

## NOTA TECNICA

EVALUACION DE EXTRACTOS BOTANICOS CONTRA EL NEMATODO  
*Meloidogyne incognita* EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*)<sup>1</sup>Roxana Yanira Parada<sup>2</sup>, Reina Flor Guzmán<sup>2</sup>

## RESUMEN

**Evaluación de extractos botánicos contra el nematodo *Meloidogyne incognita* en frijol (*Phaseolus vulgaris*).** Se evaluaron los extractos acuosos de ajo (*Allium sativum*), marygold (*Tagetes* sp), papayo (*Carica papaya*) y pasto barrenillo (*Cynodon dactylon*) con el propósito de determinar sus efectos nematocidas sobre *Meloidogyne incognita* en frijol variedad CENTA CUZCATLECO, durante 1993 - 1994. La investigación se realizó a nivel de laboratorio e invernadero, con un diseño completamente al azar, seis tratamientos y ocho repeticiones, en el Centro de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA). En invernadero, las plántulas de frijol fueron inoculadas con 4.000 huevecillos y J2 de *M. incognita*, posteriormente fueron tratadas con los extractos antes mencionados, además del nematocida *Phenamiphos* y un testigo absoluto (agua). En el laboratorio los juveniles del nematodo fueron expuestos en contacto directo con cada una de las sustancias, lavándolas posteriormente con agua para su posible recuperación. A los sesenta días después de la siembra se midieron las variables: altura final, peso fresco y seco de follaje, peso fresco de raíz, población final de índice de agallamiento y tasa de reproducción. El mejor nematocida presentó mejor control y el extracto para control de *M. incognita*, a nivel de invernadero fue papayo (menor índice de agallamiento). Los extractos de ajo y papayo en dosis de 35 g/maceta provocaron toxicidad en la planta. En el laboratorio, los extractos que presentaron un mayor número de juveniles muertos fueron ajo, marigold y papayo, lográndose una mortalidad rápida con el extracto de papayo.

## ABSTRACT

**Evaluation of the usage of plant extracts against the bean (*Phaseolus vulgaris*) nematodes (*Meloidogyne incognita*).** With the aim of determining the nematocidal effect over *Meloidogyne incognita* in beans, (variety "Centa Cuzcatleco"), we evaluated the watery extracts of garlic (*Allium sativum*), marygold (*Tagetes* sp), papaya tree (*Carica papaya* tree), and "barrenillo" grass (*Cynodon dactylon*), during the period of 1993-1994. Tests were conducted at the laboratory and the greenhouse, with the use of a completely random design, with six treatments and eight repetitions. The research was conducted at the Center of Agricultural and Forestry Technology (CENTA): In the greenhouse the seedlings were inoculated with 4.000 eggs and J2 of *M. incognita*, and then treated with the aforementioned plant extracts. In addition, we used the nematocide Phenamiphos and an absolute check (plain water) in the laboratory, the juvenile stages of the nematodes were exposed to direct contact with each one of the substances, and afterwards they were rinsed in water to measure its recuperation. Sixty days after sowing, we measured the variables: final height, fresh and dry weight of foliage, fresh weight of roots, final nematode population, gall index, and reproduction rate. The best extract for controlling *M. incognita* at the greenhouse was papaya tree (smallest gall index), even though Phenamiphos was the overall best treatment. The extracts of garlic and papaya tree, in dosis of 35 g per plant, provoked toxicity in the plant. At the laboratory, the extracts which produced a higher mortality rate of juvenile nematodes were garlic, marygold and papaya tree. The fastest mortality

## INTRODUCCION

Desde hace varios años se está acentuando el problema de no poder atender la demanda de alimentos con la producción nacional, ya que la población crece con más rapidez que la producción de granos básicos, provocando una crisis alimenticia donde la población sufre una mala nutrición o una dieta baja en calorías y proteínas (Ferrufino Boyle, 1984, citado por Herrera, 1990). El frijol común (*Phaseolus vulgaris*), constituye una parte

esencial de la dieta alimenticia del pueblo salvadoreño y en ciertos casos su única fuente de proteínas; nuestro agricultor, en especial, depende casi exclusivamente de esta leguminosa para su alimentación (Bressani, 1969; Mancía, 1969).

