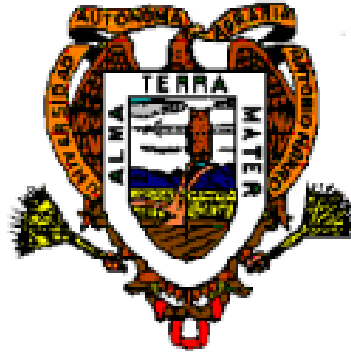


**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**DIVISION DE AGRONOMIA**

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**



**ACTIVIDAD NEMATICIDA *in vitro* E *in vivo* DE FORMULACIONES QUITOSAN-  
*Larrea tridentata* (D.C.) COVILLE CONTRA EL NEMATODO FALSO  
NODULADOR *Nacobbus aberrans* (THORNE, 1935) THORNE & ALLEN, 1944.**

**Por:**

***FRANCISCO PEÑA RODRIGUEZ***

**T E S I S**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.**

**Diciembre de 2003.**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO  
DIVISION DE AGRONOMIA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

**ACTIVIDAD NEMATICIDA *in vitro* E *in vivo* DE FORMULACIONES QUITOSAN-  
*Larrea tridentata* (D.C.) COVILLE CONTRA EL NEMATODO FALSO  
NODULADOR *Nacobbus aberrans* (THORNE, 1935) THORNE & ALLEN, 1944**

**Presentada Por:**

***FRANCISCO PEÑA RODRIGUEZ***

**T E S I S**

**Que somete a consideración del H. Jurado examinador como requisito parcial para  
obtener el título de:**

**INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO**

**Aprobada  
Presidente del jurado**

---

**Dr. Melchor Cepeda Siller**

**Vocal**

**Vocal**

---

**Dr. Ricardo Hugo Lira Saldivar  
Director de Tesis (CIQA)**

---

**Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo**

**COORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA**

---

**M.C. Arnoldo Oyervides García**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México  
Diciembre de 2003.**

## DEDICATORIA

Con el más sincero amor, respeto y admiración

A mis padres:

**Sr. Luis Peña Rayas        &  
Sra.                                Cresenciana  
Rodríguez Pérez**

Por darme la vida y parte de la suya, por todo el apoyo incondicional que a lo largo de mi carrera supieron brindar y por los sabios consejos que mi camino supieron guiar, les agradezco mucho a los dos y para ustedes dedico esta Tesis con gran orgullo y dedicación. Gracias por ser los mejores padres del mundo y por darme su confianza y su cariño. Que Dios los bendiga hoy y siempre.

A mis hermanos:

**José Juan  
María del Pilar  
María Guadalupe  
José Luis**

Por impulsarme en los momentos más difíciles, gracias por darme toda su confianza y apoyo moral. Gracias por su cariño, por su gran amistad y hermanadad.

A mis cuñada(o)s:

**Julieta,        Juan Manuel        &        Ruth Noemi**

A mis sobrinos:

**José Edgar, Manuel, Carlos & Juis**  
**Dario**

Con cariño para ustedes, porque son la alegría en la familia.

A todos mis familiares que de alguna forma u otra me dieron siempre su apoyo para poder continuar y lograr culminar esta gran etapa de mi vida, Gracias por todo lo bueno que me han dejado.

Gracias a ti **Gloria** por ese gran amor invaluable que me has dado, por esa comprensión tan valiosa que siempre he necesitado y por todos los bellos momentos que juntos hemos pasado.

A todos, mil Gracias.....

## AGRADECIMIENTOS

A mi **Alma Mater** por abrirme las puertas al conocimiento y al saber, por darme las herramientas necesarias para triunfar y poder crecer.

Al **Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA)**. Por todo el apoyo económico y la oportunidad para realizar el presente trabajo.

Al **Dr. R. Hugo Lira Saldivar** Por la dirección en el desarrollo de este trabajo de investigación y por todo el apoyo desinteresado que me ha brindado, así como esa gran amistad que siempre ha demostrado. Gracias.

Al **M.C. Francisco Franco Navarro** por su entusiasta aportación e importante colaboración para dirigir y asesorar la realización del presente trabajo; perteneciente al Instituto de Fitosanidad del Colegio de Posgraduados, ya que con su participación se logró la vinculación interinstitucional entre la UAAAN, el CIQA y el CP.

Al **Dr. Melchor Cepeda Siller**. Por el tiempo empleado y participar como asesor y revisor de este trabajo de investigación.

Al **Dr. F. Daniel Hernández Castillo** por su valiosa participación, asesoría y dedicación en la revisión de este trabajo de investigación.

A **Victor J.P.** por ser un gran compañero y amigo durante esta estancia en la Universidad.

A mis amigos y compañeros de la generación XCV de Ingenieros Agrónomos Parasitólogos **Juan Pablo, Ramiro, Tere, Andres y Fabian** por compartir su gran amistad así como los momentos mas grandes que durante nuestra estancia siempre supimos disfrutar. A los Q.F.B. Miriam, Irma y José Luis; Madelyne S. gracias por su amistad y apoyo en la realización de este trabajo.

## INDICE DE CONTENIDO

	<b>Página</b>
INDICE DE CUADROS .....	viii
INDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE.....	x
INDICE DE FIGURAS .....	xi
INTRODUCCION .....	1
OBJETIVOS .....	3
REVISION DE LITERATURA .....	4
Generalidades del nematodo falso nodulador <i>Nacobbus aberrans</i> .....	4
Antecedentes Históricos del Nematodo Falso Nodulador.....	4
Clasificación Taxonómica .....	5
Distribución Geográfica Mundial.....	5
Distribución Geográfica de <i>N. aberrans</i> en México .....	7
Hospederos .....	7
Biología de <i>N. aberrans</i> .....	7
Morfología .....	10
Importancia Económica.....	13
Sintomatología y Daños .....	14
Control del Nematodo Falso Nodulador.....	14

Generalidades del Quitosán .....	16
Origen .....	16
Usos y aplicaciones .....	16
Generalidades de la gobernadora ( <i>Larrea tridentata</i> ).....	18
Descripción de <i>Larrea tridentata</i> .....	18
Distribución Geográfica de la Gobernadora en México y sur de Estados Unidos .....	19
Usos y Aplicaciones de <i>Larrea tridentata</i> .....	19
MATERIALES Y METODOS .....	23
Muestreo para la extracción del inóculo .....	23
Bionsayo <i>in vitro</i> .....	23
Extracción del Inóculo de <i>Nacobbus aberrans</i> .....	24
Elaboración de los tratamientos con los Bioproductos.....	25
Preparación de los Tratamientos de Quitosán.....	25
Preparación de los Tratamientos de <i>Larrea tridentata</i> .....	25
Bioensayo <i>in vivo</i> .....	26
Transplante de las Plantas de Tomate a Macetas con Suelo Naturalmente Infestado con <i>N. aberrans</i> .....	27
RESULTADOS Y DISCUSION .....	31
CONCLUSIONES .....	40
LITERATURA CITADA .....	41
RESUMEN .....	48
ABSTRACT.....	50

APENDICE .....	51
----------------	----

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Características morfométricas de poblaciones encontradas en Saltillo, Coah. del nematodo falso agallador <i>Nacobbus aberrans</i> , .....	13
2. Tratamientos empleados en el bioensayo <i>in vitro</i> con las formulaciones Quitosán - <i>L. tridentata</i> y <i>L. tridentata</i> sola contra el nematodo falso nodulador <i>Nacobbus aberrans</i> .....	24
3. Tratamientos empleados en el bioensayo <i>in vivo</i> con platas de tomate cv. Rio Grande con las formulaciones Quitosán- <i>L. tridentata</i> y <i>L. tridentata</i> sola utilizados en macetas con suelo naturalmente infestado con <i>Nacobbus aberrans</i> .....	27
4. Comparación de medias del porcentaje de inmovilización de los J2 de <i>N. aberrans</i> con mezclas de Quitosán - <i>Larrea tridentata</i> y dosis de extractos metanólicos de <i>L. tridentata</i> .....	31
5. Comparación de medias del porcentaje de eclosión de huevecillos de <i>N. aberrans</i> con extractos hidrosoluble de <i>L. tridentata</i> .....	32
6. Comparación de medias del porcentaje de inmovilidad de los J2 de <i>N. aberrans</i> con extractos sódicos de <i>L. tridentata</i> .....	33
7. Comparación de medias del porcentaje de eclosión de huevecillos de <i>N. aberrans</i> con mezclas de Quitosán- <i>L. tridentata</i> y dosis de extractos sódicos de	



<i>L. tridentata</i> .....	35
8. Comparación de medias del índice de agallamiento en plántulas de tomate sometidas a tratamientos de extractos de <i>L. tridentata</i> y soluciones de Quitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con <i>N. aberrans</i> .....	36
9. Comparación de medias del peso fresco (gr) de raíz de plántulas de tomate sometidas A tratamientos de extractos de <i>L. tridentata</i> y soluciones de Quitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con <i>N. aberrans</i> .....	38
10. Comparación de medias del peso seco del follaje (gr) de plántulas de tomate sometidas a tratamientos de extractos de <i>L. tridentata</i> y soluciones de Quitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con <i>N. aberrans</i> .....	39

## INDICE DE CUADROS DEL APENDICE

Cuadro	Página
1. Análisis de varianza de la inmovilidad de nematodos J2 de <i>N. aberrans</i> sometidos a diversas formulaciones Quitosán- <i>L. tridentata</i> (a las 24 hr).....	52
2. Análisis de varianza de la eclosión de nematodos de <i>N. aberrans</i> sometidos a Diversas formulaciones Quitosán- <i>L. tridentata</i> (a las 264 hr).....	52
3. Análisis de varianza de la inmovilidad de nematodos J2 de <i>N. aberrans</i> sometidos a diversas dosis del extracto metanólico de <i>L. tridentata</i> (a las 72 hr).....	52
4. Análisis de varianza de la eclosión de huevecillos de nematodos J2 de <i>N. aberrans</i> sometidos a diversas dosis del extracto sódico de <i>L. tridentata</i> (a las 264 hr).....	53
5. Análisis de varianza del índice de agallamiento de tomate sometidas a tratamientos de extractos de <i>L. tridentata</i> y soluciones de Quitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con <i>N. aberrans</i> .....	53
6. Análisis de varianza del peso fresco (gr) de raíz de plántulas de tomate sometidas a tratamientos de extractos de <i>L. tridentata</i> y soluciones de Quitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con <i>N. aberrans</i> .....	53
7. Análisis de varianza del peso seco (gr) del follaje de plántulas de tomate sometidas a tratamientos de extractos de <i>L. tridentata</i> y soluciones de Quitosán en macetas	

conteniendo suelo naturalmente infestado con *N. aberrans*..... 54

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Distribución geográfica mundial de <i>Nacobbus aberrans</i> .....	6
2. Ciclo de vida de <i>Nacobbus aberrans</i> en el cultivo de la papa.....	8
3. <i>Nacobbus dorsalis</i> . A. Región anterior de hembra inmadura; B-C. Región posterior de hembra inmadura; D. Porción de huevecillos con primer estadio juvenil; E. Huevecillos con segundo estadio juvenil; F-G. Estadios tempranos de las hembras maduras; H-J. Estadios finales de hembras maduras.....	10
4. <i>Nacobbus aberrans</i> . A. Hembra inmadura; B. Región posterior de la hembra madura; C. Hembras maduras; D. Macho; E. Región anterior del macho; F. esófago del macho; G. Región posterior del macho; H. Región anterior del segundo estadio juvenil (J2); I. Región posterior de J2 .....	11
5. Estructuras químicas de quitina, Quitosán y celulosa .....	16
6. Corte transversal de un foliolo de <i>Larrea tridentata</i> que muestra la resina contenida en las células epidermales superiores e inferiores.....	17
7. Representación esquemática de los desiertos Sonorense y Chihuahuense del norte de México en donde se distribuyen las poblaciones naturales de <i>Larrea tridentata</i> .....	18

8. Carta esquemática para estimar el índice de agallamiento en raíces de plántulas de Tomate.....	28
---	----

## INTRODUCCION

Algunas solanáceas como los cultivos del tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) y el chile (*Capsicum annum* L.) en el año 2003 se establecieron una superficie de 179,639 ha, generando un monto aproximado de 13,407,178,658 pesos (SAGARPA, 2003). Así como la papa que es el producto más importante en países como Bolivia, donde el 28% de los campesinos del País producen papa, generando más de 134,000 fuentes de trabajo directo, pero incluyendo actividades indirectas se puede estimar que entre 200 a 250 mil personas se encuentran involucradas en diversas actividades en la producción de estos cultivos. Por otra parte el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), es el principal cultivo en el estado de Zacatecas ocupando una superficie sembrada de 756,830 ha, siendo el estado con mayor superficie sembrada a nivel nacional.

Sin embargo, existen muchos problemas, principalmente de tipo patológicos, que limitan la productividad de los cultivos anteriormente mencionados, que tradicionalmente han sido atribuidos a hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. y *Phytophthora capsici*, entre otros. Sin embargo, recientemente se han encontrado plantas enfermas de diferentes cultivos con síntomas característicos de ataques por nematodos en algunas áreas de los estados donde se siembran los cultivos antes mencionados. El nematodo conocido como falso nodulador de la raíz *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944. Es también uno de los principales factores limitantes de la producción de tomate en los estados de Sinaloa, Baja California Norte y San Luis Potosí; de Chile en los estados de Aguascalientes, San Luis Potosí; y frijol en el estado de Zacatecas principalmente, ya que produce una enfermedad conocida como la jicamilla, que es la más importante en estos cultivos en el estado de Puebla.

Una de las estrategias mas empleadas en el manejo de los nematodos ha sido el uso de

nematicidas, sin embargo, además del costo elevado y ante la necesidad de atender los requisitos más estrictos sobre la inocuidad alimentaria por parte de los consumidores y exportadores, así como el interés por preservar el ambiente, es necesario implementar alternativas de control compatibles con el medio ambiente y la sanidad de los agroecosistemas tales como el control biológico y el uso de pesticidas orgánicos, no contaminantes.

Actualmente existen productos comerciales de origen natural que poseen propiedades fungicidas y nematostáticas, como lo es el Quitosán (Q) un biopolímero no tóxico, de origen natural que se obtiene por desacetilación de la quitina, siendo considerado el segundo biopolímero natural más abundante en la naturaleza (Lira, *et al.*, 2003a), es el principal componente del exoesqueleto de muchos de los animales marinos, tales como crustáceos, cangrejos, langostas, jaibas y camarones, el cual tiene aplicaciones comerciales en la industria química, para el control ambiental ya que actúan como matriz adsorbentes de iones metálicos tales como:  $Cd^{++}$ ,  $Cr^{++}$ ,  $Pb^{++}$  y otros iones presentes en efluentes acuosos, considerando los grandes volúmenes de efluentes contaminantes provenientes de la industria y minería, de alimentos, para inhibir el crecimiento de *Brettanomyces intermedius* y *Brettanomyces bruxellensis* (potentes contaminantes en destilerías y bebidas alcohólicas), biomédica y como biocida.

