



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales

Universidad Nacional de La Plata

Trabajo final de carrera

**“Aplicación de aceites esenciales en tomate
(*Solanum lycopersicum* L.) como alternativa al
control de *Nacobbus aberrans*”.**

Estudiante: *De Lillo, Tobías.*

Número de Legajo: 27283/2

DNI: 37.856.423

Correo electrónico: delillo.tw@gmail.com

Directora de Tesina: *Ing. Agr. MSc. María Cecilia Arango*

Co-directora de Tesina: *Dra. Marcela F. Ruscitti*

Lugar de Trabajo: INFIVE (Instituto de Fisiología Vegetal)

Fecha de entrega: 30 de septiembre del 2019

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	5
OBJETIVO GENERAL.....	14
OBJETIVOS PARTICULARES.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
<i>Aceites esenciales.....</i>	15
<i>Evaluación de efecto de los AE sobre la germinación</i>	17
<i>Evaluación del efecto de los AE sobre la emergencia</i>	18
<i>Evaluación del efecto de los AE sobre el crecimiento inicial.....</i>	18
<i>Evaluación del efecto de los AE sobre las formas móviles y eclosión de huevos de Nacobbus aberrans.....</i>	20
<i>Pruebas in vitro</i>	20
<i>Evaluación del efecto de los AE sobre el rendimiento</i>	21
<i>Determinación del número de huevos de Nacobbus aberrans en raíces</i>	22
<i>Parámetros determinados a campo</i>	23
<i>Diseño experimental</i>	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
<i>Efecto de los AE sobre la germinación de semillas</i>	24
<i>Efecto de los AE sobre la emergencia</i>	28
<i>Efecto de los AE sobre el crecimiento inicial</i>	30
<i>Evaluación del efecto de los AE sobre la eclosión de huevos de Nacobbus aberrans.....</i>	34
<i>Evaluación del efecto de los AE sobre la movilidad de Nacobbus aberrans</i>	35
Evaluación del efecto de los AE sobre el número de juveniles	36
<i>Ensayo a campo.....</i>	38
<i>Evaluación del efecto de los AE sobre el rendimiento</i>	38
<i>Recuento del número de huevos de Nacobbus aberrans en raíces</i>	39
Recuento de agallas.....	40
CONCLUSIÓN	45
PRESENTACIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXO.....	53

RESUMEN

Desde hace ya muchos años, la producción hortícola ha ido en aumento. No a causa de una extensión de tierras cultivadas, sino a una intensificación de las mismas, que consiste en el uso de nuevas tecnologías como el sistema de riego, uso de invernáculos, nuevas variedades y/o cultivares, y el uso de productos químicos como fertilizantes, insecticidas y herbicidas. El mal uso de estas tecnologías trajo un desequilibrio importante en el ambiente, donde existen especies que evolucionaron, por ejemplo, generando resistencia frente a los productos de síntesis comúnmente utilizados, que tienen la particularidad de ser (en su mayoría) de amplio espectro caso del bromuro de metilo. En este escenario, aparecen los nematodos noduladores de la raíz (*Meloidogyne* spp. y *Nacobbus* spp.) como una plaga que afecta a una gran diversidad de especies hortícolas. *Nacobbus aberrans* produce agallas en forma de “rosario” en la raíz que facilita la detección visual de la infestación. Los nematodos se alimentan de las raíces inyectando enzimas hidrolíticas que afectan a las células, produciendo agallas por hipertrofia e hiperplasia de los tejidos, dificultando la funcionalidad normal del sistema radical al afectar la absorción de agua y nutrientes, favoreciendo también el ataque de otros patógenos y produciendo un debilitamiento general de toda la planta. Por las razones expuestas, se estudiaron nuevas alternativas de control como es el uso de aceites esenciales de especies vegetales. Se trabajó con aceites esenciales de cuatro especies: canela (*Cinnamomum verum* J.Presl), eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.), menta (*Mentha x piperita* L) y laurel (*Laurus nobilis* L.). Estos se usaron en pruebas a campo, para estudiar su efecto sobre el rendimiento y en el número final de huevos del nematodo en raíces. En ensayos *in-vitro* se evaluó la fitotoxicidad, el efecto sobre las formas juveniles y la eclosión de huevos. Los resultados preliminares muestran que, en las dosis usadas, los aceites no son tóxicos para las plantas, se observó una reducción significativa del número de huevos de *N. aberrans* respecto al testigo y el rendimiento, con la aplicación del aceite esencial de eucalipto, fue superior al resto de los tratamientos. Por consiguiente, los aceites esenciales deben ser considerados, si se piensa en



un manejo integrado de plagas en busca de un sistema sustentable que tienda al equilibrio.

INTRODUCCIÓN

Desde la década del '80, los sistemas de producción hortícola han ido alternando altas y bajas, pero con una tendencia hacia la intensificación de la producción relegando así, la producción extensiva. Esta intensificación se da con la aparición de una nueva tecnología para producir hortalizas, los invernáculos. Con este nuevo sistema, se logran rindes superiores a los obtenidos a campo, al tener la posibilidad de un mayor control y seguimiento de los ciclos de diversas hortalizas pudiendo, por ejemplo, entrar al mercado con un producto que, para un momento dado, era impensado que estuviera (tomate primicia). No obstante, los invernaderos por sí sólo no lograron dicho avance, sino que vienen acompañados por otras tecnologías como el riego localizado, el uso de nuevos cultivares y agroquímicos, siendo estos últimos los principales responsables de los problemas socio-ambientales de la horticultura bonaerense (Bocer, 2002; Souza Casadinho & Bocero, 2008).

El Cinturón Hortícola de La Plata (CHLP) está localizado en la periferia de la ciudad de La Plata, constituye el área productiva más importante del Cinturón Verde Bonaerense con el 46,15% de la superficie productiva total y el 25,15% de la superficie hortícola total de la Provincia de Buenos Aires. El 100% de la producción en el partido tiene como destino el consumo en fresco (por su carácter perecedero), abasteciendo de hortalizas frescas al área metropolitana comprendida por más de 13 millones de habitantes (INDEC, 2010). En el CHLP el 40% de la superficie se destina a cultivos protegidos (invernaderos) y el resto está ocupado por cultivos a campo. En general, las unidades de producción tienen una superficie media de 5,1 ha y se llaman "Quintas" (Stavisky, 2010; García, 2012). Estas unidades productivas cuentan con mano de obra predominantemente familiar. En cuanto a la forma de tenencia de la tierra el Censo Hortiflorícola de Buenos Aires (CHFPBA) de 2005, relevó que el 60,8 % de los productores del Partido de La Plata arrendaban las tierras que trabajaban, siendo el 85% del total de estos productores de origen boliviano (Cieza *et al.*, 2015).

Cultivo de tomate

Junto a la papa, el tomate es el cultivo hortícola más difundido en el mundo, tanto en superficie como en producción. Éste se consume fresco,

industrializado y en seco. La mayor superficie de tomate está en Asia, pero por calidad y producción, los países cálidos como España e Italia llevan la delantera. Brasil es el principal productor de América del Sur. En Argentina, si bien se cultiva en todos los cinturones verdes, existen zonas especializadas, como Cuyo (tomate para industria) y el Alto Valle de Río Negro.

El tomate (*Solanum lycopersicum* L) pertenece a la familia de las Solanáceas (Figura 1). Es una planta herbácea, perenne en climas tropicales, pero en el país se cultiva de forma anual al ser muy sensible a sequías y heladas. Posee un sistema radical pivotante y profundo, provisto de raíces secundarias con la capacidad de formar raíces adventicias.



Figura 1. Planta de tomate.



El tipo de crecimiento es simpodial, por lo que el tallo está conformado por una sumatoria de éstos, donde cada uno tiene una cantidad determinada de hojas dependiente del cultivar, y una inflorescencia. Presenta hojas compuestas, imparipinnadas. Es una planta autógama (puede presentar un porcentaje de alogamia) favorecida por polinización entomófila (sobre todo por medio de abejorros). El fruto es el órgano comestible, es de tipo baya (Del Pino, 2018).

Los nematodos

Los nematodos noduladores de la raíz afectan una gran diversidad de cultivos de importancia hortícola generando grandes pérdidas económicas (Lax *et al.*, 2011; Radwan *et al.*, 2012). Constituyen una plaga de importancia económica en Estados Unidos, Perú, Bolivia, Argentina, Chile, México, Inglaterra, India, Rusia y Ecuador (Jensen *et al.*, 1978). En Argentina, los géneros de nematodos más importantes son *Meloidogyne* spp. y *Nacobbus* spp.