Sin embargo, en los últimos años la producción se ha visto disminuida por diversos factores tales como: climáticos, edáficos, plagas y enfermedades. Dentro de los organismos que atacan al cultivo del frijol tenemos

<sup>1</sup> Presentado en la XLI Reunión Anual del PCCMCA en El Salvador, Centroamérica, 27 al 31 de marzo, 1996.

<sup>2</sup> Lab. Parasitología Vegetal CENTA/MAG Apartado Postal 885 San Salvador, El Salvador C.A.

a los nematodos, los cuales juegan un importante papel en la reducción de la cosecha. De acuerdo a Goodey, (1965) citado por López (1990), el género *Phaseolus* ha sido reportado como hospedero de *Meloidogyne* sp; siendo una de las causas de los bajos rendimientos por unidad de superficie.

Por tal motivo el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la acción nematocida que ejercen los extractos acuosos de ajo (*Allium sativum*), marygold (*Tagetes* sp), papayo (*Carica papaya*) y pasto barrenillo (*Cynodon dactylon*) sobre *Meloidogyne incognita* en la variedad de frijol CENTA CUZCATLECO, ya que de acuerdo a Marban (1987), la filosofía actual en torno al control de nematodos, se basa en los sistemas de manejo integrado, cuyo objetivo supremo consiste, en la dependencia mínima de compuestos químicos mediante la utilización de otros métodos en forma combinada, ya que es evidente y no es posible seguir dependiendo de un sólo método, que en forma permanente resuelva los problemas nematológicos; en esencia la estrategia debe orientarse en buscar medidas globales para controlar plagas y enfermedades, obteniéndose los resultados más favorables desde el punto de vista económico, ecológico y social.

## MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó en el Centro de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA), situado en San Andrés, municipio de Ciudad Arce, Depto. La Libertad, al cual le corresponden las coordenadas 13° 44' 16" L.N y 89° 28' 22" L.W teniendo un promedio anual de temperatura de 32,9°C máxima y 17,5°C mínima y una precipitación máxima de 2.075 mm y mínima de 1.291 mm (M.A.G. 1987).

El trabajo experimental se llevo a cabo en el Laboratorio de Nematología e invernadero N° 3, con un diseño completamente al azar, seis tratamientos y ocho repeticiones.

Las actividades se distribuyeron en dos etapas:

- a) Etapa preliminar
- b) Etapa experimental.

### Etapa preliminar:

El sustrato que se utilizó se preparó con suelo y arena en una proporción de 1:1 con arena, el cual permitió extraer la planta al final del experimento sin ningún esfuerzo y de esta manera evitar la pérdida de agallas; dicho sustrato se esterilizó con Bromuro de metilo.

### I. Parte de la planta que se utilizó para hacer los extractos.

De acuerdo a las pruebas de laboratorio realizadas previamente cada una de las partes de las plantas (hoja, raíz, flor y semilla) para determinar las estructuras con contenido de mayor grado de eficacia en el control de nematodos, se decidió utilizar las siguientes partes: raíces de marygold, semilla seca con o sin arilo de papayo hojas de pasto barrenillo y en el caso del ajo no se realizó ninguna prueba ya que únicamente se utilizaron los bulbos.

### II. Preparación de los extractos.

Las diferentes partes antes mencionadas se maceraron en recipientes separados en un mortero o molino dependiendo de la cantidad a utilizar. Posteriormente se calentó agua de chorro a una temperatura de 80° a 90°C. agregándola a cada recipiente. Luego se filtró esta solución dejándose enfriar para ser aplicada a los diferentes tratamientos.

### III. Dosificación.

Se tomó como base, la capacidad de campo de las macetas siendo esta de 350 ml. y por regla de tres directa se determinó que correspondía a cada una de ellas de 35 g del material vegetal, ya que se utilizó una relación de 1gr/10 ml (Marban, comunicación personal). Con estas dosis se presentaron problemas de toxicidad con los extractos de ajo y papayo en las plantas de frijol, por lo que se realizaron nuevas pruebas de dosificación.

Las dosis utilizadas en el segundo ensayo, que no causaron toxicidad en las plantas fueron las siguientes: 35 g/macetas para los extractos de marygold y pasto barrenillo, 10 g/maceta para el extracto de papaya y 7 g/maceta para el extracto de ajo (fase de invernadero), 1 g/10 ml de agua para los extractos de marygold y pasto barrenillo, 0,28 g/10 ml. de agua para el extracto de papaya y 0,20 g/10 ml de agua para el extracto de ajo (fase de laboratorio).