Por otro lado *Larrea tridentata* o gobernadora es una planta de las zonas áridas que posee una característica fitoquímica única, ya que produce una espesa resina en sus hojas y tallos, la cual le protege de la excesiva radiación solar y le ayuda a reducir la transpiración, lo que la hace muy resistente a la sequía. La resina está compuesta principalmente de una mezcla del ácido nordihidroguaiaretico (NDGA), lignanos, fenólicos, saponinas y flavonoides, que han demostrado tener propiedades inhibitorias contra hongos, insectos, bacterias, virus y nematodos, (Lira, 2003d). Dada la importancia y peligrosidad que representa el nematodo falso agallador *N. aberrans* el objetivo principal de este trabajo de investigación fué evaluar bajo condiciones de laboratorio y condiciones de invernadero los extractos de la gobernadora (*Larrea tridentata*) y el Quitosán, así como mezclas de ambos productos a diferentes concentraciones en la movilidad de nematodos juveniles y eclosión de

huevecillos de *Nacobbus aberrans*, como una alternativa más para el control de éste nematodo, de tal forma que no represente problema alguno de contaminación al medio ambiente y además como un método de control del mismo con los productos naturales de bajo impacto ambiental.

### **OBJETIVOS**

Evaluar en laboratorio bajo condiciones *in vitro* el efecto biológico de diferentes dosis de formulaciones Quitosan-*Larrea tridentata* (Q-L) y *Larrea* sola, sobre los diferentes estadios infectivos como huevecillos, J2, J3 y J4 del nematodo falso nodulador *Nacobbus aberrans*.

Determinar *in vitro* el porcentaje de nematodos J2 inmovilizados y porcentaje de eclosión de los huevecillos bajo diferentes dosis de los productos antes mencionados.

Evaluar bajo condiciones *in vivo* el efecto nematostático o nematicida de diversas formulaciones Quitosán-*Larrea tridentata* en plantitas de tomate cv. Rio Grande contra *Nacobbus aberrans*.

## REVISION DE LITERATURA

### Generalidades del nematodo falso nodulador *Nacobbus aberrans*

#### Antecedentes Históricos del Nematodo Falso Nodulador

Thorne en 1935, describió la primera especie a la que le dio el nombre de *Anguillulina aberrans* a partir muestras colectadas de plantas nativas de *Atriplex confertifolia* en las laderas desérticas del lago Utah en Estados Unidos. Después Thorne & Allen en 1944 proponen el género *Nacobbus* designado a *Nacobbus dorsalis* del Sur de California como especie tipo incluyendo además a *Anguillulina aberrans* dentro del género. En 1956 Thorne y Schuster, describieron una nueva especie, *Nacobbus batatiformis*, colectadas de remolacha azucarera provenientes de Mitchel, Nebraska, (Jatala, 1985).

Franklin (1959) descubrió que en Europa se encuentra una nueva especie de *Nacobbus* en raíces de plántulas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) que crecía en invernadero en Inglaterra y la denominó *N. serendipiticus*. Hasta el año 1970 se habían descrito 4 especies del género *Nacobbus* (*N. serendipiticus*, *N. batatiformis*, *N. dorsalis*, *N. aberrans*). Sin embargo, Sher (1970) realizó una revisión del género, dejando solo dos especies, *N. dorsalis* y *N. aberrans*, y hace mención que estas dos especies son fácil de distinguir por las siguientes características:

*N. dorsalis*, es un nematodo que se identifica por el número de las anulaciones que varía de 8 a 14 entre la vulva y el ano esto se observa mejor en las hembras inmaduras (Fig. 2), la posición de la vulva en las hembras inmaduras es de 94-97% y cuerpo casi esférico; la hembra madura posee una elongación en la región posterior y está llena de huevecillos, usualmente contiene los juveniles, (Franklin, 1959) citado por Manzanilla, L. *et al.*, 1999.

*N. aberrans*, por su parte presenta de 15 a 24 anulaciones entre la vulva y el ano (Fig. 3); la hembra madura tiene forma de huso y retiene los huevecillos en la región posterior del cuerpo únicamente, (Franklin, 1959), citado por Manzanilla, L., *et al.*, 1999.

### **Clasificación Taxonómica**

Reino.....Animal  
Phylum.....Nematoda  
Clase..... Secernentea  
Orden.....Tylenchida  
Suborden.....Tylenchina  
Familia.....Pratylenchidae  
Subfamilia....Nacobbinae  
Género.....*Nacobbus*  
Especie..... *aberrans*

### **Distribución Geográfica Mundial**

De acuerdo a la información recavada y publicada recientemente por Manzanilla-López *et al* (2002), *N. aberrans* ha sido encontrado asociado a numerosos cultivos y plantas nativas en áreas templadas y subtropicales de América del Norte y Sud-América. En Norteamérica, ha sido reportado en USA y México. En los Estados Unidos ataca a la remolacha azucarera, otros cultivos hortícolas y diversas malezas hospederas, pero no se ha reportado en el cultivo de la papa; esta localizado en los estados del centro y Noreste, específicamente en Arkansas, Colorado, Kansas, Montana, Nebraska, Sur de Dakota, Utah y Wyoming (Caveness, 1959 citado por Robbins, 1982).

Jatala, 1985c, menciona que *N. aberrans* se encuentra distribuido en America del Norte, en los Estados Unidos y México; en América del sur se encuentra en Argentina, Bolivia, Ecuador, Perú y Chile; en Asia únicamente en la India, (Fig. 1). Franklin, 1959 por su parte menciona que *N. aberrans* se encuentra en Europa distribuido en el Reino Unido



afectando seriamente al cultivo del tomate.

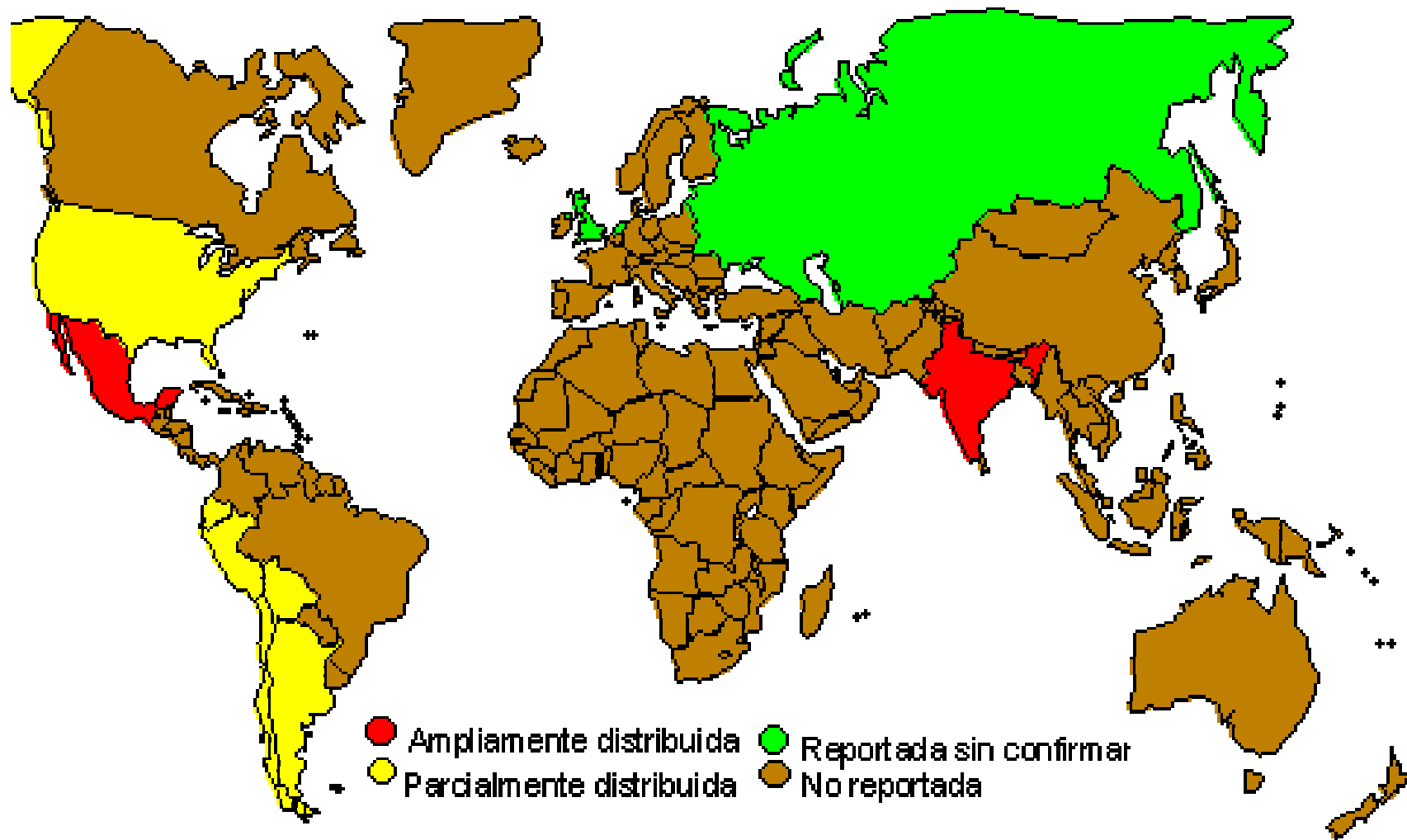


Figura 1. Distribución geográfica mundial de *Nacobbus aberrans*, (Adaptada de la EPPO, corregida por Jatala, 1985c).

## **Distribución Geográfica de *N. aberrans* en México**

*N. aberrans* se localiza en los estados de Oaxaca, Coahuila, Estado de México, Hidalgo, Morelos, Puebla, San Luis Potosí, Guanajuato, Zacatecas y Tlaxcala (Cid del Prado 1993). Se encuentra asociado principalmente a los cultivos de chile (*Capsicum annum* L.), tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

## **Hospederos**

Franco *et al.*, (1999) mencionan que *N. aberrans* es un parásito restringido al cultivo de papa y del tomate, sin embargo, posee una cantidad mayor de hospedantes que comprenden 17 familias, con 69 especies cultivadas y no cultivadas o malezas.

Montoya (1994) determinó el rango de hospederos del nematodo falso nodulador en algunos municipio de Zacatecas, encontrando que la acelga, lechuga, pepino, melón, calabaza, chícharo, sandía y repollo, son susceptibles de mayor a menor grado; Mientras que la cebolla, coliflor, chile mirasol, rábano, chile tampiqueño, jitomate, papa, y zanahoria resultaron inmunes al agallamiento por *N. aberrans*. Algunas malezas que resultaron hospederas (mostraron agallas) de acuerdo con este trabajo fueron: verdolaga de puerco (*Alternanthera repens*), quelite morado (*Amaranthus hybridus*), mala mujer (*Solanum rostratum*), trompillo (*Solanum elaeagnifolium*), quesitos (*Malva parviflora*), amarradora (*Convolvulus equitans*, alfilerillo (*Erodium cicutarium*), quelite cenizo (*Chenopodium album*), y maromera (*Salsola iberica*).

## **Biología de *N. aberrans***

De acuerdo con Thorne y Schuster (1956), citado por Clark en 1967 dice que el ciclo empieza cuando las hembras secretan la matriz gelatinosa y ponen los huevos en ella. Después de completar su desarrollo embrionario, el primer estadio juvenil (J1) muda dentro del huevo y eclosiona como segundo estadio juvenil (J2), el cual penetra a la raíz donde puede permanecer, salir y reinfectar a la raíz. El J2 muda en la raíz al tercer estadio juvenil

(J3), el cual es menos activo y se localiza frecuentemente enrollado en la corteza de la raíz. La muda del cuarto estadio juvenil femenino (J4) ocurre en la corteza, después de la cual las hembras inmaduras vermiformes se establecen cerca del cilindro vascular induciendo la formación de agallas radicales, dentro de las cuales se localizan las hembras endoparásitas sedentarias que producen los huevos y los depositan hacia la superficie de la raíz a través de un pequeño canal (Clark, 1967). Se considera que los machos migran en la raíz para localizar a las hembras y fertilizarlas (Manzanilla-López, *et al.*, 1997).

Dado que esta especie ataca un gran número de importantes cultivos agrícolas, causando agallas sobre las raíces, similares a aquellas producidas por el género *Meloidogyne*, es posible que su diseminación sea mayor a la indicada por los datos actuales de distribución. Los estadios juveniles y hembras jóvenes son los estadios infectivos de este nematodo. Los estadios juveniles atacan raíces y generalmente no causan agallas. Luego de su penetración, la presencia de necrosis en el tejido cortical se torna evidente. Los nematodos mudan, pudiendo o no atravesar por un periodo de quiescencia. Esto es aparentemente dependiendo del hospedante y de la temperatura. Una vez que las hembras inmaduras se forman, pueden salir del tejido radicular, atacar raíces adyacentes o migrar dentro del tejido radicular y establecerse, causando agallas radiculares. Aunque el proceso de migración interna puede ocurrir, parece ser ocasional. Las hembras inmaduras penetran a las raíces causando necrosis inicial seguida de formación de agallas (Jatala, 1979a).

El ciclo de vida de *N. aberrans* de un estadio juvenil a otro puede ocurrir entre 35 a 90 días y es dependiente de la temperatura y del hospedante. Aparentemente, *N. aberrans* puede soportar condiciones adversas de suelo, incluyendo humedad extremadamente baja del suelo (1%). Esto unido a su amplia gama de hospedantes y adaptabilidad a la temperatura hace de este nematodo una importante plaga, sujeta a estrictas condiciones de regulación (Jatala, 1979a).

En pruebas de laboratorio, Jatala y Kaltesbach (1979b) mostraron que *N. aberrans* sobrevivió luego de 4 meses en raíces y suelos infestados a -13° C, y 8 meses en suelos desecados (7-9% HR).



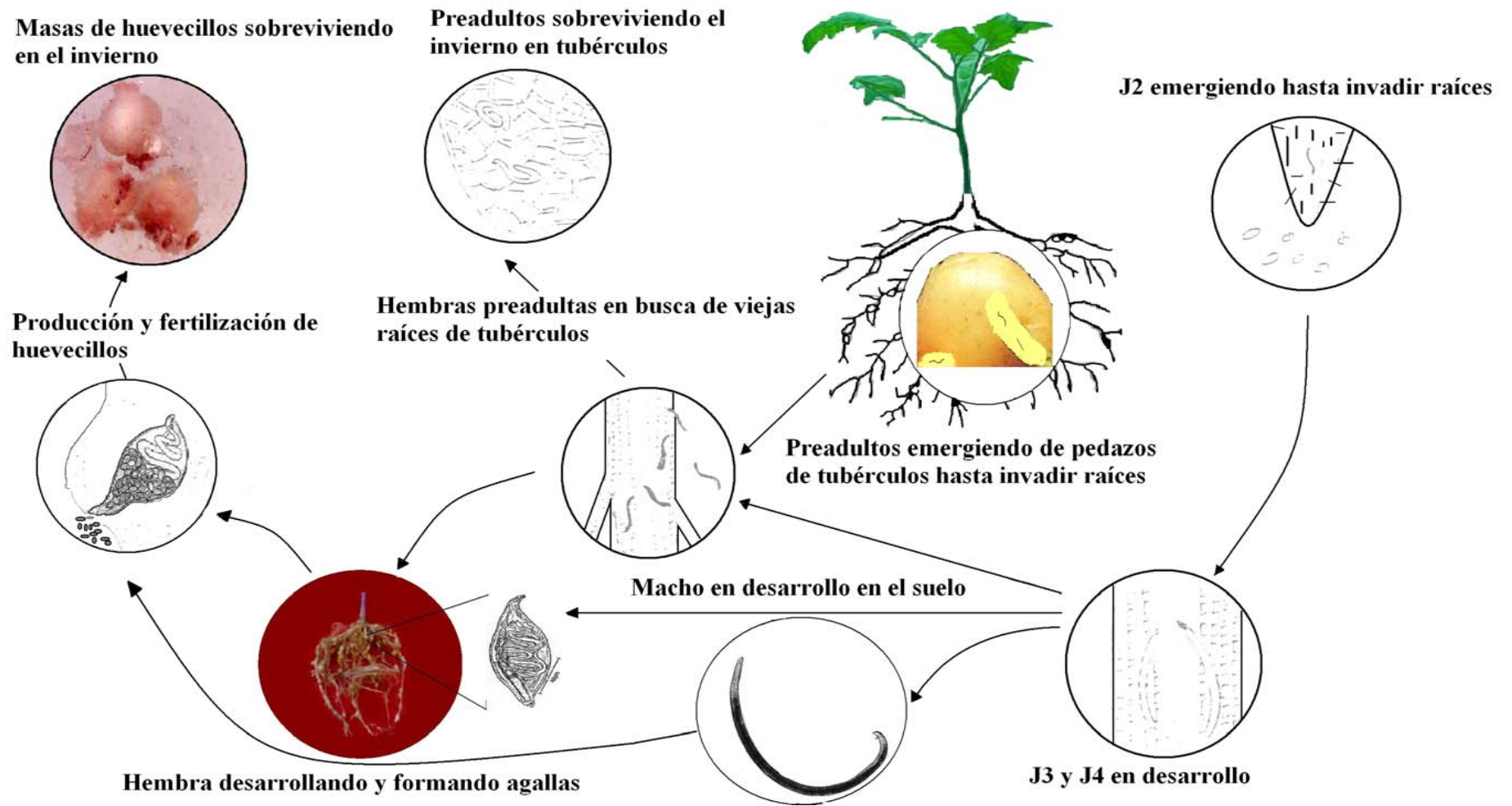


Figura 2. Ciclo de vida de *Nacobbus aberrans* en el cultivo de la papa (Versión del autor adaptada de .Nickle, 1984).

