macaya. 2001. *In vitro* nematicidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of *Xiphinema americanum* sensu lato. *Nematologica* 31:47-54.
- Jiménez, M. 1985. Evaluación de resistencia de cinco cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) al ataque de *Meloidogyne* spp. *IDESIA* (Chile) 9:15-20.
- Keren-Zur, M., J. Antonov, A. Bercovitz, A. Feldman, G. Keram, N. Morov, y N. Rebhum. 2000. *Bacillus firmus* formulation for the safe control of root knot nematodes. En: The BCPC Conference: Pests and disease. Brighton, United Kingdom. p. 307-311.

- Kvist, L.P., y R.M. Moraes. 2006. Plantas sicoactivas. *Botánica Económica de los Andes Centrales* 12:294-312.
- López, J.A., y J. Pérez. 2008. Etnofarmacología y actividad biológica de *Quassia amara* (Simaroubaceae): Estado de la cuestión. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales* 7(5):234-246.
- López, A.P. 2010. Evaluación de extractos de cuatro especies de plantas y sus compuestos orgánicos sobre la mortalidad de *Radopholus similis* en condiciones *in vitro*. Tesis Lic. en Ingeniería en Agronomía, Instituto Tecnológico de Costa Rica, sede San Carlos, Alajuela, Costa Rica.
- Mancebo, F., L. Hilje, G.A. Mora, y R. Salazar. 2000. Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simaroubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Crop Prot.* 19:301-305.
- Milligan, S., J. Bodeau, J. Yaghoobi, I. Kaloshian, P. Zabel, y V.M. Williamson. 1998. The root knot nematode resistance gene Mi from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. *Plant Cell* 10:1307-1319.
- Navarro-Barthelemy, L., L. Gómez, R. Enrique, F.M. González, y M.G. Rodríguez. 2009. Comportamiento de genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) frente a *Meloidogyne incognita*. *Rev. Protección Veg.* 24(1):54-56.
- Naz, I., J.E. Palomares-Rius, Saifullah, V. Blok, M.R. Khan, y S. Ali. 2012. *In vitro* and *in planta* nematocidal activity of *Fumaria parviflora* against the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant Pathology* 62(4):943-952.
- Ocampo, R. 1994. Estudios etno-botánico de las palmas empleadas por los indígenas en Talamanca, Costa Rica. *Revista Forestal (CR)* 7:1-6.
- Oka, Y., B.H. Ben-Daniel, y Y. Cohen. 2006. Control of *Meloidogyne javanica* by formulations of *Inula viscosa* Leaf extracts. *J. Nematol.* 38(1):46-51.
- Olabiyi, T.I. 2008. Pathogenicity study and nematotoxic properties of some plant extracts on root knot nematode pest of tomato, *Lycopersicon esculentum* (L.) Mill. *Plant Pathology Journal* 7(1):45-49.
- Oladoye, S.O., T.I. Olabiyi, E.T. Ayodele, y G.T. Ibikunle. 2007. Photo-Chemical screening and nematocidal potential of root bark extract of *Bixa orellana* on nematode pests. *Res. Crops* 8:222-228.
- Pérez, D., y J. Iannacone. 2008. Mortalidad y repelencia en *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera:Castniidae), plaga de la palma aceitera *Elaeis guineensis*, por efecto de diez extractos botánicos. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 67(1-2):41-48.
- Pino, V.E. 2010. Efecto de extractos vegetales en la reducción poblacional de *Meloidogyne* sp. Ingeniería Agropecuaria. Tesis Ing. Agropecuaria, Fac. de Ciencias Agrop., Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador.
- Pino J., y R. Alvis. 2008. Efecto de *Brugmansia arborea* (L.) Lagerheim (Solanacea) en el sistema reproductor masculino de ratón. *Rev Per Biol.* 15(2):125-128.
- Salazar-Antón, W., y T.J. Guzmán-Hernández. 2013. Efecto de poblaciones de *Meloidogyne* sp. en el desarrollo y rendimiento del tomate. *Agron. Mesoam.* 24(2):419-426.
- Sasser, J.N., y D.W. Freckman. 1987. A world perspective on Nematology: the role of the society. En: V.A. Veech, y D.W. Dickson, editores, *Vistas on nematology*. Society of Nematologists, Hyattsville, Maryland. p. 7-14.
- Shahwar, D., M. Abid, A.U. Rehman, M.A. Maqbool, y M.I. Choudhary. 1995. Nematicidal compounds from *Datura fastuosa*. En: M.A. Atta-ur-Rehman, M.S. Choudhary, y H.E.J. Sheikhan, editores, *Proc. 19th IUPAC Symposium on the chemistry of Natural Products*. Res. Inst. of Chemistry, University of Karachi, Karachi 75270- Pakistan. p. 171-179.
- Suarez, H.Z., y L.C. Rosales. 2008. Comportamiento de materiales genéticos de piña (*Ananas comosus*) al ataque de *Meloidogyne incognita* raza 1. *Rev. Protección Veg.* 23(3):191-195.
- Sukul, N.C. 1992. Plants antagonistic to plant-parasitic nematodes. *Indian Review of Life Sciences* 12:23-52.
- Taylor, A.L., y J.N. Sasser. 1978. Biology, identification and control of some root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). A coop. Pub. Dept. Plant Pathology and Genetics, North Carolina State University y USAID. Raleigh, N.C.
- Veierov, D. 1996. Physically and behaviorally active formulations for control of *Bemisia*. En: D. Gerling, y R.T. Mayer, editores, *Bemisia 1995: Taxonomy, biology, damage, control and management*. Intercept, Andover, United Kingdom. p. 557-576.
- Wachira, P.M., J.W. Kimenju, S.A. Okoth, y R.K. Mibey. 2009. Stimulation of nematode-destroying fungi by organic amendments applied in management of plant parasitic nematode. *Asian J. Plant. Sci.* 8(2):153-159.