### Etapa experimental

#### Fase de invernadero

Se utilizaron 48 macetas plásticas de 15 cm de diámetro con capacidad para un volumen de suelo de 2 kg cada una de ellas con dos plántulas de frijol.

Los tratamientos se distribuyeron de la siguiente manera:

T1- extractos acuoso de semilla de papayo + 4000 huevecillos y J2 de *M. incognita*.

- T2- extracto acuoso de raíces de marygold + 4000 huevecillos y J2 de *M. incognita*.  
 T3- extracto acuoso de semillas de papayo + 4000 huevecillos y J2 de *M. incognita* .  
 T4- extracto acuoso de hojas de pasto barrenillo + 4000 huevecillos y J2 de *M. incognita*.  
 T5- nematicida comercial (Phenamiphos) + 4000 huevecillos y J2 de *M. incognita* (testigo relativo).  
 T6- agua de chorro + 4000 huevecillos y J2 de *M. incognita* (testigo absoluto).

A los diez días después de la siembra se hizo la primera aplicación de cada uno de los tratamientos, al día siguiente se inoculó a cada maceta 4000 huevecillos y J2 *M. incognita*, a los veinte y cuarenta días se hizo la segunda y última aplicación respectivamente de los tratamientos, a excepción del nematicida comercial; en los días intermedios las plantas se mantuvieron con riego continuo.

A los sesenta días se tomaron las siguientes variables:

- Altura inicial ( 15 días)
- Altura final (60 días)
- Peso fresco de follaje
- Peso fresco de raíz
- Peso seco de follaje
- Población final
- Tasa de reproducción
- Índice de agallamiento

#### Fase de Laboratorio:

Se utilizaron 48 siracusas de dos cm de diámetro, con capacidad para un volumen de 1 cc; cada semana se utilizaban seis siracusas correspondientes a los seis tratamientos, donde se colocaban 10 juveniles activos de *M. incognita* en una gota de agua en cada siracusa. Posteriormente se agregó 1 ml de la sustancia a evaluar.

Los tratamientos distribuidos en la fase de laboratorio fueron:

- T1- extracto de ajo + 10 juveniles (J2) de *M. incognita*.  
 T2- extracto de raíz de marygold + 10 J2 de *M. incognita*.  
 T3- extracto de semilla de papayo + 10 J2 de *M. incognita*.  
 T4- extracto de hoja de pasto barrenillo + 10 J2 de *M. incognita*.  
 T5- nematicida comercial + 10 J2 de *M. incognita* (testigo relativo)  
 T6- agua de chorro + 10 J2 de *M. incognita* (testigo absoluto).

Los juveniles (J2) se observaron al microscopio cada media hora, durante las primeras dos horas; cada hora durante las siguientes tres horas; después se observaron a los 24, 48 y 72 horas, anotando los juveniles vivos y muertos en cada tiempo de observación. Cuando se tenía una sustancia que reducía el 100% a los juveniles, estos se lavaban con agua de chorro dos veces y se dejaban reposar 24 horas más en el agua, para observar si volvían a tener movimiento, fase a la que se le denominó período de recuperación de juveniles.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Fase de invernadero:

Los resultados obtenidos en la fase de invernadero mostraron que las medias de la altura inicial, final, peso fresco de raíz , peso fresco y seco de follaje no fueron estadísticamente significativas (Cuadro 1). Pero las variables que mostraron el grado de eficacia de cada uno de los tratamientos en el control de *M. incognita* fueron el índice de agallamiento, población final y tasa de reproducción del nematodo las cuales resultaron altamente significativas (Figuras 1, 2 y 3).

**Cuadro 1.** Medias de altura inicial, altura final, peso fresco de raíz y peso fresco de follaje del frijol (*Phaseolus vulgaris*) var. Centa Cuzcatleco, 60 días después de haber sido inoculadas con 4000 huevos y juveniles de *Meloidogyne incognita* .