## Morfología

El género *Nacobbus* se caracteriza por la presencia de un solo ovario en las hembras (dos en *Meloidogyne*) y una distintiva bursa pequeña en los machos. La hembra inmadura es vermiforme. La cola de estas hembras inmaduras y la de los estadio juveniles es redondeada y muy similar a la de *Pratylenchus* spp., a diferencia de *Meloidogyne* que es puntiaguda. Las hembras inmaduras en las agallas radiculares son fusiformes con la parte posterior puntiaguda. (Sher, 1970).

Sher (1970) describe a *N. aberrans* de la siguiente manera: el nematodo falso nodulador se caracteriza por presentar dimorfismo sexual muy marcado, las hembras en su estado adulto son abultadas en su parte media, la parte anterior forma un cuello y la parte posterior es más o menos alargada; las cuales miden alrededor de 1 mm y son sedentarias. Las hembras inmaduras son migratorias y tanto en el suelo como en las raíces extraídas presentan su cuerpo vermiforme. La región labial es hemisférica con 3 a 4 anulaciones, los nódulos del estilete son redondeados. El bulbo medio esta bien desarrollado con la vulva grandemente conspicua. Cola redondeada con 10 a 17 anulaciones. Miden de 0.84 mm de longitud y su estilete alrededor de 22 micras.

Los machos son también vermiformes; la región labial es muy grande en proporción con el tamaño del cuerpo. El esqueleto cefálico es ligeramente esclerotizado, con estilete de 21 micras de longitud, gobernáculo simple envuelto por una Bursa terminal, fasmidios presentes localizados a la mitad del espacio entre la espícula y la cola. Los juveniles pasan su primer estadio en los huevecillos dentro de las hembras. El esqueleto cefálico, estilete, esófago y anulaciones del cuerpo no están aún desarrollados. La cola es redonda. El segundo estadio juvenil que puede encontrarse dentro del huevecillo o libre en el suelo ya presenta bien desarrollado el esqueleto cefálico, el esófago y las anulaciones del cuerpo.

Algunas de las características morfométricas de poblaciones de *N. aberrans* de la región papera de Coahuila descritos por Manzanilla, L. *et al.*, (1999) se presentan en el Cuadro 1.

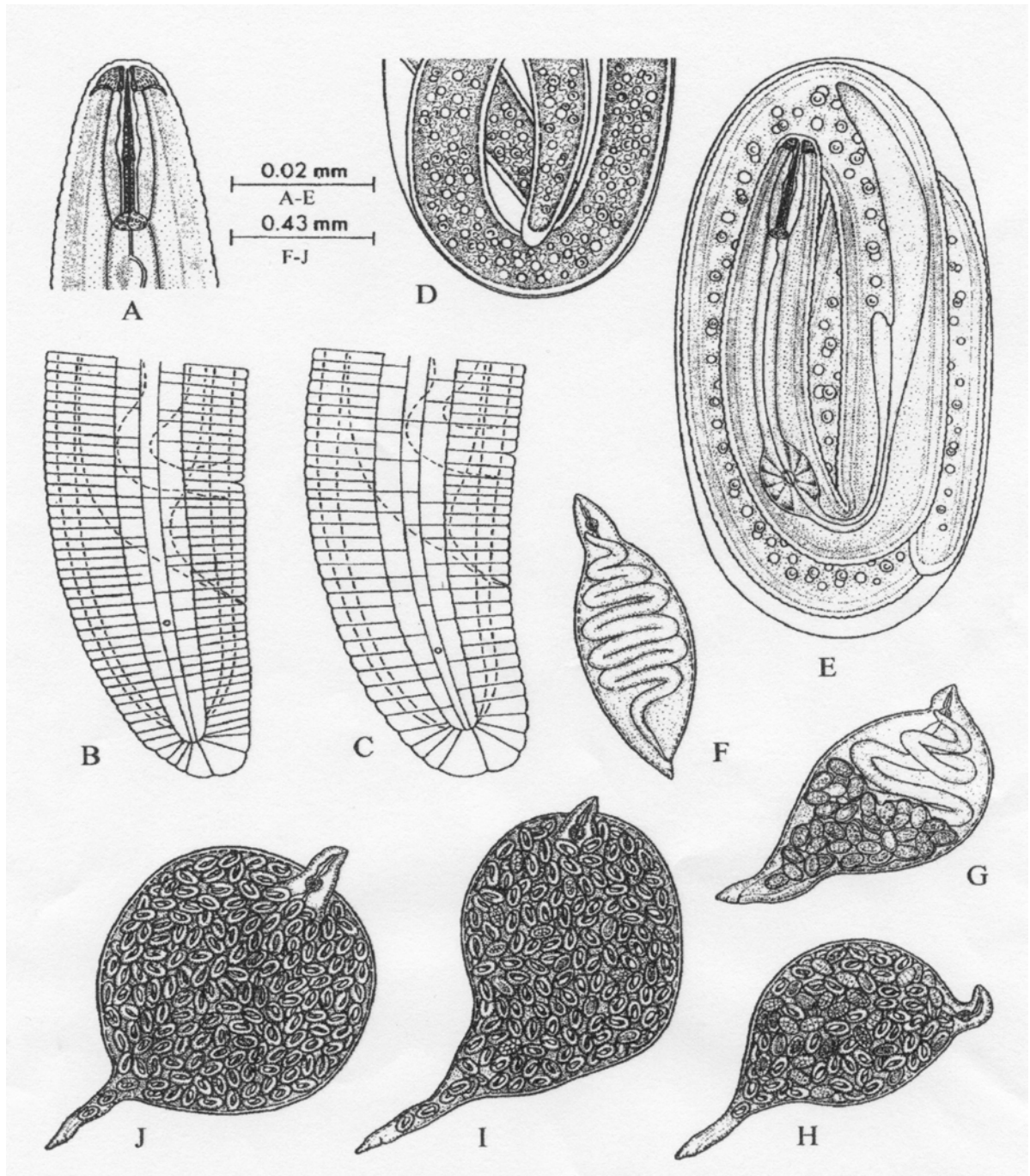


Figura 3. *Nacobbus dorsalis* (Sher, 1970). A. Región anterior de hembra inmadura; B-C. Región posterior de hembra inmadura; D. Porción de huevecillos con primer estadio juvenil; E. Huevecillos con segundo estadio juvenil; F-G. Estadios tempranos de las hembras maduras; H-J. Estadios finales de hembras maduras. (Manzanilla, L. *et al.*, 2002).



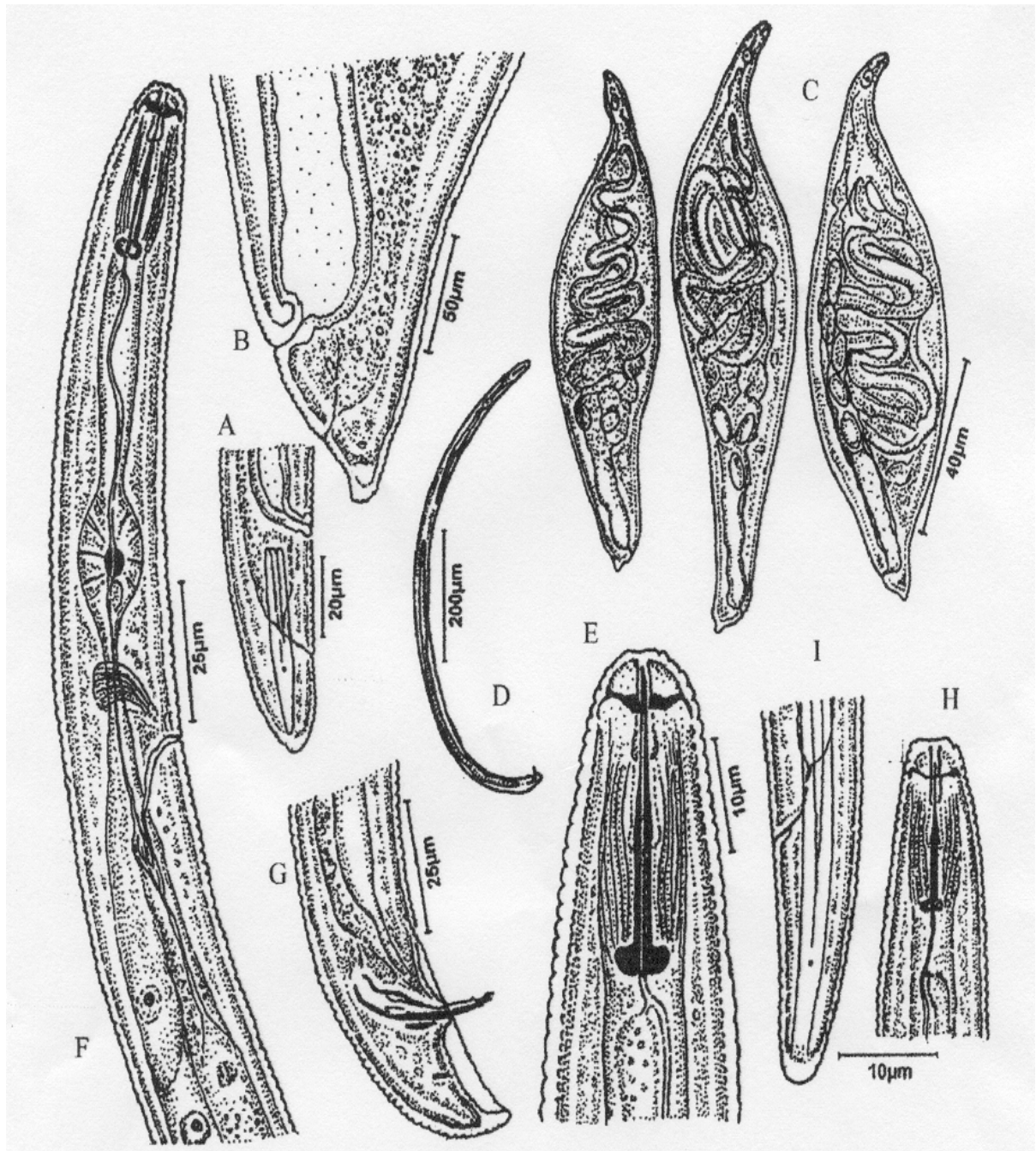


Figura 4. *Nacobbus aberrans*. A. Hembra inmadura; B. Región posterior de la hembra madura; C. Hembras maduras; D. Macho; E. Región anterior del macho; F. esófago del macho; G. Región posterior del macho; H. Región anterior del segundo estadio juvenil (J2); I. Región posterior de J2. (Manzanilla, L., *et al.*, 2002).

Cuadro 1. Características morfométricas de poblaciones encontradas en Saltillo, Coah. del nematodo falso agallador *Nacobbus aberrans*, (Manzanilla, L. *et al.*, 1999)

Estados de desarrollo	Longitud del Estilete	* Longitud del cuerpo	Diámetro del cuerpo	Apertura de la Glándula Faringeal (AGF)	Otras
Hembra	23 ± 1	863 ± 83	28 ± 2	2 ± 0.7	Dist.vulva/ano
J2	14 ± 1	282 ± 20	15 ± 1	2 ± 0.5	33 ± 4
Macho	29 ± 2	1022 ± 124	36 ± 6	2 ± 1	Espícula 31 ± 4

\* Todas las dimensiones están dadas en micras.

### Importancia Económica de *N. aberrans*

La importancia de este nematodo falso nodulador radica en que posee una alta capacidad reproductiva y un amplio rango de hospedantes, que lo convierten en una plaga importante y difícil de controlar, ya que en condiciones ambientales adecuadas una hembra tiene la capacidad de producir cientos de huevecillos (Manzanilla-López, 1997). Produciendo además una enfermedad conocida como jicamilla en los cultivos más importantes del estado de Puebla como lo son el chile, tomate y frijol en Zacatecas.

En México, Zamudio (1987) reporto en tomate una intensidad de daño del 50-100%, así mismo las pérdidas estimadas que ocasiona en el tomate son del 50 al 70% en Tecamachalco, Pue. (Cid del Prado *et al*, 1997). En Argentina y Sur de Perú disminuye el rendimiento en el cultivo de papa en un 90% en parcelas altamente infestadas (Costilla, 1985) y se le encuentra distribuido desde nivel del mar hasta los 4000 msnm.

Hernández *et al.*, 1990, determinaron que *N. aberrans* provoca el rompimiento de la resistencia a *Phytophthora capsici* en el cultivo de chile entre los materiales resistentes a este hongo se encuentran los genotipos Ancho-226 y Ancho-227.

Franco *et al.* (1999), reportan que luego de coleccionar y sistematizar toda la información contenida en la documentación disponible sobre la distribución (incidencia) y pérdidas en el rendimiento (severidad) causadas por *N. aberrans* y *Globodera* spp. en la producción de papa, esta fue analizada para estimar las pérdidas económicas que estos fitoparásitos ocasionan en los cultivos. Los resultados obtenidos por la extrapolación de áreas cultivadas, incidencia, severidad de daño y precio de venta de los tubérculos han permitido estimar que las pérdidas económicas en el valor bruto de la producción de papa en Bolivia alcanzan los 53'000,000 de dólares por *N. aberrans* y 13'000,000 de dólares por *Globodera* spp. la especie dominante en éste último género es *G. pallida* en relación a *G. rostochiensis*. ambas especies se encuentran más frecuentemente entre los 3500 a los 4000 msnm a diferencia de *N. aberrans* que se encuentra mayormente entre los 3000 a 4000 msnm.

### **Sintomatología y Daños**

Velásquez y González (1991), mencionan que en el campo se observan manchones de plantas con una tonalidad verde-amarillento, que contrasta marcadamente con el verde intenso del follaje de las plantas sanas. También mencionan que las plantas enfermas son chaparras con sus hojas amarillas, y cuando el ataque es severo las plantas presentan muy pocas hojas. Las raíces presentan agallas que miden hasta cerca de 1 cm de diámetro, de forma alargada y se agrupan uniformemente a lo largo de las raíces secundarias, dando un aspecto de rosario, lo cual es característico de esta enfermedad.