Nacobbus aberrans es una especie anfimíctica, con un marcado dimorfismo sexual respecto a la forma del cuerpo. Su ciclo de vida dura de 25 a 59 días, variando en función de las poblaciones específicas, tipo de hospedantes y condiciones ambientales. Comprende cuatro estadios larvales y los adultos. El primer estadio (L1) se desarrolla en el interior del huevo. Luego de una muda, se forma una larva de segundo estadio (L2) que va a emerger al exterior. Esta larva se desplazará en el suelo en busca de un hospedador adecuado. Las larvas se alimentan del citoplasma de células del parénquima cortical perforando las paredes con ayuda de su estilete. A medida que el nematodo se va alimentando, muda pasando por el tercer (L3) y cuarto estadio larval (L4). Posteriormente, darán lugar a un individuo filiforme: hembra inmadura (también llamada hembra joven) o a un macho. La hembra inmadura penetra en el interior de la raíz y se fija en la proximidad del cilindro central en donde induce el desarrollo de su sitio de alimentación (síncito) (Doucet y Lax, 2005). Esto da lugar a una serie de alteraciones histológicas y fisiológicas particulares en esa zona del sistema radical del hospedador. Con el transcurso del tiempo, el nematodo pierde su aspecto filiforme y se torna voluminoso con

apariciencia de huso o cigarro (hembra madura). Puede llegar a adoptar formas muy variables según sea la rigidez de los tejidos del vegetal entre los que se desarrolla. Una vez fecundada, la hembra genera una masa gelatinosa en la que se depositan entre 40-800 huevos y que, generalmente, queda sobre la superficie de la agalla, en contacto con el suelo. Es frecuente encontrar numerosos machos en el interior de esa matriz mucilaginosa. Los huevos eclosionarán continuando con el ciclo de vida de la especie o se mantendrán en la matriz mucilaginosa hasta que aparezcan condiciones ambientales favorables (Doucet y Lax, 2005). Se considera que *N. aberrans* tendría dos estrategias principales de desarrollo: i) la L2 se introduce en la raíz de la planta y continúa su ciclo dentro de los tejidos hasta alcanzar la etapa adulta; ii) el desarrollo de la L2 puede ocurrir tanto dentro como fuera del vegetal, con repetidas penetraciones y emigraciones al suelo, hasta convertirse en macho o hembra inmadura (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Los principales cultivos que se ven afectados por este nematodo son: papa (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), remolacha (*Beta vulgaris* L.), pimiento (*Capsicum annuum* L.) y poroto (*Phaseolus vulgaris* L.); las pérdidas que genera oscilan dependiendo del hospedador: 35% en poroto, 50-90% en tomate y 80% en papa (Manzanilla-López *et al.*, 2008). Es reconocida como plaga cuarentenaria debido a la amplia distribución y rango de hospederos, por las pérdidas potenciales de rendimiento y debido a la capacidad de permanecer latente en condiciones desfavorables para su desarrollo (EPPO, 2011) por lo que se encuentra bajo regulaciones fitosanitarias internacionales para evitar su introducción en otros países (CABI y EPPO, 1997).

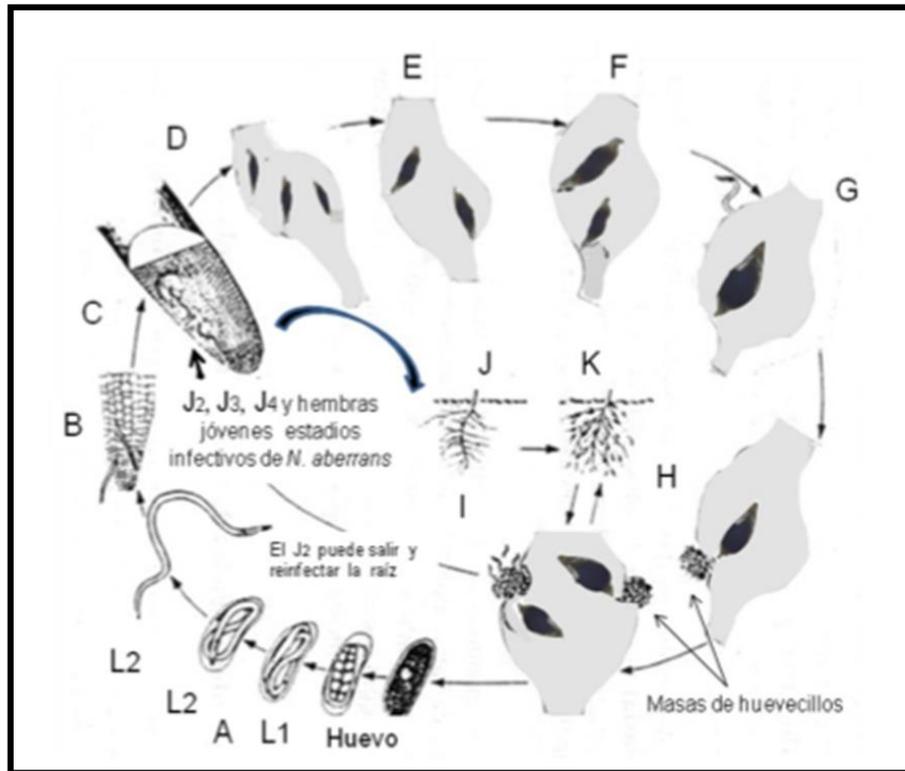


Figura 2. Representación del ciclo biológico de *N. aberrans*. A) etapa embriogénica, B) segunda etapa larvaria, ataca raíces, C) J₂, J₃, J₄ y hembras jóvenes invaden la raíz como inoculo primario, D) J₂ se alimentan de células pueden salir y reinfectar la raíz formando falsos nudos, E) tercera etapa larvaria, F) cuarta etapa larvaria, G) nematodos adultos, el macho abandona la raíz, H) hembra deposita huevos en ovisaco, I) las agallas contienen hembras ovipositoras, J) índice de agallamiento (fuente: Sánchez Portillo, J. F., 2010).

Un síntoma que se observa en las plantas infectadas por *Nacobbus aberrans*, es la presencia de agallas en el sistema radical, producto de la hiperplasia y de la hipertrofia que induce el nematodo. Estas agallas en su mayoría son pequeñas y separadas una de otras a manera de “rosario” (Hewezi y Baum, 2013).

En hospedantes susceptibles se observa una reducción en su crecimiento, clorosis, enrollamiento de las hojas y marchitamiento general (Jatala, 1985). Estos síntomas son una consecuencia de la disminución de la capacidad de absorción de agua y nutrientes (N, P, K, Ca y Mg), debido a que las agallas producen la ruptura del xilema y el floema por lo cual se reduce el flujo de sustancias a través de los tejidos de conducción. Estas plantas a su vez tienen baja conductancia estomática y en consecuencia baja asimilación de CO₂, llegando a reducir un 31% la tasa fotosintética y provocando la

disminución del crecimiento, pérdidas del rendimiento e incluso la muerte de la planta (Castillo y Marbán-Mendoza, 1984; Inserra *et al.*, 1985). En tomate, si la planta llega al estado de fructificación y maduración de frutos, éstos son pequeños, frecuentemente tienen podredumbre apical, pierden firmeza, disminuyen su vida poscosecha y consecuentemente no tienen aceptación en el mercado.

Métodos de control

El control de esta plaga se basa en el uso de desinfectantes de suelo (i.e. bromuro de metilo) y nematicidas químicos (Adlercreutz *et al.*, 2007). El bromuro de metilo es un producto cuya aplicación al suelo se traduce en emisiones gaseosas a la atmósfera liberando átomos de bromo que reaccionan con el ozono, disminuyendo la concentración de este gas en la capa, lo que incrementa la emisión de rayos ultravioleta hacia la superficie terrestre (Mezquiriz, 2000; Vilaseca *et al.*, 2006; Arregui *et al.*, 2012). Además de contaminante es tóxico para la salud humana, razón suficiente para que este producto se encuentre prohibido en el país, aunque se dispuso que por 5 años más se pueda usar el bromuro de metilo, pero en “cantidades mínimas y con declaración jurada de cómo se debe utilizar”, y debe dejarse de utilizar definitivamente en el 2020.

El uso indiscriminado de este producto derivó en una presión de selección muy alta, lo que llevó a la búsqueda de nuevas alternativas de control. Tal es así, que hoy se busca una sustitución del bromuro con programas de manejo integrado. Entre las prácticas de bajo impacto ambiental, utilizadas para el manejo de nematodos endoparásitos, se pueden destacar el uso de agentes biológicos (Puertas *et al.*, 2006), la solarización (Alcoser *et al.*, 2006), la incorporación de enmiendas orgánicas biofumigantes (Bongiorno *et al.*, 2009; Figueredo Rodríguez *et al.*, 2011) y la aplicación de aceites esenciales (Gupta *et al.*, 2011; Ripodas *et al.*, 2017; Garita *et al.*, 2018).