Tratamiento	(X) altura Inicial (cm)	(X) altura Final (g)	(X) Peso Fresco raíz (g)	(X) Peso fresco follaje (g)	(X) Peso seco follaje (g)
T1	19,37	32,15	3,36	11,76	1,29
T2	20,75	35,62	5,71	13,4	2,08
T3	19,25	33,75	4,69	12,11	1,52
T4	21,62	34,25	3,71	13,14	1,42
T5	19,62	35,25	4,66	9,94	1,66
T6	19,62	31,25	3,19	11,51	1,70

En estas figuras se observa que el tratamiento cinco (*Phenamiphos*) con medias de 2,01 (índice de agallamiento), 131,25 (población final) y 0,03 (tasa de reproducción) fue el mejor tratamiento, no así el testigo absoluto (T6-agua de chorro) con medias de 5,48, 10,05 0,53 y 2,51 respectivamente mostró los índices más altos

En cuanto a los extractos botánicos, el tratamiento tres (papaya) resultó ser altamente eficaz en la perturbación del ciclo de nematodo, ya que obtuvo un índice de agallamiento de 3,26, población promedio final de 555 y tasa de reproducción de 0,14 (Figuras 1, 2 y 3), indicando ser el tratamiento de extractos vegetales que proporcionó mayor protección a las raíces de la infección causadas por los juveniles del segundo estado de *M. incognita*.

El tratamiento uno (extracto de ajo) también redujo el grado de infección en las raíces de las plantas de frijol, ya que contó con una media de índice de agallamiento de 3,87, reduciendo al mismo tiempo la población del nematodo (2073,75) aunque en menor grado que el tratamiento tres.

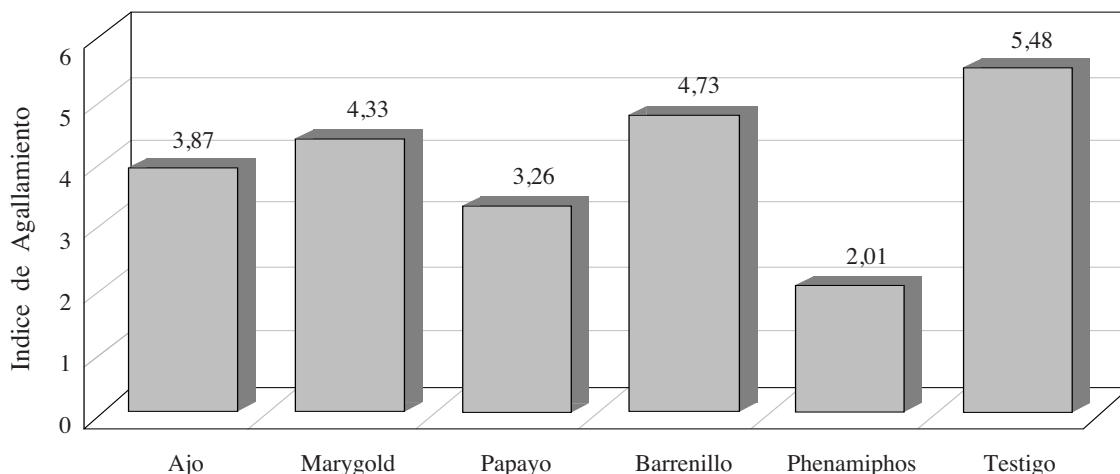
El tratamiento cuatro (pasta barrenillo) a pesar de tener un alto índice de agallamiento (4,73), su población final fue de 1771,87 (Figura 2) esto indica que los juveniles que lograron penetrar la raíz, al alimentarse ocasionaron las características típicas de los nematodos noduladores provocando de esta manera el alto índice de agallamiento pero sus actividades fisiológicas y de comportamiento pudieron ser afectadas por ciertas sustancias presentes en el extracto de barrenillo influyendo en su tasa de reproducción.

En cuanto al tratamiento dos, (Marygold) el índice de agallamiento de 4,33 fue similar al índice de agallamiento del tratamiento 4 (4,73) pero la población final sufrió un incremento, superando el inóculo inicial (Figura 2) indicando que apesar de que el marygold es una planta reportada por muchos autores como muy eficaz en el control de nematodos. En este caso no surgió el efecto esperado, sin embargo, comparando el índice de agallamiento y población final, con el tratamiento seis (testigo absoluto) el extracto de marygold ejerció algún tipo de control sobre *M. incognita*.