### **Control del Nematodo Falso Nodulador**

**Control cultural.** En terrenos donde se encuentran plantas con agallas, se debe seguir una rotación con cultivos que no sean susceptibles, como el maíz, trigo y avena, y no deben cultivarse plantas susceptibles por lo menos durante 5 años, así como la eliminación de malezas que son atacadas, y evitar al máximo el movimiento de gente y maquinaria, así como el manejo inadecuado del agua de riego y trabajar al último las parcelas afectadas para evitar

que se disemine a terrenos libres (Velásquez y González, 1991). Por otra parte Hernández y Manzanilla (1992), determinaron que las hortalizas que pueden ser recomendadas para la rotación son: col, lechuga, zanahoria.

En un trabajo realizado por Montecinos y Franco (1993), se encontró que nematicidas con el mismo ingrediente activo (Carbofuran) pero bajo diferentes nombres y concentraciones (Furadan 5G, Curater 10G y Carbodan 5G) fueron comparados por su efecto sobre *N. Aberrans* en el cultivo de papa de las variedades Waycha (subesp. Andigena) y Alpha (Subesp. Tuberosa), en un suelo altamente infestada con *N. Aberrans*. Las tasas de multiplicación no tuvieron tasas de crecimiento significativas; esto explica que la reproducción del nematodo fue similar para ambas variedades y nematicidas. El índice de nodulación presentó diferencias significativas entre nematicidas. El rendimiento presentó diferencias estadísticas entre el promedio de los nematicidas (7.52 kg/parcela) y el Testigo (2.04 kg/parcela), los tres productos tuvieron un comportamiento similar.

Para países donde está presente *Nacobbus aberrans*, la medida más práctica es restringir la importación de suelo (como tal o acompañando plantas). Jatala (1979) considera que, la aparición de *N. aberrans* generalmente sobre o cerca de la superficie de los tubérculos, puede facilitar el control mediante tratamientos químicos o con agua caliente, pero esto permanece sin ser confirmado.

**Control biológico.-** Mendoza-de Gives *et al.*, (1994). Mencionan que en una prueba *in vitro* la capacidad atrapadora del hongo *Arthrobotrys conoides* en juveniles de segundo estadio (J2) de *N. aberrans*. Se realizaron dos experimentos. En el primero los resultados mostraron una alta eficiencia en captura (mas de 90%) a temperaturas de 18 y 25°C. En el segundo experimento, *A. conoides* presentó una alta capacidad depredadora sobre *N. aberrans* (mas del 97%).

## Generalidades del Quitosán

### Origen

El Quitosán es un biopolímero, no tóxico que se obtiene por la desacetilación parcial o total de la quitina, un polímero natural muy abundante en la naturaleza que se extrae comercialmente a partir de los caparazones de crustáceos generados como desechos de la industria pesquera, (Cabrera *et al.*, 2002).

### Usos y Aplicaciones

En un estudio realizado por Ortega *et al.* (2002) señalan que aplicaron estrés hídrico en plantas de cebolla como en lechuga tratadas con Quitosán encontrando un mayor crecimiento tanto en la cebolla como en la lechuga tratadas con el Quitosán; también sometieron plantas de tomate a la presencia de patógenos como *P. capsici* y *Fusarium oxysporum*, encontrando que las plantas de tomate tratadas con el Quitosán presentaron mayor crecimiento. Aunque fue efectivo en inducir mayor tolerancia a las dos especies de patógenos inoculadas, la mejor respuesta fue obtenida contra *P.capsici*.

La literatura reporta el uso de derivados de quitina en el control ambiental. Ellos actúan como matriz adsorbentes de iones metálicos tales como:  $Cd^{++}$ ,  $Cr^{++}$ ,  $Pb^{++}$  y otros iones presentes en efluentes acuosos. Considerando los grandes volúmenes de efluentes contaminantes provenientes de la industria y minería.

El Quitosán es un compuesto muy abundante en la naturaleza, este biopolímero es el segundo en abundancia después de la celulosa. Es biodegradable y presenta propiedades fungicidas, bactericidas, nematicidas. La estructura de los biopolímeros, quitina, Quitosán y celulosa (Fig. 4) son muy similares entre sí, ya que los tres tienen unidades repetitivas de dos grupos hidroxilos, pero además la quitina tiene un éster, el cual es convertido por desacetilación en la amina que caracteriza al Quitosán. La celulosa en cambio, solo tiene unidades con tres grupos hidroxilos.

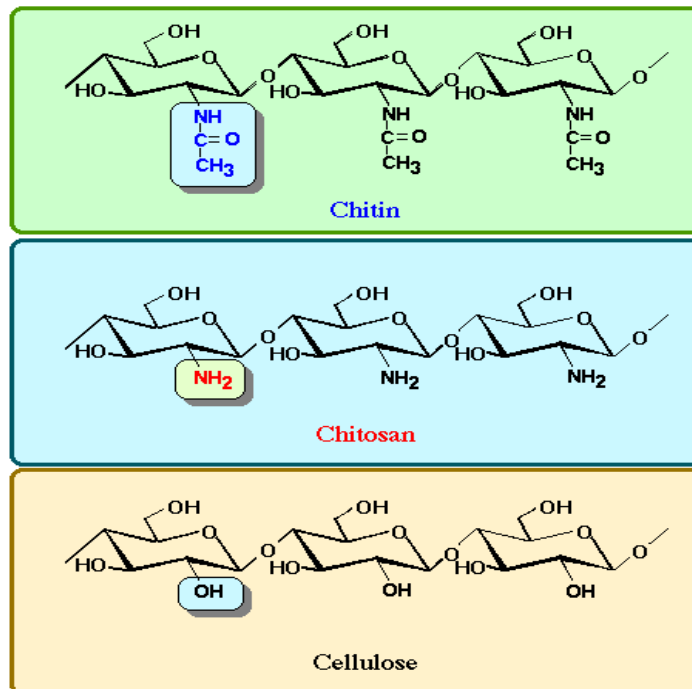


Figura 5. Estructuras químicas de quitina, Quitosán y celulosa

Gómez *et al.* (2002) evaluaron el efecto de Quitosán sobre *Sacharomyces cerevisiae* (la levadura que lleva a cabo la fermentación alcohólica), *Brettanomyces intermedius* y *Brettanomyces bruxellensis* (potentes contaminantes en destilerías y bebidas alcohólicas), encontrando que con la aplicación del Quitosán en su forma natural alargó los tiempo de fase de latencia en ambas cepas de *Brettanomyces*, desde 170 h en *B. intermedius* con 2 g/l de Quitosán y 80 h en *B. bruxellensis* con 6 g/l de Quitosán, siendo más sensible *B. intermedius*. Para el caso de *S. cerevisiae* se observó una tendencia a disminuir la velocidad de crecimiento en un 50% con 6 g/l del polisacárido, por lo que es factible el control del crecimiento de *Brettanomyces*, en presencia de *S. cerevisiae*, utilizando Quitosán.

Cárdenas *et al.* (2002), mencionan que con las propiedades encapsulantes y biocidas del Quitosán, lograron encapsular clorpirifos, imidacloprid y lamdaciahlotrina para obtener biocidas con 1-2% de ingrediente activo en microsferas; para optimizar el uso de los productos comerciales actualmente empleados y eliminar el uso de grandes cantidades de pesticidas y con ello eliminar el efecto de la dilución por lluvias y riego contaminado papas subterráneas.

## Generalidades de *Larrea tridentata* (D.C.) Coville.

### Descripción de *Larrea tridentata*

La gobernadora (*Larrea tridentata*) es una de las especies pertenecientes a la familia de las Zygophyllaceae, arbusto nativo, perenne, ecológicamente dominante en los desiertos Chihuahuense y Sonorense de Baja California y norte de México y en las zonas semiáridas del sur de California, Nuevo México, Texas y Arizona en Estados Unidos. Se estima que el 25% (500,000 km<sup>2</sup>) de la República Mexicana esta cubierta con este arbusto del semidesierto, el cual ha desarrollado diversas adaptaciones anatómicas y fisiológicas para tolerar condiciones prolongadas de sequía y altas temperaturas (Brinker, 1993).

Los arbustos de gobernadora contienen en sus hojas una espesa resina que se acumula en las células epidermales del haz y el envés de los folíolos (Fig. 5), la cual puede llegar a formar parte del 20 al 25% o más del peso seco de las hojas de esta planta (Lira, S.R.H. 2003b). El principal componente de la resina de la gobernadora como ya se menciono es el ácido nordihidroguaiaretico (NDGA), además de 19 aglicon-flavonoides y diversos lignanos, así como algunas saponinas y ceras (Brinker, 1993).

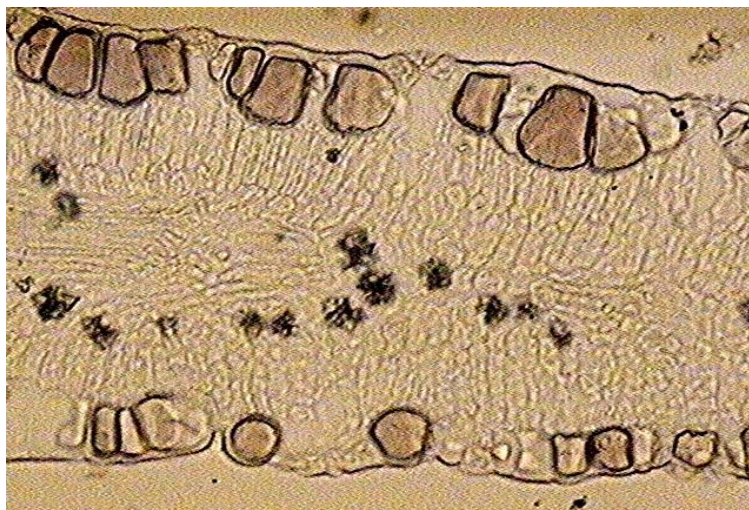


Figura 6. Corte transversal de un foliolo de *Larrea tridentata* que muestra la resina contenida en las células epidermales superiores e inferiores (Lira, S.R.H. 2003b).

## Distribución Geográfica en México de la Gobernadora en el sur de Estados Unidos

Se distribuye abundantemente en el norte de país, de la Península de Baja California a Tamaulipas e Hidalgo, a una Altitud de 400 a 1800 msnm. Por los estados de Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Chihuahua, Durango Guanajuato Hidalgo, Nuevo León, Querétaro San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas, así como en los estados de California, Arizona, Nevada, Nuevo México y Texas, en el sur de los Estados Unidos.

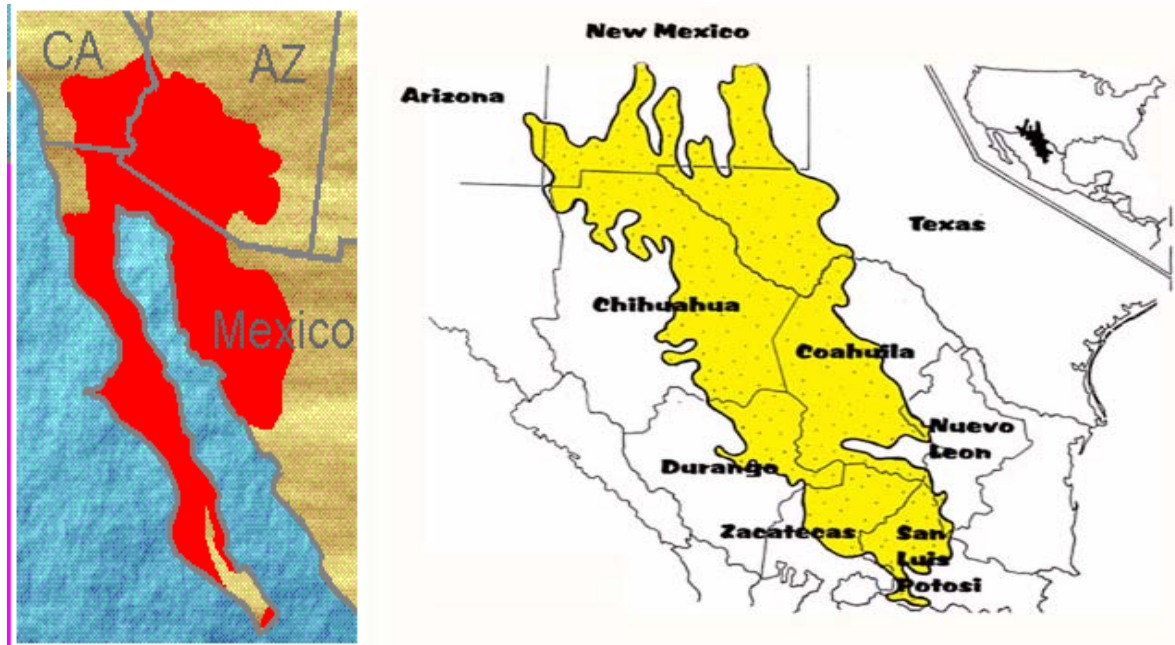


Figura 7. Representación esquemática de los desiertos Sonorense y Chihuahuense del norte de México en donde se distribuyen las poblaciones naturales de *Larrea tridentata* (Lira, *et al.*, 2003c).

### Usos y Aplicaciones de *Larrea tridentata*

En un reciente artículo (Lira, 2003d) resumió el estado actual del conocimiento de las propiedades antifúngicas y biocidas de la gobernadora, *L. tridentata* o creosote bus, la cual es una especie perenne de los desiertos chihuahuense, Sonorense y Mojave de Norteamérica.



Una característica muy distintiva de este arbusto xerófito es que sus hojas contienen una espesa resina, la cual se comporta como un antitranspirante ideal debido a que forma una barrera que disminuye más la transpiración que la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>. Además, los metabolitos secundarios de la resina entre los que destacan fenoles, lignanos y flavonoides, resultan ser defensas bioquímicas para repeler la agresión de animales herbívoros, hongos y otros microorganismos, ya que no se conocen plagas, enfermedades o animales que ataquen esta planta. Numerosos estudios han demostrado que los extractos de gobernadora tienen acción antifúngica bajo condiciones *in vitro* en al menos 17 hongos fitopatógenos de importancia económica; de igual manera, extractos y material vegetativo molido en polvo e incorporado al suelo han confirmado inhibir o controlar *in vivo* 6 hongos en cultivos agrícolas. Algunos trabajos también han consignado el efecto nematocida o nematostático de *L. tridentata* contra 9 géneros de nematodos y repelencia en un insecto.

Por otro lado, bioensayos con microorganismos que atacan a humanos han reportado que más de 45 bacterias son susceptibles a la resina de *L. tridentata* o sus constituyentes, así como 10 levaduras, 9 hongos y 3 parásitos intestinales. El efecto antiviral de la gobernadora también se han documentado, indicando que los flavonoides de la resina son activos contra virus que afectan el RNA, y que ocasionan graves enfermedades como polio, sida y herpes (Lira, 2003b).