Muchos compuestos orgánicos presentes en las plantas han demostrado tener una fuerte actividad biocida contra patógenos del suelo, entre ellos se encuentran los aceites esenciales (AE) sintetizados por plantas aromáticas. Los aceites esenciales son líquidos oleosos, aromáticos, pertenecientes al

metabolismo secundario de las plantas constituidos por mezclas complejas de más de 100 componentes de tipo: monoterpenos, sesquiterpenos, compuestos alifáticos, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, que se producen y almacenan en estructuras especializadas de las plantas como canales secretores, pelos glandulares, etc. (Ringuelet y Viña, 2013).

Normalmente son líquidos a temperatura ambiente, y por su volatilidad, son extraíbles por destilación en corriente de vapor de agua (aunque existen otros métodos), obteniéndolos de distintos órganos vegetales, tales como flores, yemas, semillas, hojas, brotes, corteza, madera, frutos, raíces (Ringuelet y Viña, 2013). Al ser mezclas complejas los AE contienen sustancias traza que de forma conjunta evitan resistencia en las plagas lo que no sucede con plaguicidas químicos de acción pesticida individual (Espitia, 2011).

Diversos estudios han informado que los componentes volátiles de los AE tienen acción nematocida (Isman, 2000; Pandey, 2000; Barbosa *et al.*, 2010; Oka, 2012). Entre las especies promisorias se destaca la utilización del aceite de plantas del género *Tagetes* (Asteraceae), el cual ha sido reconocido por producir compuestos nematocidas como e-tagetona, cis-ocimeno, dihidrotagetona, entre otros (Kimpinski *et al.*, 2000).

También se ha ensayado la aplicación de aceites esenciales de especies del género *Eucalyptus*. El aceite esencial de eucalipto ha demostrado buena actividad nematocida en diferentes concentraciones ensayadas. En su composición se encuentra una mezcla compleja de fenoles, óxidos, aldehídos, cetonas, alcoholes, y éteres, siendo 1,8-cineol (55,49%) y α -pineno (18,18%) sus componentes mayoritarios, su toxicidad puede deberse al comportamiento sinérgico entre dichos componentes (González-Guiñez, *et al.*, 2016). En un cultivo de tomate la aplicación con aceites esenciales de *E. globulus*, *E. citriodora*, *Ruta graveolens* y *Mentha piperita* redujo significativamente la multiplicación y formación de agallas de *Meloidogyne incognita*, en las raíces (Laquale *et al.*, 2015).

Al ser compuestos naturales son de baja toxicidad, biodegradables y no persistentes, pudiéndose aplicar sin mayores riesgos tanto para la salud humana como para el ambiente (Kimpinski *et al.*, 2000).

Se ha estudiado que los AE afectan la permeabilidad de las membranas celulares volviéndolas susceptibles a componentes más tóxicos, además

dependiendo de la dosis de exposición los aceites esenciales interfieren en la respiración celular hasta el punto de provocar lisis celular (Pérez, 2012).

Actualmente, existe una tendencia a reducir la dependencia de los productos de síntesis cuyo uso indiscriminado repercute tanto en la calidad del suelo, como en la salud humana.

En función de lo dicho en párrafos anteriores, es importante remarcar la importancia de estudiar y evaluar nuevas alternativas sustentables para el control de una de las plagas más importante en la producción de especies hortícolas bajo cubierta en el CHLP.

CARACTERISTICAS DE LAS ESPECIES VEGETALES UTILIZADAS PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESCENCIALES

Cinnamomum verum, de la familia Lauraceae, es la especie conocida como canela (Figura 3). Es una planta de aproximadamente 10 metros de altura, perenne. Se aprovecha como especia su corteza interna, que se obtiene



Figure 3. Hojas de *Cinnamomum verum*.

pelando y frotando las ramas, siendo una de las más populares como aromatizante en gastronomía. El aceite de canela posee carvacol, timol y aldehído cinámico en alta proporción que tiene un efecto antifúngico.

También algo de eugenol y linalol. No existen datos precisos sobre su efecto

sobre nematodos del suelo.

El *Eucalyptus globulus* (Figura 4) pertenece a la familia Myrtaceae. Es uno de los árboles de más rápido crecimiento en el mundo y puede alcanzar una altura de 100 m. Sus hojas poseen glándulas que segregan aceites esenciales los cuales producen su olor característico. El componente más importante



Figura 4. Hojas de *Eucalyptus globulus*.

de las hojas de eucalipto es un aceite volátil conocido como eucaliptol (1,8-Cineol) encontrado con la más alta proporción (70% como mínimo). Los aceites esenciales de *Eucalyptus* se conocen desde hace cientos de años como antibacterianos, antifúngicos y antisépticos naturales y se utilizan como repelentes de insectos y como pesticidas (Barton, 2000).

La *Mentha x piperita* (familia Lamiaceae), conocida como menta inglesa (Figura 5), es producto de hibridaciones espontáneas (cruzamientos entre individuos) y luego multiplicada en forma vegetativa, siendo una de las especies de menta más cultivadas en Argentina (Bandoni, 2002). El valor



comercial de esta especie está dado por su aceite **Figura 5. Menta inglesa.** esencial, cuyos componentes mayoritarios son el mentol y la mentona. Esta esencia es utilizada en la industria alimenticia, para la fabricación de licores y golosinas, para dar el sabor conocido como “peppermint” y en la industria perfumística. También se comercializan sus hojas desecadas, utilizadas para infusiones y sus hojas frescas con aplicaciones culinarias. Entre sus propiedades medicinales, se destaca por su capacidad estimulante, antiséptica y analgésica (Alippi *et al.*, 1996, Sánchez, 1996).

El laurel (*Laurus nobilis*) pertenece a la familia Lauraceae, es un árbol de hoja perenne de hasta 20 metros de altura, nativo de la región del Mediterráneo (Figura 6). Esta planta es utilizada extensivamente en la industria alimenticia, así como en la elaboración de medicamentos y cosméticos. Las hojas secas y su aceite esencial son usados extensivamente en la



Figura 6. Laurus nobilis alimentación como condimento debido a su sabor y aroma y como conservante debido a sus propiedades antimicrobianas e insecticidas. Entre los

componentes mayoritarios encontrados en el laurel se encuentran el 1.8-cineol (29,3%) y el linalol (31,3%) (Ringuelet *et al.*, 2012).

OBJETIVO GENERAL

El objetivo del trabajo es reducir la densidad, el potencial reproductivo y la actividad fitófaga de *Nacobbus aberrans* a través de la aplicación de distintos aceites esenciales en el cultivo de plantas de tomate.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el efecto de la aplicación de distintos aceites esenciales en la germinación, emergencia y crecimiento inicial de plantas de tomate.
- Analizar el potencial *in vitro* de diferentes aceites esenciales en el control de nematodos noduladores.
- Evaluar el efecto de la aplicación de AE sobre el crecimiento y el rendimiento a campo, de plantas de tomate infectadas con *Nacobbus aberrans*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aceites esenciales

Se utilizaron aceites esenciales (AE) de cuatro especies aromáticas: *Eucaliptus globulus*, *Laurus nobilis*, *Mentha x piperita* y *Cinnamomum verum* extraídos a partir de plantas cultivadas en la Estación Experimental Julio Hirschhorn (FCAyF - UNLP). Se evaluó además un producto comercial de AE de canela.

La extracción de los AE de las plantas aromáticas empleadas, se realizó mediante el uso de un equipo de hidrodestilación a escala de laboratorio del Curso de Bioquímica y Fitoquímica (Figura 7). El equipo consta de un balón de destilación de vidrio de 5 L, una trampa graduada Clevenger de 10 mL para aceites menos densos que el agua y un condensador encamisado.



Figura 7. Equipo de hidrodestilación.

Se pesaron entre 200 y 250 gramos de material vegetal (hojas y tallos) secado a 40°C y se colocaron dentro del balón cubriéndolo con agua destilada. El tiempo de destilación fue de 3 a 4 horas. Los aceites esenciales fueron deshidratados con sulfato de sodio y conservados en heladera en frascos color caramelo hasta el momento de realizar los ensayos.

Producto utilizado como patrón

La abamectina (Figura 8) es un insecticida, acaricida y antihelmíntico de acción translaminar ampliamente utilizado en la agricultura. Abamectina es una mezcla de avermectinas que contiene más del 80% de avermectina B1a y el resto de avermectina B1b. Estos dos compuestos B1a y B1b tienen propiedades toxicológicas parecidas. La avermectina es un derivado de compuestos obtenidos por fermentaciones (naturales) en laboratorio de la bacteria del suelo *Streptomyces avermitilis*.