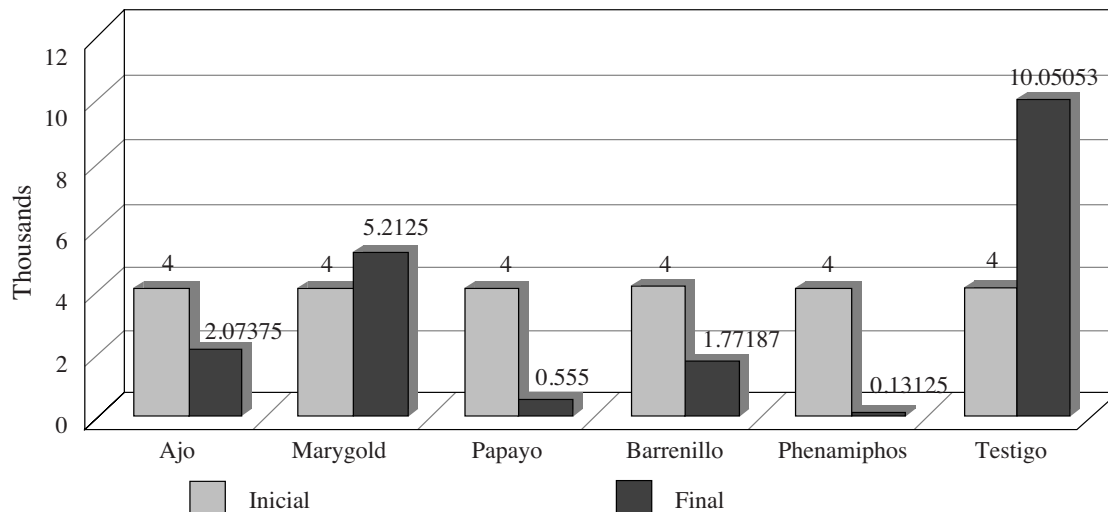
#### Fase de Laboratorio:

Durante el transcurso de las primeras dos horas en que los nematodos estaban expuestos en contacto directo con las sustancias tóxicas, el tratamiento cinco (*Phenamiphos*) fue el mejor controlador, inmovilizando el 80% de ellos, con una media de 8,25 de acuerdo al Cuadro 3.

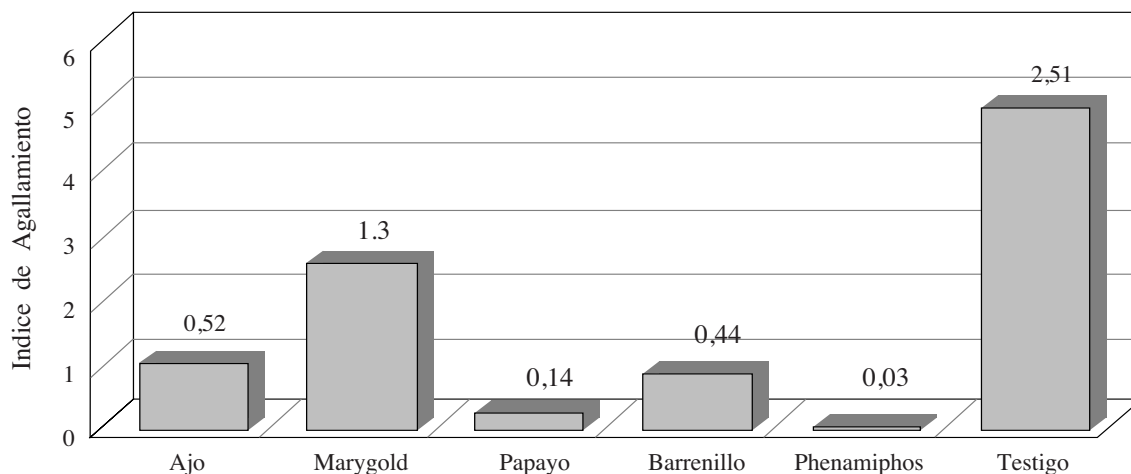
El tratamiento tres (papaya) presentó una media de 5,87, considerándose como el segundo tratamiento que mayor cantidad de juveniles había inmovilizado a ese lapso de tiempo. Transcurridas las 4 horas, ambos tratamientos mostraron una gran similitud en su comportamiento, ya que la media para el tratamiento cinco fue de 9,62 y 9,75 para el tratamiento tres, indicando que estos son los tratamientos más efectivos en el control de nematodos (Cuadro 2).



**Fig. 1.** Índice de agallamiento de *Meloidogyne incognita* en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) variedad CENTA CUSCATLECO.



**Fig. 2.** Población inicial y final de *Meloidogyne incognita* en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) variedad CENTA CUSCATLECO.