El crecimiento micelial de *Phytophthora infestans* también fue inhibido completamente con los extractos metanólicos de *L. tridentata* obtenidos de follaje colectado en los desiertos antes mencionados (Gamboa, *et al.*, 2003c). En este estudio se encontraron diferencias estadísticas significativas en la inhibición del patógeno con los extractos de ambos desiertos, siendo más eficaces los del desierto Sonorense. Los resultados de este trabajo muestran un efecto ocasionado por la latitud de donde se colectaron las muestras del follaje, ya que los extractos provenientes de latitudes sur del D. Ch. Tuvieron una mayor acción inhibitoria sobre el hongo *P. Infestans* que los de latitudes norte. Un efecto fungitóxico sobre *Alternaria solani* de los extractos hidrosolubles etanólicos, metanólicos y clorofórmicos obtenidos de poblaciones nativas de *L. tridentata* de los D.Ch. y D.S. también fue reportada por Lira *et al.* (2003c). En este trabajo se encontró que el crecimiento micelial

del hongo fue significativamente inhibido a partir de 2000 y 4000 ppm, pero solamente logró inhibirlo totalmente con los tres extractos de ambos desiertos a la dosis de 8000 ppm.

Por otro lado, en un trabajo donde se utilizó la técnica de solarización mas la incorporación al suelo de un extracto etanólico hidrosoluble de *L. tridentata* a razón de 20 kg/ha, (Lira *et al.*, 2003b) encontraron que las raíces de plantas de chile presentaron un ligero daño por patógenos del suelo, sin embargo, en el tratamiento con solarización sin adición de extracto, las raíces de las plantas de chile mostraron un incremento de 134% en la severidad del daño. Pero en el suelo no solarizado que tampoco recibió el extracto de *L. tridentata* reportó un incremento de 567% en el daño radicular, en comparación con las plantas de parcelas solarizadas a las que se incorporaron 20 kg/ha del extracto de gobernadora.

De Anda (2003) evaluó el efecto nematicida del extracto etanólico hidrosoluble de la resina de *L. tridentata*, bajo condiciones *in vitro*, utilizando poblaciones de nematodos de los géneros *Pratylenchus*, *Meloidoyine*, *Xiphinema*, *Heterodera*, y *Globodera*, entre otros. Los nematodos se colectaron de suelos infestados de la Comarca Lagunera de Coahuila, donde se tenían encontrados los cultivos de melón, vid y nogal. En este estudio se comparó el efecto de cuatro diferentes concentraciones del extracto hidrosoluble de la resina de *L. tridentata* en soluciones acuosas, contra el nematicida Mocap.

Los resultados obtenidos por el autor antes mencionado indicaron un claro efecto nematicida al utilizar el extracto hidrosoluble de la resina de *L. tridentata*, ya que la cantidad de nematodos inmovilizados en agua destilada (testigo) fue muy baja comparada con el resto de los tratamientos. Al incrementarse las concentraciones del producto evaluado, el numero de nematodos inmóviles o muertos también se incrementó marcadamente.

Lira, *et al.*, (2003a), evaluaron mezclas de extractos de Larrea y Quitosán bajo condiciones *in vitro* contra *Fusarium oxysporum*, encontrando un claro efecto inhibitorio, tanto en el crecimiento micelial que fue del 100 % como en el grado de esporulación del hongo, a las concentraciones de 2000/1000 y 2000/2000 ppm, incluso se observó marcadamente una acción funguicida superior a la detectada por el testigo químico sintético.

Salazar *et al.*, (1992), estudiaron residuos de las plantas de Gobernadora (*Larrea tridentata* L.) y Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) en suelos infestados con *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, en la germinación y crecimiento de plantas de frijol bajo condiciones de invernadero. Este autor encontró que los residuos incrementaron la germinación de la semilla de frijol en 76 y 72% y el peso fresco de las plantas de frijol en 86.7% y 81.3% respectivamente en presencia de *Rhizoctonia solani*. La germinación de semilla aumento en 56 y 48% y el peso fresco de las plantas de frijol en 91.2 y 87.5% con la adición de residuos de Gobernadora y Epazote respectivamente, comparado con los tratamientos testigo, en donde las plantas crecieron expuestas a los patógenos y sin ninguna protección.

El efecto de la resina de gobernadora como nematicida ha sido reportado por Huerta (1986) el cual consignó las siguientes conclusiones: en pruebas *in vitro*, la resina de gobernadora presenta una tendencia para actuar como nematicida a las dosis de 100 ppm, sobre todo en los géneros *Tylenchus* spp., *Ditylenchus* spp., y *Rhabditis* spp., concluyendo que con *Pratylenchus* spp., *Aphelenchus* spp., *Helicotylenchus* spp., y *Xiphinema* spp., no hubo una consistencia en los datos, debido al bajo numero de nematodos encontrados en las muestras. Para los primeros géneros se encontró que a las dosis de 1000 y 2000 ppm el numero de nematodos se elevaba, este autor sugiere que este efecto se debe a que la resina se encuentra demasiado concentrada a estas dosis, y se forman conglomerados que no logran pasar a través de los poros del suelo, por lo tanto, no se difunde y no tiene contacto con los nematodos.

El trabajo realizado por Beltrán (2002) menciona que no se observó efecto nematicida del extracto etanólico de la resina de la gobernadora, sin embargo, los resultados muestran solo una tendencia de tal efecto.

Con base en esta información que resume una gran cantidad de estudios, queda claro el tremendo potencial que tiene este arbusto de las zonas áridas para elaborar productos orgánicos vegetales derivados de su resina, que ayuden a promover una agricultura sostenible y de menor impacto ambiental.

## **MATERIALES Y METODOS**

El experimento se llevo al cabo en dos fases, una en el Laboratorio de Nematología del Colegio de Posgraduados (CP), como ya se mencionó anteriormente bajo condiciones *in vitro*, y la otra fase en las cámaras de crecimiento bioclimaticas del Instituto de Botánica del CP bajo condiciones *in vivo* con plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) cv. Rio Grande.

### **Muestreo para la extracción del inóculo**

Todo control va a depender por una parte de la identificación del género y cantidad de nematodos existentes en el área de cultivo, lo cual se determina a través del análisis. Para que el análisis sea confiable debe ser representativo de toda la superficie y tomar las muestra a la profundidad apropiada, (Cepeda, 1995). Para este caso el muestreo fue al azar, donde se tomaron plantas de varios sitios del terreno totalmente infestado de campos experimentales del CP y se llevaron al laboratorio para la extracción de los diferentes estadios de *N. aberrans* utilizados en la prueba *in vitro* del bioensayo. Para la prueba *in vivo* se utilizó suelo naturalmente infestado de Tecamachalco, Puebla.

### **Bioensayo *in vitro***

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Nematología, en el Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados (CP), ubicado en Montecillo, Estado de México. Para realizar los estudios sobre los posibles efectos nematicidas y/o nematostáticos de *L. tridentata* o gobernadora sola, Quitosán solo y varias formulaciones Quitosán-*Larrea tridentata*, bajo condiciones *in vitro*. Se utilizó una población de nematodos extraídos de la rizósfera plantas de tomate cv. Río Grande procedentes del área agrícola de Montecillo, Estado de México, y se establecieron dos bioensayos con 4 repeticiones cada uno; en el primero se utilizó extracto Metanólico en polvo de *L. tridentata* y en el segundo extracto líquido sódico de *Larrea*. Los tratamientos realizados se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 2. Tratamientos empleados en el bioensayo *in vitro* con las formulaciones Quitosán-  
*L. tridentata* y *L. tridentata* sola contra el nematodo falso nodulador *Nacobbus*  
*aberrans*.

<b>Bioensayo 1</b>	<b>Bioensayo 2</b>
Tratamientos ( $\mu\text{L}^{-1}$ )	Tratamientos (%)
1. Testigo absoluto, sin nematicida	1. Testigo absoluto
2. Testigo químico Carbofurán (Furadán 350 L)	2. Testigo químico (Furadán 350 L)
3. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 500/1000	3. <i>Larrea tridentata</i> 20%
4. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 1000/1000	4. <i>Larrea tridentata</i> 40%
5. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 2000/1000	5. <i>Larrea tridentata</i> 60%
6. Quitosán 500	6. <i>Larrea tridentata</i> 80%
7. Quitosán 1000	7. <i>Larrea tridentata</i> 100%
8. Quitosán 2000	
9. <i>L. tridentata</i> 500	
10. <i>L. tridentata</i> 1000	
11. <i>L. tridentata</i> 2000	

### **Extracción del Inóculo de *Nacobbus aberrans***

El inóculo de masas de huevecillos, J2 y J3-J4 de *N. aberrans*, como ya se mencionó fueron extraídos de plantas de tomate cv. Río Grande cultivadas en los terrenos experimentales del Colegio de postgraduados (CP) de la siguiente manera:

Se seleccionaron las raíces con agallas mas abundantes, se cortaron y se lavaron con agua normal para remover el suelo. Las raíces se licuaron por aproximadamente 40 segundos. Se pasó el material licuado por un tamiz de 400 mallas por pulgada cuadrada para la extracción de los J2, y por un tamiz de 60 mallas por pulgada cuadrada para la extracción de los J3-J4, se agregó agua destilada para lavar los residuos de la planta de tal modo que solo quedaran suspendidos sobre el tamiz los nematodos para recolectarlos en frascos pequeños; las masas de huevecillos se extrajeron directamente de las raíces con dos agujas de disección en forma manual.

## **Elaboración de los tratamientos con los bioproductos**

### **Preparación de los Tratamientos de Quitosán**

Se preparó una solución de Quitosán a 500, 1000 y 2000 ppm, agregando 10.1 ml de ácido acético glacial al 99.9% a 90 ml de agua destilada desionizada para tenerla a una concentración del 10%, esto con la finalidad de poder diluir el Quitosán, debido al bajo grado de solubilidad que presenta en el agua pura. Se agregó 0.5 gr para 500 ppm, 1 gr para 1000 ppm y 2 gr para 2000 ppm de Quitosán comercial a la solución, y se agitó cada solución por separado durante 24 horas, posteriormente se llevó a un volumen de 1000 ml, para tenerlo diluido en ácido acético glacial al 1%. La solución se esterilizó a 121°C durante 20 minutos y se ajustó el pH a 5.6 con una solución de hidróxido de sodio (NaOH), lo anterior con base a la metodología propuesta por Romanazzi, *et al.*, (2002).

### **Preparación de los Tratamientos de *Larrea tridentata***

Para la preparación de *L.tridentata* a las concentraciones de 500, 1000, 2000 y 4000 ppm, se pesaron 0.5, 1, 2 y 4 gr respectivamente de *L. tridentata* hidrosoluble en polvo, tomando en cuenta que 1 mg equivale a 1 ppm diluída en 1000 ml de agua pura, se agitó de forma manual durante 5 minutos para obtener de esa manera las concentraciones deseadas.

Para el bioensayo *in vitro* se prepararon 11 tratamientos: 4 de ellos consistieron en mezclas Quitosán-*Larrea tridentata* (Q-L) a las dosis de: 1000-1000, 1000-2000, 2000-1000 y 2000-2000  $\mu\text{L}^{-1}$ ; 2 tratamientos de Quitosán a 1000 y 2000  $\mu\text{L}^{-1}$ , y 3 tratamientos del extracto etanólico hidrosoluble de *L. tridentata* a 1000, 2000 y 4000  $\mu\text{L}^{-1}$ . Lo anterior se realizó en cajas petri para cada uno de los estadios de *N. aberrans*, teniendo entonces 33 tratamientos con 4 repeticiones cada uno. Se colocaron 4 microsiracusas por caja petri, a las cuales se colocó al fondo un trozo de toalla de papel absorbente humedecida para mantener la humedad dentro de la caja. Cada microsiracusa tiene una capacidad de 1 ml aproximadamente, por lo que se agregaron a cada repetición 700 microlitros con una micropipeta de precisión para evitar derrames, adicionando posteriormente los nematodos

correspondientes a cada uno de los tratamientos. Se agregaron aproximadamente 20 nematodos por microsiracusa. Para el caso de los huevecillos se colocaron 2 masas por Siracusa, teniendo entonces 8 masas de huevecillos por cada tratamiento; de un conteo realizado de huevos por masa se obtuvo un promedio de 700 huevecillos, teniendo entonces aproximadamente 5600 huevecillos por cada tratamiento.

Terminada la preparación de los tratamientos se procedió a introducirlos a una incubadora regulada con una temperatura de 30°C por un periodo de tiempo de 24 horas; transcurrido el tiempo de exposición de los estadios de *N. aberrans* a los diferentes tratamientos, se realizó un lavado con agua destilada para permitir una posible recuperación de los nematodos a los tratamientos y poder medir de esa forma el efecto de las formulaciones (Q-L) sobre la inmovilización de los J2 a los 72 hr días después de la preparación de los tratamientos, y a las 264 hr después de la aplicación de los tratamientos para la eclosión de los huevecillos de *N.aberrans*. Para el bioensayo 2 se prepararon 7 tratamientos para cada uno de los estadios de *N.aberrans* utilizados en este trabajo, teniéndose así 21 tratamientos con 4 repeticiones cada uno.

### **Bioensayo *in vivo***

Esta fase se llevo a cabo en las cámaras de crecimiento bioclimaticas del Instituto de Botánica del CP con plantas de tomate cv. Rio Grande, aplicando las formulaciones Qitosán-*Larrea tridentata* y *L. tridentata* sola, analizándose los resultados bajo un diseño completamente al azar estableciéndose de esta manera 10 tratamientos con 4 repeticiones cada uno para dosis medias (200 L/ha) y dosis altas (400 L/ha) teniendo un total de 80 unidades experimentales. Cabe mencionar que los tratamientos utilizados en esta fase experimental fueron aquellos que resultaron tener mayor efecto sobre los diferentes estadios de *N. aberrans* en la prueba *in vitro*. Los tratamientos de esta fase se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Tratamientos empleados en el bioensayo *in vivo* con platas de tomate cv. Rio Grande con las formulaciones Quitosán-*L. tridentata* y *L. tridentata* sola utilizados en macetas con suelo naturalmente infestado con *Nacobbus aberrans*

Tratamientos
1. Testigo absoluto
2. Testigo químico Carbofurán (Furadán 350 L)
3. <i>L. tridentata</i> 40%
4. <i>L. tridentata</i> 60%
5. <i>L. tridentata</i> 80%
6. <i>L. tridentata</i> 100%
7. Quitosán 1000 ( $\mu\text{ L}^{-1}$ )
8. Quitosán 2000 ( $\mu\text{ L}^{-1}$ )
9. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 1000/1000 ( $\mu\text{ L}^{-1}$ )
10. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 2000/1000 ( $\mu\text{ L}^{-1}$ )

### **Transplante de las Plantas de Tomate a Macetas con Suelo Naturalmente Infestado con *N. aberrans*.**

Esta segunda etapa del estudio se desarrolló utilizando suelo naturalmente infestado, donde las altas poblaciones de *N. aberrans* afectan de manera importante al cultivo del tomate lo cual ha sido señalado por Franco *et al.*, (2002) obtenido de Tecamachalco, puebla (Franco, *et al.*, 2002) y se realizó de la siguiente forma:

La siembra de tomate cv. Rio Grande se realizó en charolas y se colocaron en el invernadero de Nematología del CP, para realizar posteriormente el transplante en macetas de 500 ml con suelo naturalmente infestado por *N. aberrans*. El transplante se realizó cuando las plantitas tenían dos hojas verdaderas; se aplicó una fertilización en almácigo dos días antes del transplante; también se humedeció el suelo un día antes. Se realizaron dos fertilizaciones



con Bayfolan a razón de 3 L/ha a los 15 y 30 días después del transplante. Con riegos cada tercer día. La aplicación de los tratamientos con las formulaciones Quitosán-*L. tridentata* y *L. tridentata* sola, se realizó un día después del transplante. Posteriormente se llevaron a una cámara bioclimática de crecimiento con temperatura controlada de 30°C, humedad relativa de 85% y un fotoperiodo de 13:11 (horas luz y oscuridad respectivamente), para favorecer la infección y desarrollo de los nematodos J3-J4, dejándolos ahí por un periodo de tiempo de 45 días para permitir la infección y desarrollo de la sintomatología típica por el ataque de este nematodo, y poder medir el efecto de las formulaciones Quitosán-*L. tridentata* sobre los nematodos en base al índice de agallamiento, peso seco del follaje y peso fresco de la raíz de las plantas de tomate.