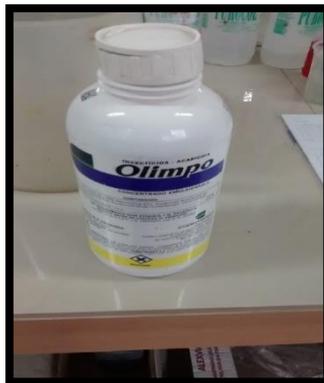


Figura 8. Abamectina.

Evaluación de efecto de los AE sobre la germinación

Para determinar el efecto de los distintos aceites esenciales sobre la germinación de semillas de tomate, se utilizaron semillas de la variedad “Trueno”, que fueron compradas. De las mismas, se colocaron 20 en las correspondientes cajas de Petri con papel de filtro humedecido,



Figura 9. Semillas en proceso de germinación

con agua destilada (control), con Tween20 (25 μ l/ caja de Petri), o con dos concentraciones de cada AE analizado (6,25 μ l/caja de Petri (1) y 3,125 μ l/caja de Petri (2)) o dos concentraciones de abamectina (18 μ l/ caja de Petri y (1) 9 μ l/caja de Petri (2)), con tres repeticiones. Para la dosis más alta del AE de canela se usó 15 μ l/ caja de Petri (1). Estas concentraciones fueron elegidas por su respuesta en ensayos preliminares. Cabe aclarar que, en la Caja de Petri se utilizó un volumen de solución de 5ml. Éstas se incubaron en estufa a 28°C. Se registró el número de semillas germinadas periódicamente durante 7 días y se cuantificó el porcentaje germinación (Figura 9).

Evaluación del efecto de los AE sobre la emergencia

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre la emergencia de las plántulas de tomate, se sembraron 10 semillas de tomate, variedad “Trueno”, en bandejas plásticas de 13,5 cm x 9,5 cm x 4 cm, con tierra tamizada. Fueron regadas con las siguientes dosis:

- AE de eucalipto, menta y laurel 1,25 $\mu\text{l/mL}$.
- AE de canela 3 $\mu\text{l/mL}$.
- Abamectina 3,6 $\mu\text{l/mL}$.
- Tween 20 5 $\mu\text{l/mL}$.

Se realizaron tres repeticiones por tratamiento (Figura 10). Luego de 15 días se cuantificó el porcentaje de emergencia.



Figura 10. Siembra en bandejas plásticas.

Evaluación del efecto de los AE sobre el crecimiento inicial

Con el objeto de evaluar el efecto de los AE en el crecimiento inicial de las plántulas de tomate, se sembraron semillas en speedling con una mezcla de perlita: vermiculita (1:1) (Figura 11) y cuando las plántulas presentaron dos hojas expandidas se trasplantarán a macetas de 0,5 Kg con tierra tamizada (Figura 12).



Figura 11. Plántulas en el speedling.



Figura 12. Traslante a macetas de 0,5 kg.

Luego del trasplante, se regaron periódicamente (con un volumen de 50 ml) con los aceites esenciales ensayados, la abamectina y agua (control), con las mismas dosis usadas en el ensayo de emergencia. En este ensayo, también se hicieron tres repeticiones por tratamiento. En

forma semanal, se midió la altura, diámetro del tallo y el número de hojas y al final del ensayo se determinó el peso fresco y seco total, de la raíz y de la parte aérea.

*Evaluación del efecto de los AE sobre las formas móviles y eclosión de huevos de *Nacobbus aberrans**

Pruebas in vitro

Los AE se prepararon en una solución acuosa con 5% de Tween-20 (v/v) como emulsionante en una concentración de 1,25 μl /ml, la abamectina se preparó a una concentración de 3,6 μl /ml, (Abamectina: nematocida de síntesis usado para comparar su efecto con el de los AE) verificando su efecto en la eclosión de huevos y en las formas móviles (juveniles) del nematodo.

Se colocaron 1000 huevos del nematodo en tubos eppendorf de 2 ml y se le aplicaron las distintas soluciones de aceites esenciales, abamectina y un control con agua destilada. Luego de 48 hs de incubación a 26 °C, y con ayuda de un microscopio óptico, se contaron los huevos eclosionados, para calcular el porcentaje de eclosión. Las observaciones se repitieron cada 2 días durante 10 días. Se hicieron tres repeticiones de cada tratamiento.

Para evaluar el efecto sobre las formas juveniles, se realizaron los mismos tratamientos que en el ensayo de eclosión de huevos. Se colocaron 50 cm^3 suelo previamente tamizado en recipientes de 100 mL. El suelo se humedeció hasta capacidad de campo con las distintas soluciones

incubándose por 24 hs a 26 °C. Luego de la incubación, las muestras fueron colocadas en embudos con papel de filtro para la separación de las formas móviles del nematodo que estaban con vida, capaces de atravesar el papel, (Baermann, 1917) (Figura 13). Pasadas



Figura 13. Embudos Baermann.

24 hs de permanencia de las muestras en los embudos, se recogió el filtrado y se contó el número de nematodos vivos mediante un microscopio óptico (Figura 14). Se realizaron tres repeticiones por tratamiento.



Figura 14. Recuento de nematodos.

Ensayo a campo

Evaluación del efecto de los AE sobre el rendimiento

El ensayo se realizó en la quinta de un productor, Mario Ritosa, en la localidad de Los Hornos. Nuevamente, se utilizaron plantas de la variedad comercial “Trueno”. Una vez trasplantados las plantas de tomates (finales de julio) en el invernáculo, se procedió a identificar cada tratamiento con sus respectivas repeticiones (Figura 15). Se acudió al establecimiento una vez cada quince días para aplicar los distintos tratamientos en forma de drench. Es decir, un riego dirigido al cuello de la planta usando un vaso de 200 ml. Las dosis utilizadas fueron las siguientes:

- AE de eucalipto, menta y laurel 1,25 $\mu\text{l}/\text{mL}$.
- AE de canela 3 $\mu\text{l}/\text{mL}$.
- Abamectina 3,6 $\mu\text{l}/\text{mL}$.
- Tween 20 5 $\mu\text{l}/\text{mL}$.



Figura 15. Identificación de los tratamientos sobre el lomo.

Llegado el momento de la cosecha, se cosecharon los frutos determinando el peso y número de frutos por planta.

*Determinación del número de huevos de *Nacobbus aberrans* en raíces*

Al finalizar el ensayo a campo, las plantas fueron descalzadas, se lavaron las raíces y se extrajeron los huevos del nematodo según la técnica de tamizado, centrifugación y flotación (Coolen, 1979). Las raíces se licuaron a máxima velocidad, durante 30 segundos, en



Figura 17. Recuento de huevos.

una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%. La mezcla obtenida fue tamizada sobre una malla de 37 micrones y lo recolectado del tamiz fue centrifugado con caolín a 1000g durante 5 minutos. El sobrenadante fue descartado

y el pellet fue resuspendido con una solución de sacarosa (484 gr.L⁻¹) centrifugando durante 2 minutos a 1000 g (Figura 16). El sobrenadante se depositó sobre un tamiz de 37 micrones y fue lavado con agua corriente para retirar la sacarosa. Finalmente se cuantificó el número de huevos por observación microscópica (Figura 17).



Figura 16. Centrifuga y grilla con tubos falcon.

Parámetros determinados a campo

En forma periódica:

- ✓ Rendimiento: número y peso de frutos.

Al final del ensayo:

- ✓ Peso fresco de raíces
- ✓ Número de agallas (con lupa)
- ✓ Número de huevos: según la técnica de tamizado, centrifugación y flotación (Coolen, 1979). La cuantificación del número de huevos se efectuó mediante el empleo de un microscopio óptico.

Diseño experimental

El diseño experimental en el ensayo a campo fue de bloques completos al azar, con 3 repeticiones y 8 plantas por repetición.

Todos los datos se analizaron por ANOVA y las medias se compararon usando LSD ($p < 0,05$), utilizando el programa InfoStat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concluidos los ensayos, se analizó la información recopilada y se obtuvieron los resultados que a continuación se presentan.

Efecto de los AE sobre la germinación de semillas

El tratamiento con AE de menta (Gráfico 1), mostró que retrasa la germinación en las dos dosis ensayadas en comparación con el control. Al tercer día el porcentaje de germinación con la mayor dosis (6,25 μ L) fue 79% inferior al control (Menta 1). Incluso, se obtuvo un menor porcentaje de germinación al final del ensayo, aunque en este momento las diferencias no fueron significativas.