**Fig. 3.** Tasa de reproducción de *Meloidogyne incognita* en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) variedad CENTA CUSCATLECO.

El tratamiento uno (ajo) realizó un control lento, ya que redujo el 100% de juveniles hasta las 48 horas, sin embargo, a pesar que era las dosis mínimas que se utilizó en el ensayo, superó el tratamiento dos (marygold) y al tratamiento cuatro (pasto barrenillo), ya que el efecto del tratamiento 1 (ajo) surgió a partir de las primeras horas de exposición de la sustancia, no así los tratamientos dos y cuatro que a pesar de dosis altas, el inicio de su control fue retardado.

Las dosis utilizadas en el tratamiento uno (ajo) jugó un papel muy importante en el grado de eficacia del

extracto, ya que pruebas preliminares demostraron que al utilizar las mismas dosis que los tratamientos dos y cuatro aumentaba altamente el grado de mortalidad de los juveniles en un lapso de tiempo similar al producto químico, pero por problemas de toxicidad se seleccionó una dosis baja. Esto significa que la eficacia de cada tratamiento dependió en parte a la dosis utilizada de cada uno de ellos.

A las 24 horas, de acuerdo al Cuadro 4, los tratamientos dos, tres, cuatro y cinco y a las 48 horas el tratamiento uno había inmovilizado el 100% de juveni-

**Cuadro 2.** Medias de juveniles (J2) de *Meloidogyne incognita* inmovilizadas a 1 hora, 1,5 hora, 2 horas, 3 horas, después de haber sido expuestas en contacto directo con el tóxico.

Tratamiento	(X) Larvas Inmovilizadas				
	en 1H.	en 1.5 H.	en 2H.	en 3H.	en 4 H.
T1	0,00 B	0,37 B	1,12 C	2,00 B	2,50 B
T2	0,00 B	0,00 B	0,00 D	0,00 C	0,00 C
T3	0,00 B	0,00 B	5,87 B	8,75 A	9,75 A
T4	0,00 B	0,00 B	0,00 D	0,00 C	0,00 C
T5	4,62 A	7,37 A	8,25 A	8,87 A	9,62 A
T6	0,00 B	0,00 B	0,00 D	0,00 C	0,00 C

les, ya que presentaban una media general de 10, pero el someterlos al período de recuperación, en donde las sustancias tóxicas era removida de los juveniles lavándolas con agua; el tratamiento cinco (Phenamiphos) y tratamiento cuatro (pasta barrenillo) los juveniles volvieron a tener movimiento.

De acuerdo a Marban y Thomason, (1985) los productores químicos (nematicidas) actúan inhibiendo la actividad neuromuscular reduciendo con ello la capacidad de movimiento, no causan directamente la muerte de los nematodos, por esta razón a estos productos se les denomina como “nematásticos” o “nematistáticos”, al inhibir la capacidad de movimiento, inhibir al mismo tiempo otros aspectos como la infección, eclosión y alimentación, aunque así inmóviles pueden soportar prolongados períodos de hambruna, con el tiempo los nematodos así afectados mueren al agotarse sus reservas o al ser fácil presa de sus enemigos naturales, afectando de esta manera la tasa de reproducción.

En cambio en los tratamientos uno (ajo), dos (marygold) y tres (papayo) los juveniles durante el período de recuperación no revivieron por lo que se consideraron totalmente muertos (Cuadro 3).