Para estimar el índice de agallamiento por comparación, se utilizó la carta establecida por Bridge y Page (1980), la cual se representa esquemáticamente en la Fig. 7.

- 0 - Sin agallas en las raíces
- 1 - Agallas pequeñas, escasas, difíciles de encontrar
- 2 - Solamente agallas pequeñas pero claramente visibles. Las raíces principales limpias
- 3 - Algunas agallas grandes, visibles. Las raíces principales limpias
- 4 - Predominan las agallas grandes pero las raíces principales permanecen limpias
- 5 - El 50% de las raíces infestadas. Agallamientos en partes de las raíces principales. Sistema radical reducido
- 6 - Agallamiento en las raíces principales
- 7 - La mayoría de las raíces principales agalladas
- 8 - Todas las raíces principales agalladas
- 9 - Todas las raíces severamente agalladas. La planta generalmente se está muriendo
- 10 - Todas las raíces severamente agalladas. Sistema radical destruido. Generalmente la planta está muerta

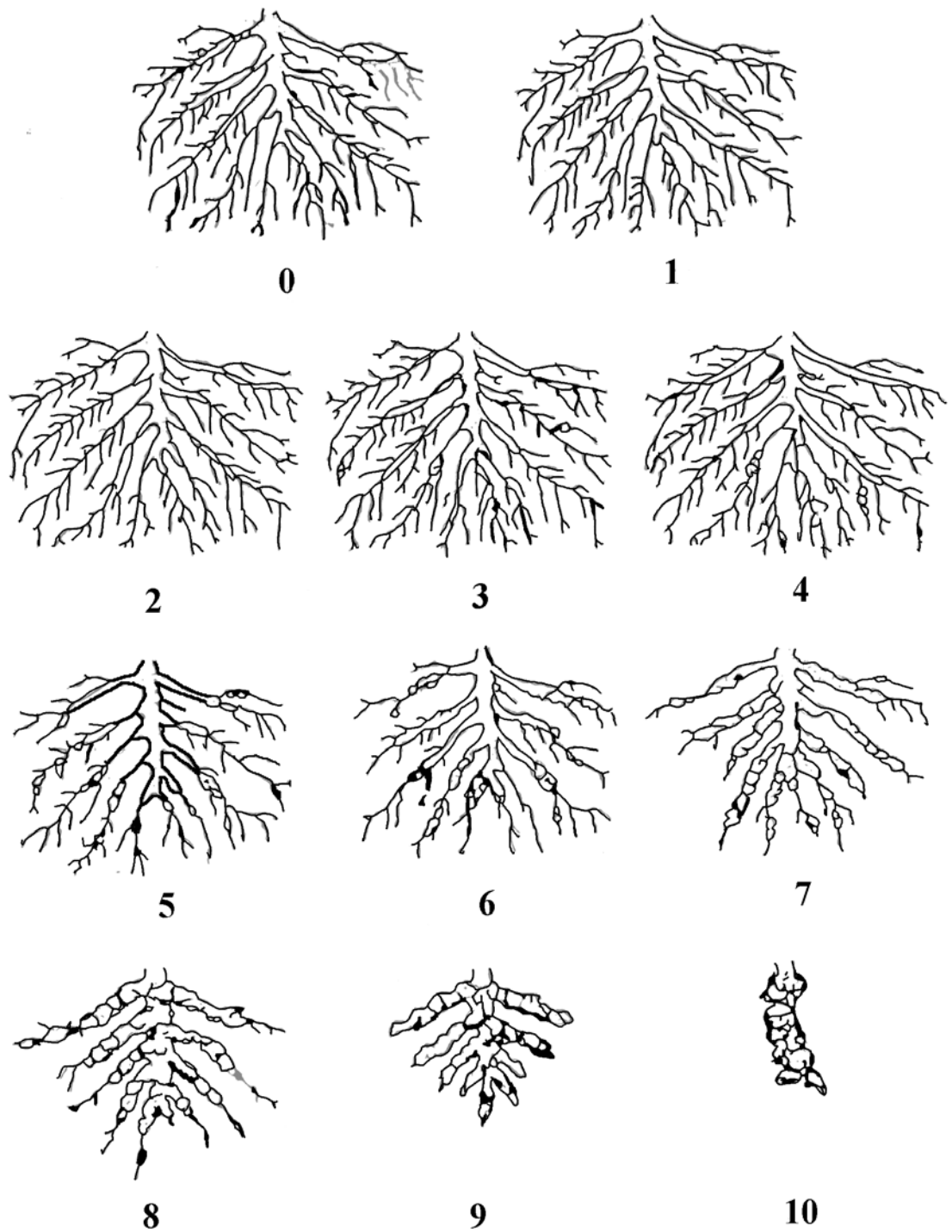


Figura 8. Carta esquemática para estimar el índice de agallamiento en raíces de plántulas de tomate (Bridge y Page, 1980).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en la primera etapa *in vitro* del bioensayo muestran en el Cuadro 4, que el testigo químico (Furadán 350 L), Quitosán 1000, Quitosán 2000, Quitosán-*L. tridentata* 1000/1000 y Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000 fueron los mejores tratamientos por mostrar un contundente efecto, ya que reportaron un 100% sobre la inmovilización de los J2 de *N. aberrans*, siendo estadísticamente iguales entre sí, seguidos por Quitosán 500 con un 73.82% de inmovilidad a las 72 hr después del lavado con agua destilada; por el contrario, los tratamientos que menos efecto mostraron en contra del nematodo falso agallador como puede apreciarse claramente en el cuadro 2 fueron, además del testigo absoluto, *L. tridentata* 500 y *L. tridentata* 1000 con tan solo un 23.20, 14.16 y 22.42 % respectivamente de inmovilidad de los juveniles.

Resultados a los aquí señalados han sido reportados por Insunza *et al.*, (2001), quienes al evaluar *in vitro* la actividad nematocida de extractos acuosos de diversas plantas sobre *Xiphinema amerucanum*, también encontraron una inmovilización significativa de nematodos de esta especie, principalmente con extractos de *Tazetes erecta*, *T. Patula* y *Zinnia elegans*.

Cuadro 4. Comparación de medias del porcentaje de inmovilización de los J2 de *N. aberrans* con los tratamientos derivados de las combinaciones Quitosán-*L. tridentata*, Quitosán y extractos metanólicos de *L. tridentata*.

Tratamientos ( $\mu\text{ L}^{-1}$ )	Medias de Tratamientos	
	24 hr	72 hr
1. Testigo absoluto ( $\text{H}_2\text{O}$ destilada)	10.29 c	23.20 c
2. Testigo químico Carbofurán (Furadán 350 L)	100.00 a	100.00 a
3. Q-L 500/1000	23.54 b	61.14 b
4. Q-L 1000/1000	100.00 a	100.00 a
5. Q-L 2000/1000	100.00 a	100.00 a
6. Q 500	90.85 a	73.82 b
7. Q 1000	99.36 a	100.00 a
8. Q 2000	100.00 a	100.00 a
9. L 500	15.93 c	14.16 c
10. L 1000	22.32 c	22.42 c
11. L 2000	66.04 b	64.45 b

Medias seguidas por letra igual, son estadísticamente iguales entre sí, (Tukey,  $\alpha = 0.01$ ).

Fue notoriamente claro que los efectos de los diferentes tratamiento aplicados sobre este estadio juvenil de *N. aberrans* por presentar un porcentaje de inmovilidad muy elevado fueron las mezclas de Quitosán-*L. tridentata* y el Quitosán por sí solo a las dosis empleadas para dicho ensayo, ya que suprimieron en su totalidad a los J2. No siendo el mismo caso para los tratamientos donde se aplicaron los extractos de *L. tridentata* sola a las concentraciones preparadas, sin embargo se observa que a las 24 y 72 hr día al aumentar la concentración de los productos orgánicos, también aumenta progresivamente el % de inmovilidad sobre los J2.

La información obtenida sobre la eclosión de huevecillos que se muestra en el cuadro 5 se puede apreciar, que a las 24 hr todos los tratamientos resultaron ser estadísticamente iguales. A las 140 hr después de realizado el lavado con agua destilada, los mejores tratamientos fueron además del testigo químico, la mezcla de las formulaciones Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000, Quitosán 500, Quitosán 1000, Quitosán 2000 y *L. tridentata* 500, ya

que no hubo diferencia entre ellos. A las 264 hr el mejor tratamiento fue el testigo químico sintético con tan solo un 0.55 % de eclosión, seguido por Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000, Quitosán 2000 y *L. tridentata*. Resultando entonces que *L. tridentata* 1000 y *L. tridentata* 2000 fueron los tratamientos que menor efecto mostraron.

Estos notables resultados muestran que realmente hubo un efecto nematostático *in vitro* del Quitosán a diferentes concentraciones y de la mezcla Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000, inhibiendo la eclosión de huevecillos, favoreciendo de esa forma a que las poblaciones de los J2 de *N. aberrans* se vean reducidas, a causa de las formulaciones empleadas en este experimento. En un reciente artículo de Chitwood (2002) se menciona que numerosas plantas tienen un amplio espectro de componentes orgánicos bioactivos, incluyendo isotiocianatos, glucosinolatos, glicoides, alcaloides, lípidos y fenoles que tienen acción nematocida. Siendo estos últimos componentes los que se encuentran en grandes concentraciones en la resina de las hojas de *L. tridentata* (brinker, 1993).

Cuadro 5. Comparación de medias del % de eclosión de huevecillos de *N. aberrans* con extractos hidrosoluble de *L. tridentata*.

Tratamientos ( $\mu\text{L}^{-1}$ )	Medias de Tratamientos		
	24 HR	140 HR	264 HR
1. Testigo absoluto ( $\text{H}_2\text{O}$ destilada)	9.25 a	28.78 abc	34.59 abcd
2. Testigo químico Carbofurán (Furadán 350 L)	0.00 a	0.35 c	0.55 d
3. Q-L 500/1000	8.80 a	33.17 abc	40.64 abc
4. Q-L 1000/1000	1.69 a	25.19 b	31.27 abcd
5. Q-L 2000/1000	0.78 a	10.60 c	13.93 cd
6. Q 500	4.84 a	14.42 c	19.39 bcd
7. Q 1000	0.19 a	13.37 c	18.31 bcd
8. Q 2000	0.05 a	5.10 c	10.82 cd
9. L 500	4.76 a	2.21 c	3.18 cd
10. L 1000	6.80 a	48.64 ab	53.98 ab
11. L 2000	7.50 a	60.83 a	65.62 a

Medias seguidas por letra igual, son estadísticamente iguales entre sí, (Tukey,  $\alpha = 0.01$ ).

En el bioensayo desarrollado con los extractos sódicos de *L. tridentata* (cuadro 6) a diferentes concentraciones se obtuvo que *L. tridentata* al 60, 80 y 100% inmovilizaron a las 24 y 72 hr después de realizado el lavado con agua destilada, en su totalidad a los juveniles de *N. aberrans*, al igual que el testigo químico, siendo estadísticamente iguales; sin embargo los tratamientos que menos efecto presentaron sobre la inmovilización de los J2 fue el de *L. tridentata* al 20% junto con el testigo absoluto, por lo tanto, a mayor concentración de los extractos líquidos de *L. tridentata* mayor es el efecto que tiene sobre la inmovilidad de los juveniles del nematodo falso agallador.

En el Cuadro 6 se observa que en el tratamiento de *L. tridentata* 40% que al tercer día después de aplicados los compuestos biodegradables, se observó una recuperación de los nematodos sometidos a los diferentes tratamientos bajando el % de inmovilización de un 96.05 % a un 71.24%, este fenómeno se debe quizás al poco tiempo de exposición de los nematodos fitoparasitos a los productos orgánicos.

Cuadro 6. Comparación de medias del % de inmovilidad de los J2 de *N. aberrans* con extractos sódicos de *L. tridentata*.

Tratamientos	Medias de Tratamientos	
	24 HR	72 HR
1. Testigo absoluto (H <sub>2</sub> O destilada)	8.37 c	7.74 c
2. Testigo químico Carbofurán (Furadan 350 L)	100.00 a	100.00 a
3. <i>L. tridentata</i> 20%	58.67 b	11.31 c
4. <i>L. tridentata</i> 40%	96.05 a	71.24 b
5. <i>L. tridentata</i> 60%	100.00 a	96.74 a
6. <i>L. tridentata</i> 80%	100.00 a	100.00 a
7. <i>L. tridentata</i> 100%	100.00 a	100.00 a

Medias seguidas por letra igual, son estadísticamente iguales entre sí, (Tukey,  $\alpha = 0.01$ ).

En el cuadro 7 se presentan los valores obtenidos sobre la eclosión de los huevecillos de *N. aberrans* notese claramente a las 24 hr que los mejores tratamientos fueron *L. tridentata* 40, *L. tridentata* 60, *L. tridentata* 80 y *L. tridentata* 100% al igual que el testigo químico presentando todos esos tratamientos 0 % de eclosión de huevecillos, siendo estadísticamente iguales entre sí, mientras que a las 72 y 274 hr los mejores tratamientos fueron *L. tridentata* 60, *L. tridentata* 80 y *L. tridentata* 100%, junto con el testigo químico; este último mostró un claro efecto inhibitorio en la eclosión de huevecillos (0%). Por otro lado *L. tridentata* al 20% reportó un 88.21 % de eclosión a las 264 hr, siendo aún superior al dato registrado por el testigo absoluto que fue de 47.84%.

Este fenómeno pudiera ser ocasionado por la baja concentración en el bioensayo *in vitro*, ya que a mayor concentración de resina de *L. tridentata*, mayor será el efecto producido según los resultados arrojados por el trabajo realizado.

Los resultados obtenidos por Oka y Yermiyahu, (2002) al estudiar el efecto supresivo de composta contra el nematodo agallador *Meloidogyne javanica* en tomate, también reportan que los extractos acuosos de estiércol bovino mostraron una actividad nematocida en juveniles de *M. javanica*, sin embargo, bajo condiciones *in vitro* su efecto en la eclosión de huevecillos fue menos claro. Ellos sugieren que la actividad nematocida de dichos extractos acuosos fue debido a las altas concentraciones de nitrógeno encontradas en la composta, especialmente de N-NH<sub>4</sub>, y a que los altos valores de conductividad eléctrica coadyuvaron el efecto supresivo sobre este nematodo.

Cuadro 7. Comparación de medias del porcentaje de eclosión de huevecillos de *N.*

*aberrans* con mezclas de Quitosán-*L. tridentata* y dosis de extractos sódicos de *L. tridentata*.

Tratamientos	Medias de Tratamientos		
	24 HR	72 HR	264 HR
1. Testigo absoluto (H <sub>2</sub> O destilada)	7.58 a	11.89 ab	47.84 b
2. Testigo químico Carbofurán (Furadan 350 L)	0.00 c	0.00 c	0.28 d
3. <i>L. tridentata</i> 20%	3.43 b	14.96 a	88.21 a
4. <i>L. tridentata</i> 40%	1.05 bc	12.62 ab	31.01 bc
5. <i>L. tridentata</i> 60%	0.34 bc	1.41 bc	9.69 cd
6. <i>L. tridentata</i> 80%	0.21 bc	0.36 c	2.39 d
7. <i>L. tridentata</i> 100%	0.23 bc	0.23 c	2.01 d

Medias seguidas por letra igual, son estadísticamente iguales entre sí, (Tukey,  $\alpha = 0.01$ ).