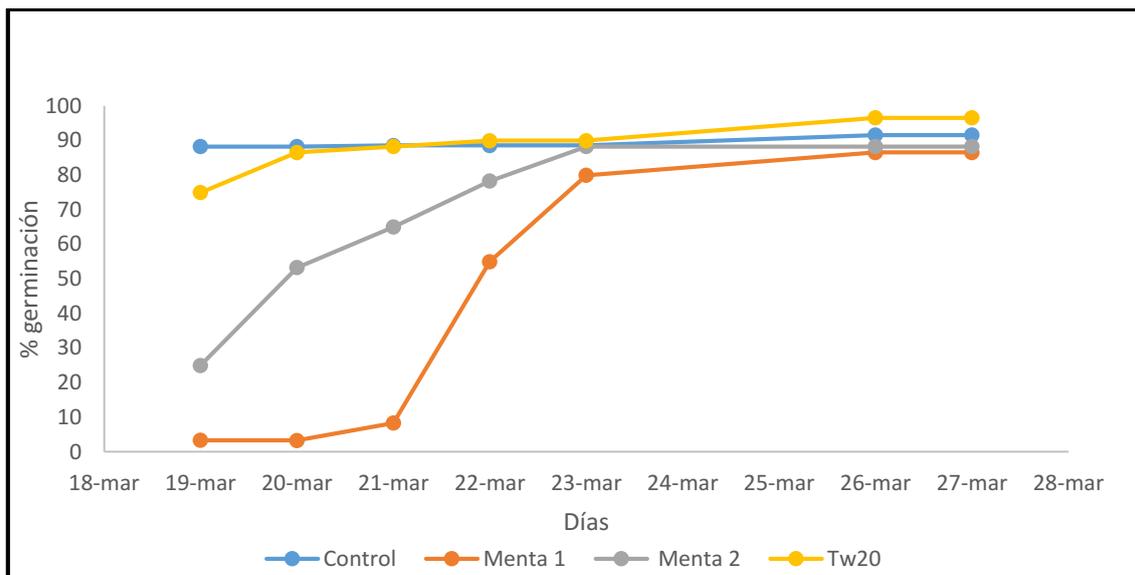


Gráfico 1. Respuesta del AE de menta sobre la germinación de semillas de tomate Menta 1: 6,25 μ L/caja de Petri; Menta 2: 3,125 μ L/caja de Petri; Control: agua; Tw20: 25 μ L/caja de Petri.

En el caso del AE de laurel (Gráfico 2), se observó una inhibición de la germinación con respecto al control, siendo la dosis de mayor concentración (Laurel 1) la que tuvo un retraso mayor en el proceso y provocando menor número de semillas germinadas. Al finalizar el ensayo el % de germinación fue de 80% y 18% inferior al control en la dosis mayor y la menor respectivamente

con respecto al control con agua. Con Tween 20 y control se alcanzó un promedio de 94% de poder germinativo.

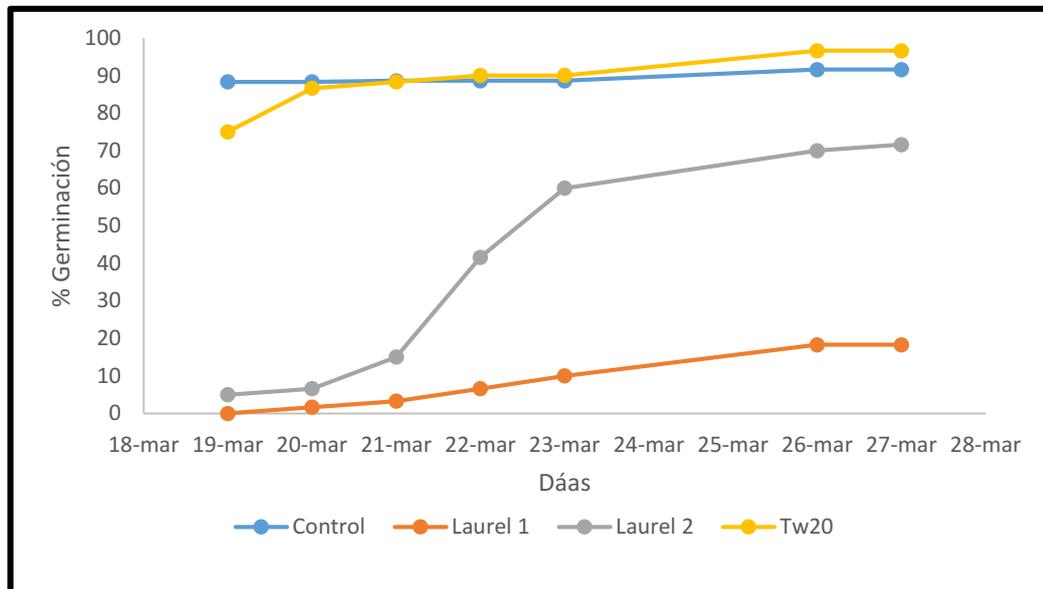


Gráfico 2. Respuesta del AE de laurel sobre la germinación de semillas de tomate Laurel 1: 6,25 μ L/caja de Petri; Laurel 2: 3,125 μ L/caja de Petri; Control: agua; Tw20: 25 μ L/caja de Petri.

Con respecto al AE de canela (Gráfico 3), se vio que en el tratamiento con la menor concentración (Canela 2) existió un retraso inicial de la germinación, pero no afectó al porcentaje final de semillas germinadas, incluso superó el valor con respecto al testigo. Pero con la mayor concentración (Canela 1) se retrasó la germinación, y afectó en forma negativa el porcentaje final de germinación, alcanzando un poder germinativo de 76,6%.

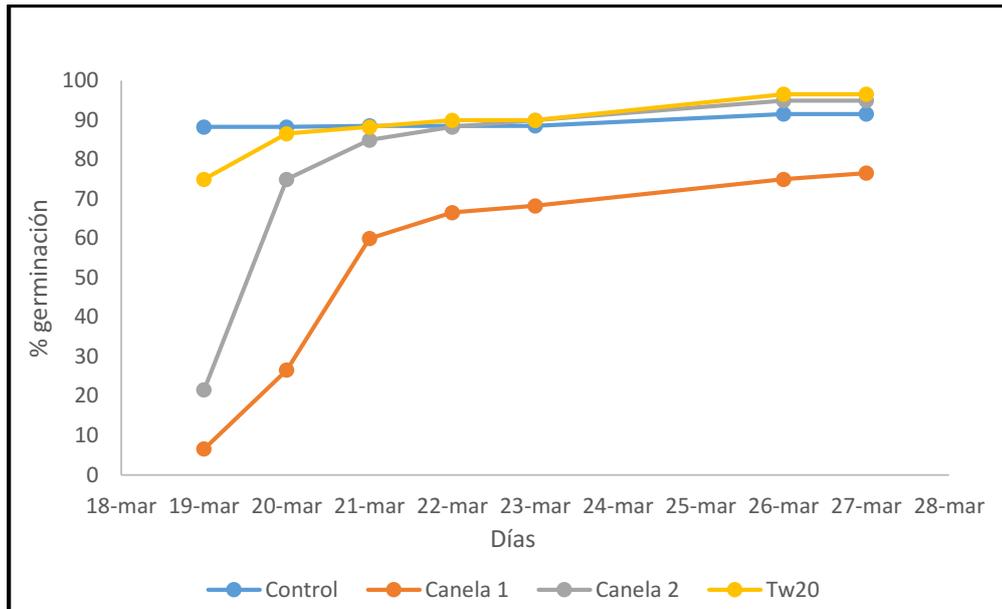


Gráfico 3. Respuesta del AE de canela sobre la germinación de semillas de tomate. Canela 1: 6,25 μL /caja de Petri; Canela 2: 3,125 μL /caja de Petri; Control: agua; Tw20: 25 μL /caja de Petri.

El AE de eucalipto (Gráfico 4), retrasó la germinación, pero no se observaron diferencias significativas al final del ensayo con respecto al control.