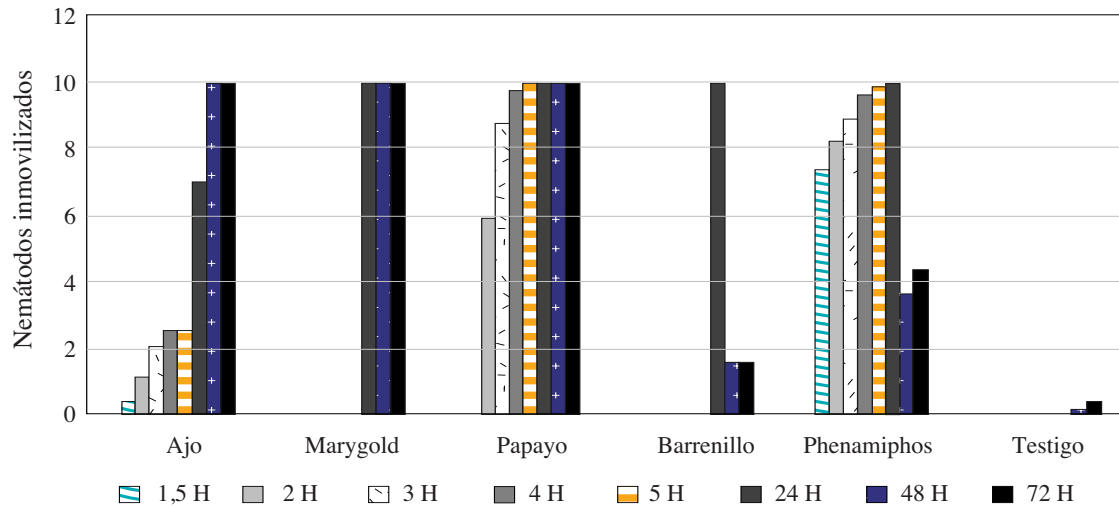
## CONCLUSIONES

- A nivel de invernadero los cuatro extractos vegetales ejercieron en mayor o menor grado control sobre *Meloidogyne incognita*, pero no lograron superar el efecto nematicida de Phenamiphos (nemacur).
- El extracto acuoso de papayo resultó ser el mejor controlador de *M. incognita* comparado con los demás extractos vegetales.
- A nivel de laboratorio los extractos de ajo, marygold y papayo ejercieron control sobre *M. incognita* siendo éste último el mejor extracto con un tiempo inmovilizador similar a Phenamiphos.
- Dosis de 35 g/maceta para los extractos de ajo y papayo resultaron tóxicos en frijol.

**Cuadro 3.** Medias de juveniles (J2) de *Meloidogyne incognita* inmovilizadas a las 5 horas, 24 horas y 48 horas después de haber sido expuestas en contacto directo con el tóxico.

Tratamientos	(X) Larvas Inmovilizadas		(X) Periodo de recuperación de Larvas	
	en 5H.	en 24H.	en 48 H.	en 72 H.
T1	2,50 B	7,00 B	10,00 A	* 10,00 A
T2	0,00 C	10,00 A	*10,00 A	* 10,00 A
T3	10,00 A	10,00 A	*10,00 A	* 10,00 A
T4	0,00 C	10,00 A	* 1,50 C	*1,50 C
T5	9,87 A	10,00 A	*3,62 B	* 4,37 B
T6	0,00 C	0,00 C	0,12 D	0,37 D

\* Medias del periodo de recuperación de juveniles a las 48 y 72 horas después de haber sido liberadas de la sustancia tóxica.



**Fig. 4.** Población de larvas (J2) de *Meloidogyne incognita* inmovilizadas bajo los efectos de diferentes extractos acuosos en laboratorio.

## LITERATURA CITADA

- BRESSANI, R. 1969. Variación en el contenido de nitrógeno Metionina, Cistina y Lisina de Selecciones de frijol XV Reunión Anual de PCCMCA. San Salvador 5 p.
- GOODEY, J.B. 1965. The nematode parasites of plants catalogued under their host. Farnham Royal, England, Comm. Agric. Bur.
- HERRERA, A.G. 1990. Determinación de patogenicidad de *Meloidogyne incognita* Raza 2 en dos variedades de soya (*Glycine max*). Departamento de Biología, Universidad de El Salvador. 59 p.
- LOPEZ, J.H. 1990. Evaluación de la resistencia de cuatro variedades de frijol común al nematodo nodulador de la raíz (*Meloidogyne*) en condiciones de invernadero. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador. 66 p.
- MANCIA, J.E. 1969. Principales plagas del frijol y su distribución en el Salvador. XV Reunión Anual del PCCMCA. San Salvador. 37 p.
- MARBAN, N. 1987. Manejo de fitonemátodos. In Memoria de los Trabajos presentados en el Seminario de Manejo de Nematodos en Hortalizas y Frutales CATIE. Panamá, p. 41-51.
- MARBAN, N.; J.I. THOMASON, J.I. 1985. Fitonematología Avanzada. I. Colegio Post. Graduados, Montecillos, México. 345 pp.
- MARBAN, N. 1992. Dosificación de extractos botánicos. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. CATIE. (Comunicación personal).
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. 1987. Almanaque salvadoreño. Centro de Recursos Naturales, Servicios de Meteorología e Hidrología. San Salvador. 96 pp.