Los parámetros que se evaluaron para cuantificar los efectos del nematodo falso agallador durante en el desarrollo de las plantas de tomate en la segunda etapa de la fase *in vivo* son:

### **Índice de Agallamiento.**

La evaluación de este parámetro se obtuvo por comparación con la carta de índice de agallamiento establecido por (Bridge y Page, 1980). Como puede apreciarse en el Cuadro 8, la actividad nematicida de los extractos metanólicos y sódicos de *L. tridentata*, así como del Quitosán, no presentaron diferencias significativas a la dosis de 200 L/ha entre los tratamientos de *L. tridentata* 80%, *L. tridentata* 100%, Quitosán 2000, Q- *L. tridentata* 2000/1000, ya que resultaron ser significativamente iguales al testigo químico, estableciendo un valor de índice de agallamiento de 4, en el cual predominan las agallas grandes pero las raíces principales permanecen limpias. Lo cual refleja que aunque las plantas hayan presentado síntomas de agallamiento, no se ven tan afectadas durante su crecimiento y desarrollo, así como en la producción de biomasa.



Sin embargo, un efecto menos marcado sobre el desarrollo de agallas en las plántulas de tomate cv Rio Grande a la misma dosis, se observó en los tratamientos de *L. tridentata* 40%, *L. tridentata* 60%, Quitosán 1000 y Quitosán-*L. tridentata* 1000/1000. Los resultados arrojados por el análisis estadístico muestran que no hay diferencia significativa entre estos tratamientos, presentando el mismo índice de agallamiento de 7, donde la mayoría de las raíces principales resultaron agalladas por el nematodo falso nodulador.

En otro trabajo donde se evaluó la aplicación de enmiendas orgánicas para el manejo de *N. aberrans* en tomate, Franco-Navarro, *et al.*, (2002) encontraron que la incorporación de residuos de col 10 días antes del trasplante del tomate redujo significativamente el número de agallas; sin embargo, hubo muerte de algunas plantas y reducción del crecimiento debido a un efecto fitotóxico. En contraste, al incorporar las enmiendas al momento del trasplante, el agallamiento en las raíces se redujo en un 36% y 54% y en un 21% y 46% con residuos de col e higuierilla incorporados al 1% y 2% respectivamente.

Cuadro 8. Comparación de medias del índice de agallamiento en plántulas de tomate cv. Rio Grande sometidas a tratamientos de extractos de *L. tridentata* y soluciones de Quitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con *N. aberrans*

Tratamientos	Dosis (200 L/ha)	Dosis (400 L/ha)
1. Testigo absoluto (H <sub>2</sub> O destilada)	6.75 ab	6.75 ab
2. Testigo químico Carbofurán (Furadán 350 L)	4 c	4c
3. <i>L. tridentata</i> 40%	7 a	5.5 abc
4. <i>L. tridentata</i> 60%	7 a	6 ab
5. <i>L. tridentata</i> 80%	5 bc	7 a
6. <i>L. tridentata</i> 100%	5.5 abc	5.25 abc
7. Quitosán 1000 ppm	7 a	5 bc
8. Quitosán 2000 ppm	5 bc	6.25 ab
9. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 1000/1000 ppm	7 a	5.5 abc
10. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 2000/1000 ppm	5.5 abc	6 ab

Medias seguidas por letra igual, son estadísticamente iguales entre sí, (Tukey,  $\alpha = 0.01$ ).

## **Peso Fresco de la Raíz**

En relación con esta variable se efectuó la medición del peso fresco de la raíz de las plántulas debido a que fue muy aparente que con base a los tratamientos aplicados y al análisis estadístico de los mismos (Cuadro 9), se manifestó una clara y gran diferencia significativa entre tratamientos en cuanto al desarrollo radicular de las plantas de tomate cv Rio Grande. Los datos sugieren que los compuestos bioactivos tanto del Quitosán con del extracto de *L. tridentata* fueron los factores causantes de ese mayor crecimiento radicular que se observó en algunos tratamientos como al aplicar la dosis de 200 L/ha del extracto de gobernadora al 40%, ya que esta dosis reportó 3.75 gr./planta, lo cual fue superior que el peso reportado por el testigo absoluto y el químico, aunque los datos no resultaron significativamente diferentes entre sí. Este incremento en la longitud radicular y en la acumulación de biomasa de plántulas tratadas con extractos de *L. tridentata*, ya ha sido reportada en otros trabajos. Sánchez-Rivera (2002) consignó que semillas de frijol pinto villa y bayo Zacatecas sometidos a extractos de gobernadora produjeron plántulas con marcada elongación celular, similar a la promovida por hormonas vegetales como el ácido giberélico y otras sustancias, sugiriendo este autor que los aminoácidos y otros compuestos bioactivos de la resina de *L. tridentata* pueden actuar como un regulador de crecimiento orgánico vegetal.

Por otro lado otro efecto muy interesante detectado con los tratamientos aplicados a la producción de biomasa radicular de las plántulas de tomate es que la dosis de Quitosán a 1000 ppm, así como la mezcla Quitosán- *L. tridentata* 1000/1000 reportaron una escasa producción de materia seca por planta (0.625 gr.); estos datos sugieren que tanto el Quitosán como la mezcla Quitosán-*L. tridentata* a la dosis mencionada posiblemente tuvieron un efecto antagónico en el crecimiento radicular y consecuentemente en la producción de biomasa. El reciente trabajo de Franco (2003) sobre nematodos parásitos de Quinoa en la región Andina de Bolivia, señala que un efecto antagonista puede ser atribuido a diversos componentes que se encuentran presentes en las plantas y quizá al mezclarse con otros productos pueden tener un efecto fitotóxico.

Cuadro 9. Comparación de medias del peso fresco (gr) de raíz de plántulas de tomate sometidas a tratamientos de extractos de *L. tridentata* y soluciones de Quitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con *N. aberrans*.

Tratamientos	Dosis (200 L/ha)	Dosis (400 L/ha)
1. Testigo absoluto (H <sub>2</sub> O destilada)	3.575 abc	3.575 abc
2. Testigo químico Carbofurán (Furadán 350 L)	3.325 abcd	3.325 abcd
3. <i>L. tridentata</i> 40%	3.750 ab	2.150 abcde
4. <i>L. tridentata</i> 60%	1.250 bcde	4.650 a
5. <i>L. tridentata</i> 80%	3.325 abcd	1.225 cde
6. <i>L. tridentata</i> 100%	0.575 e	0.800 e
7. Quitosán 1000 ppm	0.625 e	0.525 e
8. Quitosán 2000 ppm	0.975 de	1.025 de
9. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 1000/1000 ppm	0.625 e	1.375 bcde
10. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 2000/1000 ppm	1.525 bcde	1.655 bcde

Medias seguidas por letra igual, son estadísticamente iguales entre sí, (Tukey,  $\alpha = 0.01$ ).

### Peso Seco del Follaje

En cuanto a la producción de biomasa este parámetro nos refleja la cantidad total de materia seca producida por la planta durante su crecimiento. De acuerdo a los resultados que se agrupan en el Cuadro 10 para medir los efectos, nos muestran que a dosis medias de 200 L/ha los tratamientos de *L. tridentata* 40%, *L. tridentata* 80% resultaron ser superiores inclusive que el testigo químico, sin embargo, estadísticamente no presentaron diferencias significativas entre sí; por lo tanto, la aplicación de los extractos sódicos de *L. tridentata* favorece el desarrollo de biomasa de las plantas de tomate bajo condiciones controladas, aún en presencia del nematodo falso nodulador.

Aleman-Granados (2003) también encontró que semillas de brócoli y lechuga tratadas con extracto de *L. tridentata*, ya que tanto la longitud y plúmula y consecuentemente de biomasa de plántulas fue significativamente incrementada, sugiriendo sus resultados que los

extractos hidrosolubles de gobernadora tienen una acción promotora de crecimiento y elongación celular en plántulas de brócoli y lechuga similar a la observada con el de una fitohormona como el ácido giberélico.

Cuadro 10. Comparación de medias del peso seco del follaje (gr) de plántulas de tomate sometidas a tratamientos de extractos de *L. tridentata* y soluciones de Quitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con *N. aberrans*

Tratamientos	Dosis (200 L/ha)	Dosis (400 L/ha)
1. Testigo absoluto (H <sub>2</sub> O destilada)	0.225 cdefg	0.225 cdefg
2. Testigo químico Carbofurán (Furadán 350 L)	0.350 abcd	0.350 abcd
3. <i>L. tridentata</i> 40%	0.450 ab	0.275 bcdef
4. <i>L. tridentata</i> 60%	0.100 efg	0.500 a
5. <i>L. tridentata</i> 80%	0.425 abc	0.100 efg
6. <i>L. tridentata</i> 100%	0.075 fg	0.125 efg
7. Quitosán 1000 ppm	0.066 fg	0.025 g
8. Quitosán 2000 ppm	0.150 defg	0.125 efg
9. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 1000/1000 ppm	0.100 efg	0.175 defg
10. Quitosán- <i>L. tridentata</i> 2000/1000 ppm	0.200 defg	0.300 abcde

Medias seguidas por letra igual, son estadísticamente iguales entre sí, (Tukey,  $\alpha = 0.01$ ).

## CONCLUSIONES

La inmovilización total *in vitro* de los J2 de *Nacobbus aberrans* se logra a las 72 horas al igual que el testigo químico con Quitosán 1000, Quitosán 2000, Quitosán-*L. tridentata* 1000/1000 y Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000. Por otro lado el menor porcentaje de eclosión de los huevecillos se logra las 264 horas al igual que el testigo químico con el resto de los tratamientos, a excepción de *L. tridentata* 1000 y *L. tridentata* 2000.

El mayor porcentaje de inmovilización de los J2 de *N. aberrans* se logra a las 24 y 72 horas con *L. tridentata* 60%, *L. tridentata* 80% y *L. tridentata* 100% con los extractos sódicos al igual que el testigo químico. De igual forma se logra el menor porcentaje de eclosión de los huevecillos a las 264 horas, con los mismos tratamientos.

El menor índice de agallamiento en plantas de tomate cv Rio Grande se obtiene con los tratamientos de *L. tridentata* 80%, *L. tridentata* 100% Quitosán 2000 y Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000 a dosis de 200 L/ha.

En relación al peso fresco de la raíz de plantas de tomate no se observa un efecto en los tratamientos, ya que son iguales estadísticamente al testigo absoluto observándose un detrimento en los tratamientos de *L. tridentata* 60%, *L. tridentata* 100%, Quitosán 1000, Quitosán 2000, Quitosán-*L. tridentata* 1000/1000 y Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000 a dosis de 200 L/ha.

El mayor peso seco del follaje se obtiene con los tratamientos *L. tridentata* 60% y con Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000 al igual que el testigo químico.

## LITERATURA CITADA

- Alemán, G. F. J. 2003. Extractos de *Larrea tridentata* Cov. Como promotores de la germinación de semillas y elongación de plántulas de brócoli (*Brassica oleracea* L.) Grupo itálica y Lechuga (*Lactuca sativa* L.). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 62 p.
- Beltrán, G., F. 2002. Biofumigación con solarización y extracto de resina de *Larrea tridentata*, Coville para el control de nematodos fitoparásitos en el cultivo de chile. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 52 p.
- Bridge, J. and Page, S.L.J. 1980. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. *Tropical pest management* 3:296-298.
- Brinker, F. 1993. *Larrea tridentata* (D.C.) Coville (chaparral o cerosote Bush). *British Journal of Phytotherapy*. 3:10-31.
- Cabrera, G. Palma, G. y Cárdenas, G., 2002. Derivados de quitina con potencial actividad reguladora de crecimiento en plantas. II Simposio Iberoamericano de Quitina dentro del VIII Simposio Latinoamericano de polímeros. Acapulco, Guerrero, México. Pp 589-590.
- Cárdenas, G. Cabrera, G. Casals, P. Von Plessing, C. y Miranda, S.P.2002. Encapsulación de pesticidas utilizando quitosano. II Simposio Iberoamericano de Quitina dentro del VIII Simposio Latinoamericano de polímeros. Acapulco, Guerrero, México. Pp 585-586.
- Cepeda, S.M. 1995. *Prácticas de Nematología Agrícola*. México, D.F. P 21.
- Cid del Prado, V.,I. 1993. Morphological variation and host test for Mexican populations of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen 1944. *Nematropica* 23:113.

- Cid del Prado, V., I., Cristóbal, A., J. y Kent, E. 1997. Manejo de poblaciones de *Nacobbus aberrans* en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Nematropica* 27:103-104.
- Clark, S., A. 1967. The development and life history of the false root-knot nematode, *Nacobbus serendipiticus*. *Nematologica* 13:91-101.
- Costilla, M. 1985. El falso nematode del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen 1944 y su relación con el cultivo de la papa en el noreste Argentino: *Revista Industrial y Agrícola Tucumán* 62:79-97.
- Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review Phytopathology*. 40:221-249.
- De Anda, V., J. 2003. Biofumigación con solarización y extracto de resina de *Larrea tridentata*: una alternativa tecnológica para el control de malezas y nematodos en el cultivo de Brócoli (*Brassica oleracea* var:Itálica). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 93 p.
- Franklin, M., T. 1959. *Nacobbus serendipiticus* n.sp. a root-galling nematode from tomatoes in England. *Nematologica* 4:286-293.
- Franco, J. Ramos, J. Oros, R. Main, G. y Ortuño, N. 1999. Pérdidas económicas causadas por *Nacobbus aberrans* y *Globodera* spp. en el cultivo de la papa en Bolivia. *Revista Latinoamericana de la papa* 11: 40-66
- Franco, N., F. Cid del Prado, V.,I. Zavaleta, M.,E. y Sánchez, G.,P. 2002. Aplicación de enmiendas orgánicas para el manejo de *Nacobbus aberrans* en tomate. *Nematropica* 32: 113-124.

- Franco, J. 2003. Parasitic nematodes of quinoa in the andean region of Bolivia. Cochabamba, Bolivia. Food Reviews International. 19:77-85.
- Gamboa, A.,R. Hernández, C.,F. D Guerrero, R.,E. Sánchez, A., A. Villarreal, L.,A. López, R.,G. Jiménez, F. Lira, S.,R. H. 2003. Antifungal effect of *Larrea tridentata* extracts on *Rhizoctonia solani* Jun and *Phytophthora infestans* Mont (De Bary). *PHYTON-International Journal of Experimental Botany*. 2003:119-126.
- Gómez R., L. Escudero, A., B. Aguilar, U., G. y Mendoza, P. 2002. Efectos de la quitosana sobre el crecimiento de *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces intermedius* y *Sacharomyces cerevisiae*. II Simposio Iberoamericano de Quitina dentro del VIII Simposio Latinoamericano de Polímeros. Acapulco, Guerrero, México. Pp 587-588.
- Hernández, A., M., Zavaleta, E., M y Carrillo, C., G. 1990. Rompimiento de la resistencia a *Phytophthora capsici* Leo, en Chile por *Nacobbus aberrans* (Thorne & Allen, 1944). Sociedad Mexicana de Fitopatología. XVII Congreso Nacional. Culiacán, Sin. 71 p.
- Hernández, A.J. y Manzanilla-López, R.H. 1992. estudio del rango de hospederos hortícolas de *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen 1944, en condiciones de invernadero. Memoria XIX Congreso Nacional de Fitopatología, Saltillo, Coah. P. 124.
- Huerta, de la P., A 1986. Acción nematicida de la resina de gobernadora *Larrea tridentata* Coville en Guayule *Phartenium argentatum* Gray bajo cultivo. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 94 p.
- Insunza, V., E. Aballay. and Macaya, J.2001. *In vitro* nematicidal activity of aqueous plant extracts on chilen populations of *Xiphinema americanum sensu lato*. *Nematropica* 31:47-54.