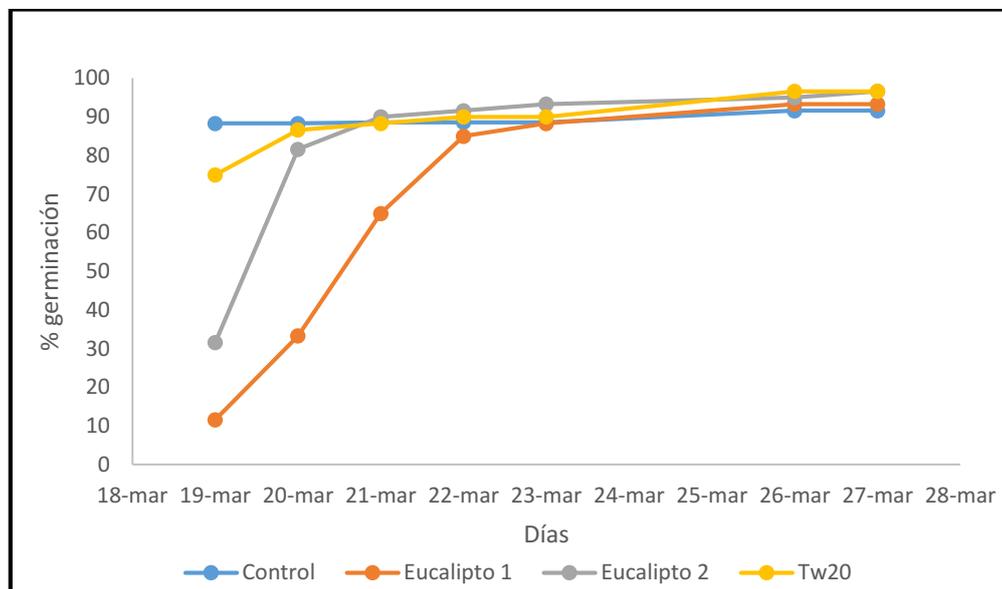


Gráfico 4. Respuesta del AE de eucalipto sobre la germinación de semillas de tomate Eucalipto 1: 6,25 μL /caja de Petri; Eucalipto 2: 3,125 μL /caja de Petri; Control: agua; Tw20: 25 μL /caja de Petri.

Por último, con el insecticida abamectina (Gráfico 5) se obtuvieron resultados que indican un retraso en la germinación de dos días, pero no hubo diferencias en el poder germinativo al finalizar el ensayo con respecto al control.

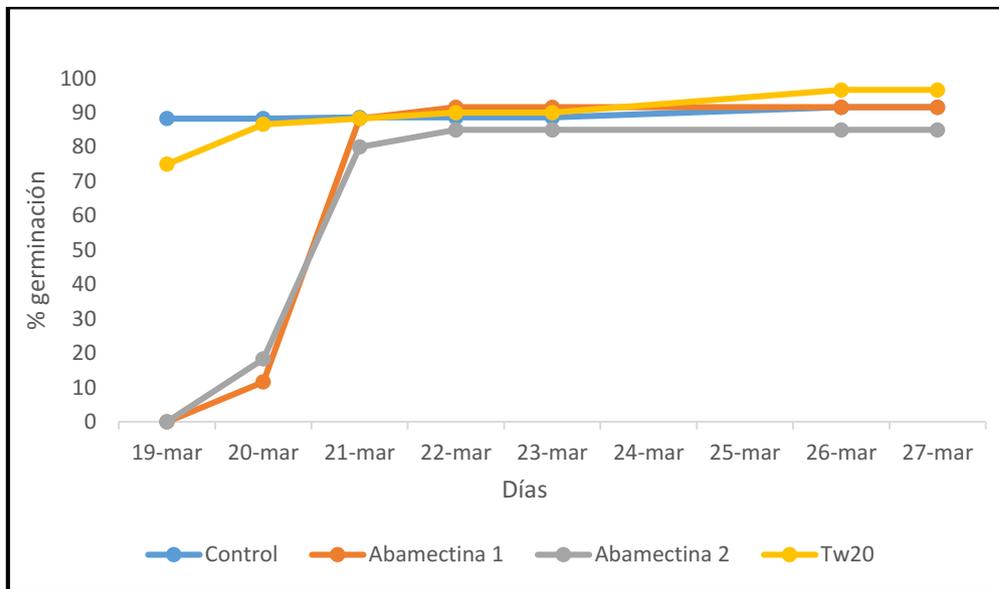


Gráfico 5. Respuesta de la Abamectina sobre la germinación de semillas de tomate Abamectina 1: 18 μ L/caja de Petri; Abamectina 2: 9 μ L/caja de Petri; Control: agua; Tw20: 25 μ L/caja de Petri.

En los ensayos de germinación se observó que los aceites esenciales de menta, eucalipto y canela retrasaron el inicio de la germinación de las semillas de tomate, pero no provocaron un efecto inhibitorio sobre la germinación. El AE de laurel si presentó un efecto inhibitorio con ambas dosis. El efecto de los aceites esenciales sobre el poder germinativo es dependiente de la concentración aplicada pudiendo no mostrar efecto o incluso llegar a producir efectos estimulantes, mientras que otras superiores ejercen efectos inhibitorios. Henning *et al.* (2015) estudiaron el efecto de distintos quimiotipos de aceites esenciales de *Lippia alba* en la germinación de semillas de lotus (*Lotus tenuis*), trébol (*Trifolium repens*) y Festuca (*Festuca sp.*), encontrando que los mismos presentaron efectos alelopáticos sobre las tres especies evaluadas observándose una interacción componente-especie-dosis significativa. La complejidad de los mecanismos de acción y de los diversos componentes de los aceites determinan la toxicidad sobre una especie determinada, ya que puede ocurrir que la especie sea sensible o no según su metabolismo. Como los AE son una mezcla de sustancias químicas complejas puede ser que los

efectos fitotóxicos estén dados por el conjunto de todos los componentes o por algún componente individual que posea mayor actividad.

Efecto de los AE sobre la emergencia

El AE de menta retrasó la emergencia comparado con el control, no mostrando diferencias significativas al finalizar el ensayo (Gráfico 6).

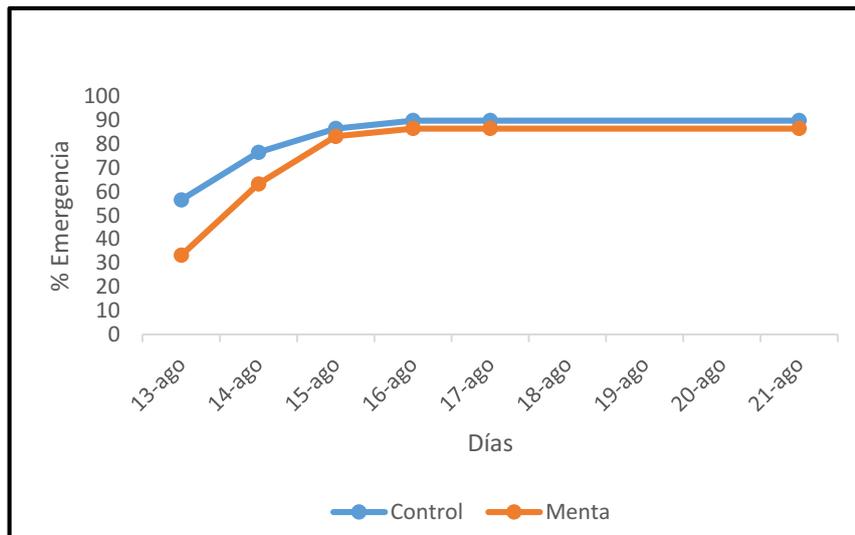


Gráfico 6. Porcentaje de emergencia del tratamiento con AE de menta.

El AE de eucalipto (Gráfico 7), mostró un comportamiento similar al control, sin diferencias durante todo el ensayo.

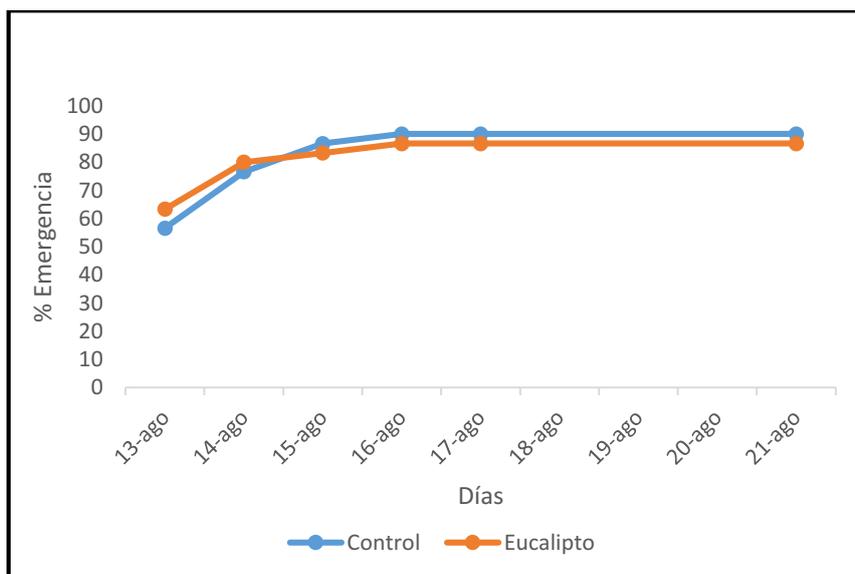


Gráfico 7. Porcentaje de emergencia del tratamiento con AE de eucalipto.

En el tratamiento con AE de laurel (Gráfico 8), las plantas respondieron más rápido durante la emergencia comparadas con el control, pero no se observaron diferencias significativas al final del ensayo.

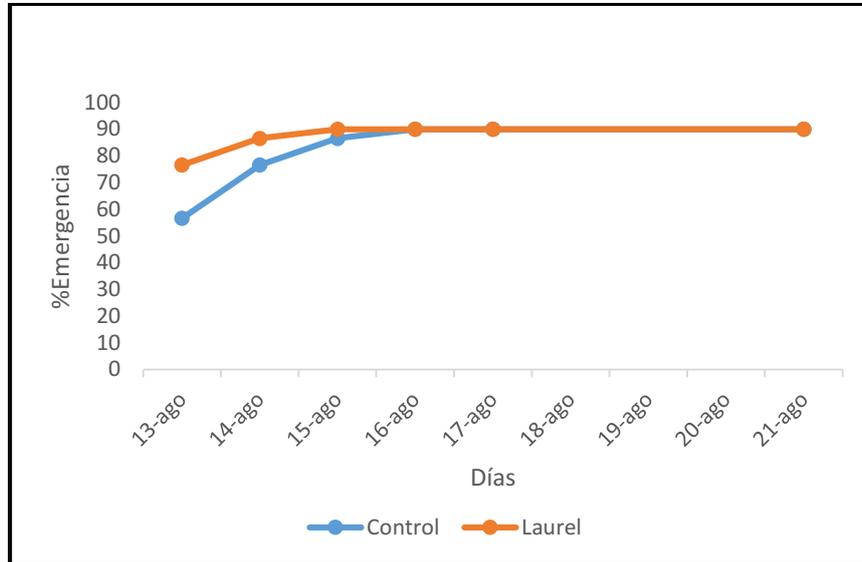


Gráfico 8. Porcentaje de emergencia del tratamiento con AE de laurel.

La aplicación del AE de canela (Gráfico 9) también registró un retraso en la emergencia con respecto al control. Sin embargo, al finalizar el ensayo el % de emergencia fue de 83,3% para canela y 90 % para el control.

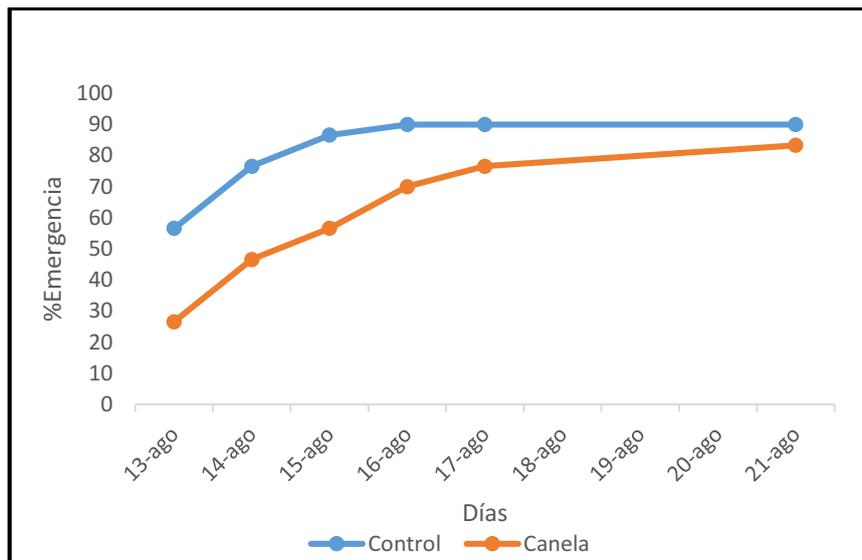


Gráfico 9. Porcentaje de emergencia del tratamiento con AE de canela.

En el tratamiento de abamectina (Gráfico 10), no se observaron diferencias significativas con respecto al control, durante todo el ensayo.

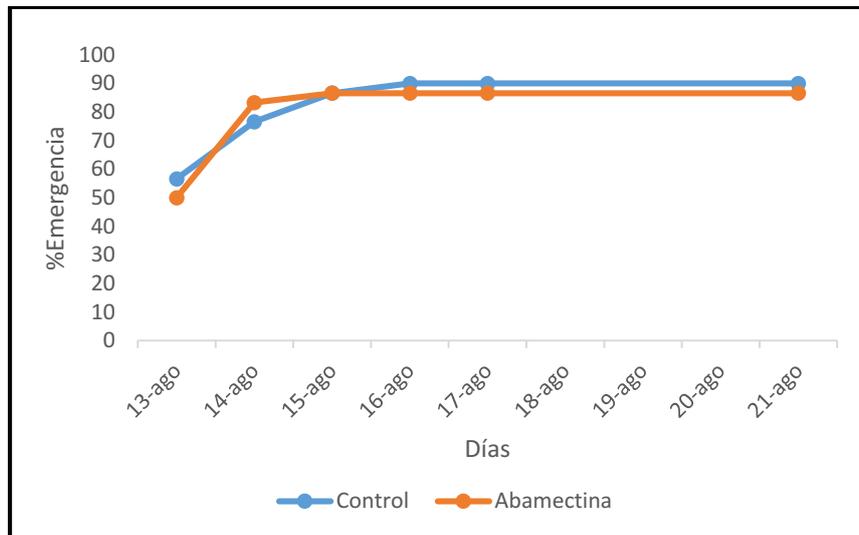


Gráfico 10. Porcentaje de emergencia del tratamiento con abamectina.

Efecto de los AE sobre el crecimiento inicial

Como se mencionó en el apartado de Materiales y Métodos, en este ensayo se analizaron: número de hojas, altura, diámetro de tallo y peso fresco y peso seco de las plántulas. En la Tabla 1 pueden apreciarse las medidas iniciales al momento del trasplante.

Tabla 1. Medidas iniciales de las plantas de tomate al trasplante.

Altura (cm)	5
N° hojas	2
Diámetro tallo (cm)	0.2
Peso fresco (gr)	0,302
-parte aérea	0,204
-parte radical	0,088
Peso seco (gr)	0,075
-parte aérea	0,0507
-parte radical	0,02426

Los resultados obtenidos al final del ensayo son los que se presentan a continuación:

Analizando el número de hojas expandidas (Gráfico 11), el control fue quién presentó el mayor número, seguido de aquellas plantas a las que se les aplicó AE de eucalipto, con diferencias significativas siguieron menta, canela, laurel y abamectina.

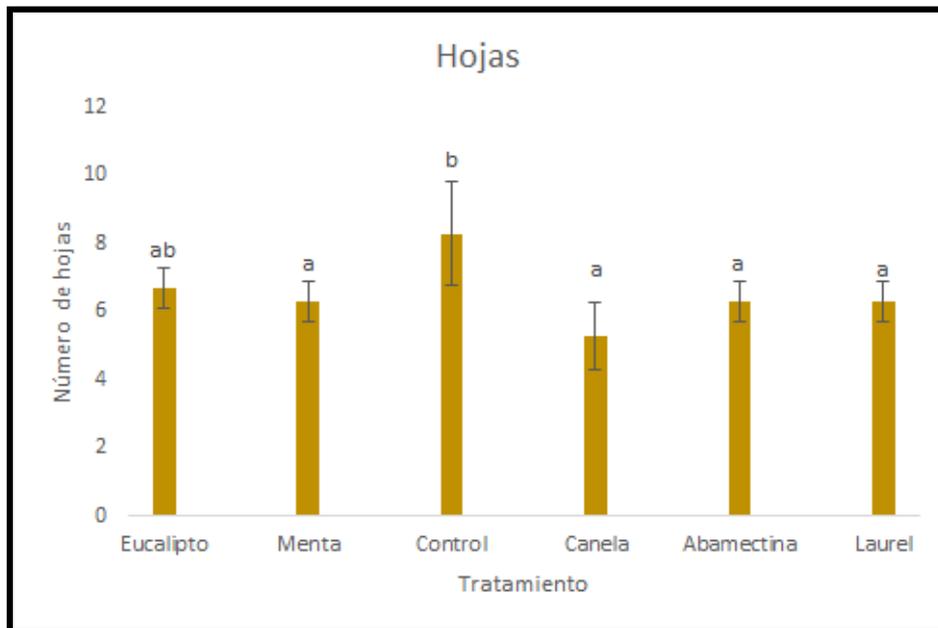


Gráfico 11. Efecto de los distintos tratamientos sobre el número de hojas expandidas de las plantas de tomate.

En la medición de altura (Gráfico12), no hubo diferencias significativas entre los AE, excepto el tratamiento con canela comparado con el control. Nuevamente, fue el control quien registro los mayores valores.