- Jatala, P. 1979a. Review of the false root-knot nematode (*Nacobbus* spp.) report of the 2<sup>nd</sup> planning conference on developments in the control of nematode pests of potato. International Potato Center, Lima, Perú 1978:66-69.
- Jatala, P. y Kaltenbach, R. 1979b. Survival of *Nacobbus batatiformis* n.sp (Nematoda: Tylenchidae) producing gallls on the rotos of sugarbeets and other plants. 2:128-134.
- Jatala, P. 1985c. En nematodo falso nodulador de la raíz. Colegio de Posgraduados, Montecillos, Estado de México. pp. 47-55
- Nickle, W.R. 1984. Plant and insect nematodes. Marcel Dekker Inc. New York. 925 P.
- Lira, S., R.. Peña, R., F. Hernández, C., F. y Lara, V., F. 2003a. Actividad antifungica de extractos de *Larrea tridentata* y Quitosán sobre el agente causal de la fusariosis en cultivos florícolas. X Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas, IX Congreso Nacional y II Internacional de Horticultura Ornamental. P 241.
- Lira, S., R. H., Balvantin, G.F. Hernández, C.F.D. y Jiménez, D. Jasso de R. D. 2003b. Evaluation of resin content and the antifungal effect of *Larrea tridentata* (Sesse and Moc. Ex. DC) Coville extracts from two Mexican deserts against *Pythium* sp. pringsh. Revista Mexicana de Fitopatología 21:115-119.
- Lira. S.,R.H. Sánchez, del R.M. Gamboa, R.D. Jasso, D. Rodríguez, R. 2003c. Fungitoxic effect of *Larrea tridentata* resin extracts form the Chihuahua and Sonora in Mexican deserts on *Alternaria solani*. Agrochimica 47:54-60.
- Lira, S.,R.H. 2003d. Estudio actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora *Larrea tridentata* (D.C.) Coville. Revista Mexicana de Fitopatología. 21:215-223.

- Manzanilla-López, R.H. 1997. Studies on the characterisation and bionomics of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 (Nematoda:Pratylenchidae), Ph. D. Thesis. University of Reading. U.K. 395 p
- Manzanilla-López. Harding, S. and Evans, K. 1999. Morphometric study on twelve populations of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda:Pratylenchidae) from México and South America. *Nematology* 1:477-498
- Manzanilla-López. Costilla, M., A. Doucet, M. Franco, J. Inserra, R., N. Lehman, P., S. Cid del Prado, V., I. Souza, R., M. and Evans, K. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda:Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32:149-227
- Mendoza de Gives, P. Zavaleta-Mejía, E. Herrera-Rodríguez, D. And Quiroz-Romero. 1994. *In vitro* trapping capability of *Arthrobotrys* spp. Of infective larvae of *Haemonchus contortus* and *Nacobbus aberrans*. *Journal of Helminthology* 68:223-229.
- Montecinos, R. y Franco, J. 1993. Efecto de 3 nematicidas (Carbofuranes) sobre la multiplicación de *N. aberrans* y el rendimiento de papa (Var, Waicha y Alpha). Programa de la investigación de la papa (PROINPA), Cochabamba, Bolivia. *Nematropica* 23:127.
- Montoya, F. 1994. Tesis Rango de hospederos del nematodo falso agallador *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne y Allen 1944, en los municipios de Villa de Coss, Pánuco y Guadalupe, Zacatecas. 68 p.
- Oka, Y. and Yermiyahu, U. 2002. Suppressive effects of composts against the root knot nematode *Meloidogyne javanica* on tomato. *Nemayology*, 4:891-898.

- Ortega, O., H. Alonso, C., S. Benavides, M., A. 2002 Uso de los complejos poli electrolíticos de poli ácido acrílico quitosan como inductores de tolerancia al estrés en hortalizas. II Simposio Iberoamericano de Quitina dentro del VIII Simposio Latinoamericano de Polímeros. Acapulco, Guerrero, México. Pp 575-576.
- Robbins, R.T. 1982. Phytoparasitic nematodes of noncultivated habitats in Arkansas. *Journal of Nematology* 14:466-467.
- Romanazzi, G. Nigro, F. Hipólito, A. Di Venere, D. and Salerno, M. 2002. Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*. 67: 1862-1867.
- SAGARPA-SIAP. 2003. Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesca de los de los cultivos por Estado, 403 p.
- Salazar, F., J. García, R., E. y Tlapal, B., B. 1991. Efectos de la incorporación de residuos de Gobernadora (*Larrea tridentata* D.C. (Coville) y Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) En suelos infestados con *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, en la germinación y crecimiento de plantas de frijol. *Revista Mexicana de Fitopatología* 9: 102-104.
- Sánchez R. E. Y. 2002. Germinación y elongación celular de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) tratadas con extractos de *Larrea tridentata* y ácido giberelico. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 86 p.
- SAS. 1996. Software for Windows de SAS institute, Cary, North Carolina, USA.
- Sher, A., S. 1970. Revision of the genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchoidea). *J. Nematologica*. 3:228-235.

- Taylor, A., L y Sasser, J., N. 1983. Biología, Identificación y control de los nematodos de los nódulos de la raíz. Proyecto Internacional de *Meloidogyne*. Universidad de Carolina del Norte. Raleigh, N.C. 111 p.
- Velásquez, V. R. y N. González. 1991. Nematodos noduladores que atacan al cultivo del frijol en Zacatecas. Folleto desplegable para productores. INIFAP, Calera, Zac. 5 p.
- Velásquez, V., R. 2001. Nematodos agalladores afectando hortalizas y otros cultivos en el norte centro de México. Revista Mexicana de Fitopatología 19:107-109.
- Yang, T., W. 1970. Major chromosome races of *Larrea divaricata* in North América. J. Ariz. Acad.Sci.6:41-45.
- Zamudio, V., G., 1987. Evaluación de la resistencia de colecciones y variedades comerciales de tomate a *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México, 88 p.

## RESUMEN

En la búsqueda de alternativas a químicos sintéticos para el manejo de nematodos, se analizó la actividad nematicida de extractos hidrosolubles de resina de Gobernadora (G) y soluciones de Quitosán (Q) en experimentos *in vitro e in vivos* sobre la eclosión de huevecillos y en poblaciones de juveniles de segundo estadio (J2) del nematodo falso agallador *Nacobbus aberrans*, así como el efecto de estos compuestos sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de tomate cv Rio Grande, el cual tiene importancia económica ya que éste patógeno causa pérdidas económicas en los cultivos de papa, tomate, chile y frijol entre otros. Se utilizó agua destilada como el testigo absoluto y Furadán 350 L. como el testigo químico.

La actividad nematicida se evaluó *in vitro* en la inhibición de la eclosión de las masas de huevecillos a las 24, 120 y 264 horas, y en la inmovilidad de los nematodos después de 24 y 72 horas de su inmersión en soluciones de Gobernadora y Quitosán y en combinaciones de ambos productos, seguido por una inmersión por 24 horas en agua destilada. La Gobernadora a las concentraciones de 60, 80 y 100%, conteniendo 21% v/v de resina y Quitosán a 1000 y 2000  $\mu\text{L L}^{-1}$  así como la combinación de *L. tridentata*-Quitosán a esas concentraciones mostraron una alta actividad nematicida que resultó en una significativa inhibición de la eclosión y en la movilidad de los J2, la cual fue irreversible cuando las masas de huevecillos y los nematodos fueron transferidos en agua destilada. La inmovilidad de los nematodos se observó después de 72 horas con Gobernadora a las concentraciones de 60, 80 y 100%; por Quitosán a 1000 y 2000  $\mu\text{L L}^{-1}$  y lo mismo sucedió con las combinaciones Gobernadora-Quitosán a 1000-1000 y 1000-2000  $\mu\text{L L}^{-1}$ . El mismo efectos adverso en la movilidad de los nematodos fue detectado con Carbofurán (Furadán 350 L.).

. La actividad nematicida también se evaluó *in vivo* utilizando plántulas de tomate cv Rio Grande como ya se mencionó anteriormente, para evaluar el efecto nematostático de las formulaciones de Quitosán-*L. tridentata* y soluciones sódicas de Larrea sola sobre el índice de agallamiento, desarrollo radicular, y producción de biomasa, a los 45 días después de aplicados los tratamientos. Únicamente se evaluaron aquellos que resultaron ser mejores en

la primer etapa, tomando en cuenta el mejor efecto producido en la inhibición de los estadios de *N. aberrans*. El testigo químico y el testigo absoluto, al igual que en el bioensayo *in vitro* fueron los mismos y las dosis empleadas fueron las recomendadas por el fabricante del producto comercial sintético. Los otros tratamientos formulados por (Q), (G) y mezclas de ambos bioproductos se aplicaron un cuando las plantitas de tomate habían desarrollado dos hojas verdaderas y se aplicaron dosis medias de 200 L/ha, y dosis altas de 400 L/ha. Los efectos nematocidas de los extractos metanólicos y sódicos de *L. tridentata*, así como del quitosán, presentaron igualdad entre los tratamientos de *L. tridentata* 80%, *L. tridentata* 100%, Quitosán 2000, Quitosán-*L. tridentata* 2000/1000 así como el testigo químico, estableciendo un valor de índice de agallamiento de 4, en el cual predominan las agallas grandes pero las raíces principales permanecen limpias. Lo cual refleja que aunque las plantas hayan presentado síntomas de agallamiento, no se ven tan afectadas durante su crecimiento y desarrollo.

Otro de los efectos que se apreció claramente al aplicar la dosis de 200 L/ha del extracto de gobernadora al 40%, fue que se obtuvo un peso fresco de raíz de 3.75 gr./planta, lo cual fue superior que el peso reportado por el testigo absoluto y el químico. De igual forma los tratamientos de *L. tridentata* 40%, *L. tridentata* 80% resultaron ser superiores inclusive que el testigo químico Carbofurán (Furadán 350 L.), produciendo mayor cantidad de biomasa.

Estos resultados confirman reportes anteriores en las propiedades nematocidas de Quitosán y Gobernadora, sin embargo, este es el primer reporte del efecto nematocida de formulaciones de ambos productos, lo cual sugiere el potencial que tienen para que pudieran ser utilizados como nematocidas.

## ABSTRACT

The nematocidal or nematostatic activity of the Chitosan-*L. tridentata* mixtures, as well the *L. tridentata* extract and Chitosan solutions alone, were also evaluated *in vivo* by using tomato plants cv. Rio Grande that were grown inside a growth chamber, The parameters evaluated were: gall index, roots development and biomass production, which were measured 45 days after treatments application. The evaluation performed was done only on those parameters that gave better results in the first *in vitro* experiment, considering the best nematocidal effect detected in the inhibition or mortality of the eggs masses and J2 of *N. aberrans*. The chemical and absolute controls, as well that the in the *in vitro* assay were the same and the dosages tested were those recommended by the commercial product. The other treatments applied (Q and L) and mixtures of both bioproducts were applied when the tomato plantlets has two real leaves and two doses were applied 200 L/ha (low dose) and 400 L/ha (high dose). The nematocidal effect of the *L. tridentata* extracts (methanolic and sodic), as well the Chitosan solution reported the effect than the treatments of *L. tridentata* 80%, *L. tridentata* 100%, Q 2000 ppm, Chitosan-*L. tridentata* 2000/1000 ppm, having the same result than the chemical treatment, since these this treatments reported a gall index of 4; in this index level are present big galls but the principal roots remain clean. This reflect that even though the tomato plants had presented gall symptoms they are not affected during its growth and development.

Another effect clearly evident when 200 L/ha of *L. tridentata* dose was applied is that the root fresh weight was 3.75 gr per plant, which was superior than the weight reported by chemical and absolute controls. In the same way the *L. tridentata* 40 and *L. tridentata* 80% treatments resulted superior even than the chemical control Carbofuran (Furadan 350 L.), producing a greater biomass quantity.

The results above mentioned confirm earlier reports about the nematocidal properties of Chitosan and *L. tridentata*, however, this is the first report of the nematocidal effect of the mixture of both organic products, this suggest that they can be used as nematocidal products of low environmental impact.

## **APENDICE**



Análisis de varianza realizados con el programa System Análisis Statics (SAS) para Windows v6.12.

Cuadro 1. Análisis de varianza de la inmovilidad de nematodos J2 de *N. aberrans* sometidos a diversas formulaciones Quitosán-*L. tridentata* (día 3)

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	10	49327.1865	3794.3989	28.91	0.0001
Error (R/T)	29	3806.0390	131.2427		
Total	39	53133.2256			

R cuadrada = 0.9283; C.V. = 16.57%; CME = 11.4561

Cuadro 2. Análisis de varianza de la eclosión de nematodos de *N. aberrans* sometidos a diversas formulaciones Quitosán-*L. tridentata* (día 11)

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	10	17357.2673	1335.1744	5.93	0.0001
Error (R/T)	29	6533.7036	225.3001		
Total	39	23890.9710			

R cuadrada = 0.7265; C.V. = 58.48%; CME = 15.0100

Cuadro 3. Análisis de varianza de la inmovilidad de nematodos J2 de *N. aberrans* sometidos a diversas dosis del extracto metanólico de *L. tridentata* (día 3).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	6	42030.2336	4670.0259	143.36	0.0001
Error (R/T)	17	553.7785	32.5752		
Total	23	42584.0121			

R cuadrada = 0.9869; C.V. = 8.33%; CME = 5.7074

Cuadro 4 Análisis de varianza de la eclosión de huevecillos de nematodos J2 de *N. aberrans* sometidos a diversas dosis del extracto sódico de *L. tridentata* (día 11).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	6	25783.7608	2864.8623	23.76	0.0001
Error (R/T)	17	2170.4642	120.5813		
Total	23	27954.2250			

R cuadrada = 0.9223; C.V. = 42.35%; CME = 10.9809

Cuadro 5. Análisis de varianza del índice de agallamiento de tomate sometidas a tratamientos de extractos de *Larrea tridentata* y soluciones de Qitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con *N. aberrans*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	17	58.7777	2.9388	6.37	0.0001
Error (R/T)	51	23.5416	0.4616		
Total	68	82.3194			

R cuadrada = 0.7140; C.V. = 11.51%; CME = 0.6794

Cuadro 6. análisis de varianza del peso fresco (gr) de raíz de plántulas de tomate sometidas a tratamientos de extractos de *Larrea tridentata* y soluciones de Qitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con *N. aberrans*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	17	116.7028	5.8351	6.79	0.0001
Error (R/T)	47	40.3693	0.8589		
Total	64	157.0722			

R cuadrada = 0.7429; C.V. = 49.1968%; CME = 0.9267

Cuadro 7. análisis de varianza del peso seco (gr) del follaje de plántulas de tomate sometidas a tratamientos de extractos de *Larrea tridentata* y soluciones de Qitosán en macetas conteniendo suelo naturalmente infestado con *N. aberrans*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	17	1.3995	0.0699	11.70	0.0001
Error (R/T)	47	0.2811	0.0059		
Total	64	1.6806			

R cuadrada = 0.8327; C.V. = 36.2723%; CME = 0.0773