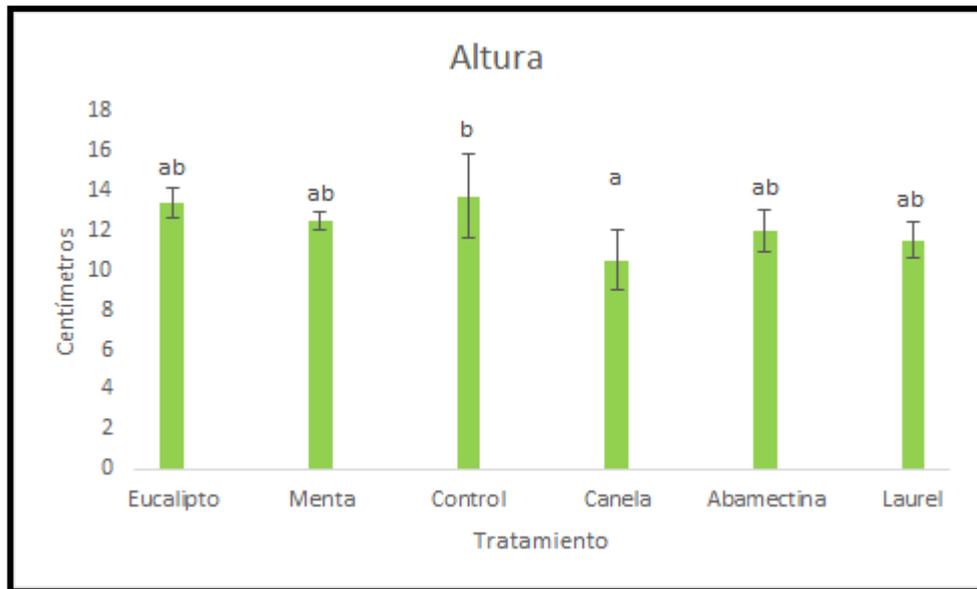


Gráfico 12. Efecto de los distintos tratamientos sobre la altura final de las plantas de tomate

Otro parámetro medido fue el diámetro del tallo (Gráfico 13) donde no hubo diferencias significativas entre los distintos aceites, pero si entre el AE de laurel y el control.

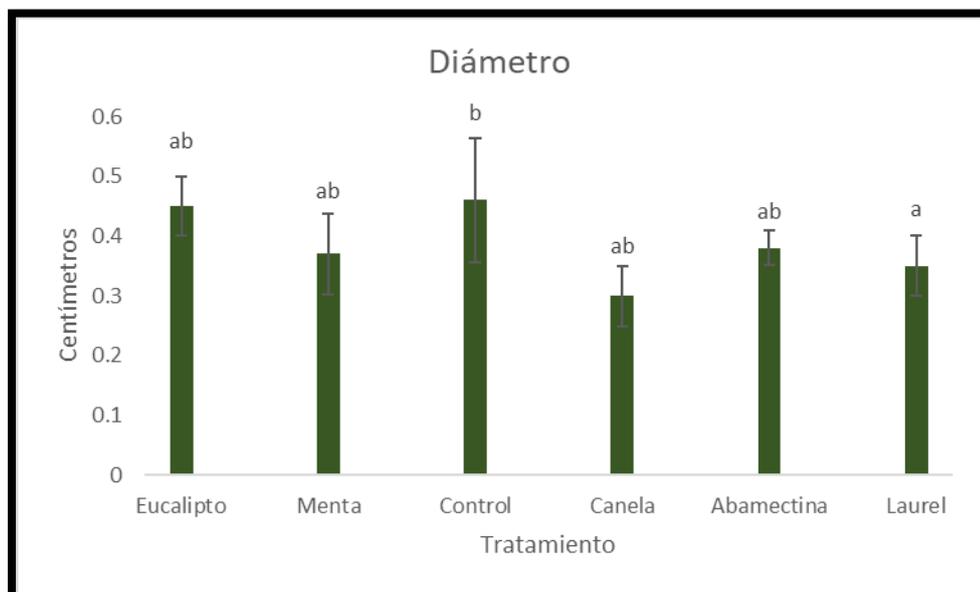


Gráfico 13. Efecto de los distintos tratamientos sobre el diámetro del tallo de las plantas de tomate.

En cuanto al peso fresco total (Gráfico 14), el AE de laurel registró uno de los valores más bajo, junto con el tratamiento de abamectina, el cual presentó diferencias significativas con el control, caso que no ocurrió con los otros AE. En el peso fresco aéreo (Gráfico 15) todos los tratamientos con AE difirieron significativamente con el control. Los AE de eucalipto, laurel y el insecticida abamectina disminuyeron significativamente el peso fresco de la raíz (Gráfico 16) con respecto al control.

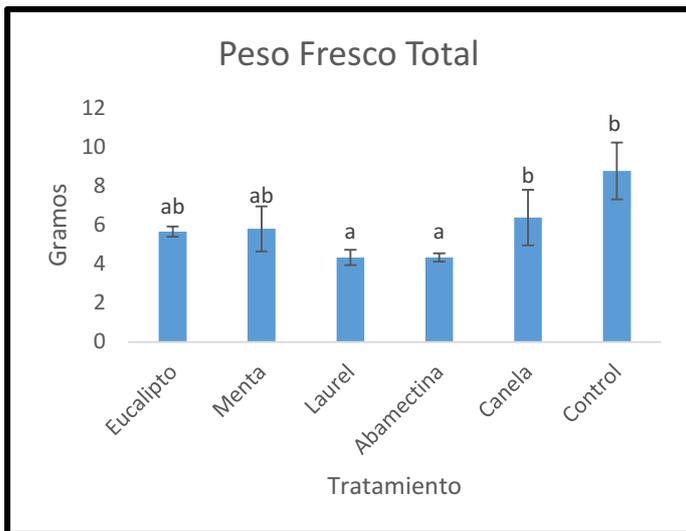


Gráfico 14. Efecto de los distintos tratamientos sobre el peso fresco total de las plantas de tomate

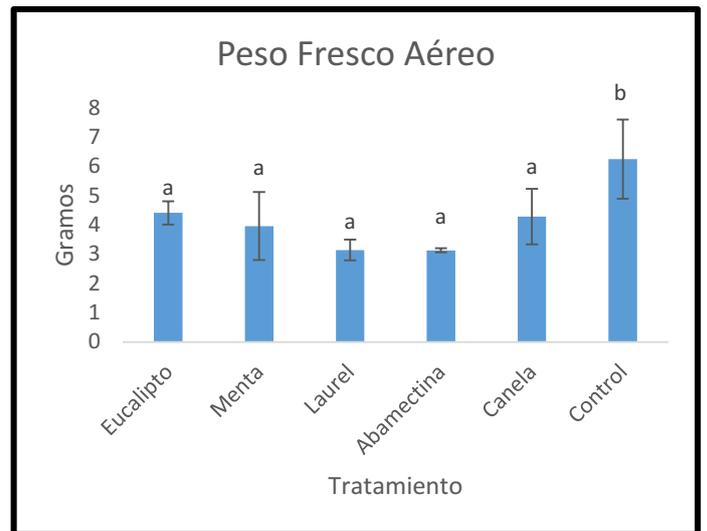


Gráfico 15. Efecto de los distintos tratamientos sobre el peso fresco aéreo de las plantas de tomate.

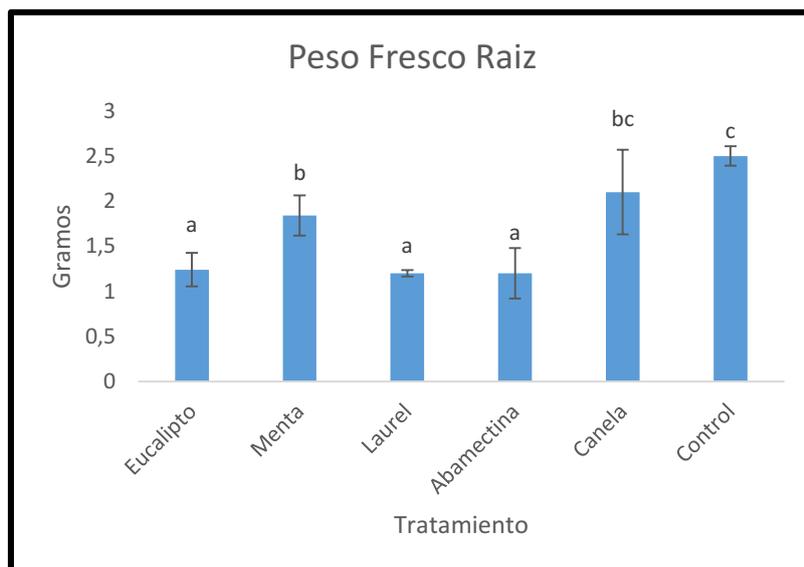


Gráfico 16. Efecto de los distintos tratamientos sobre el peso fresco de raíz de las plantas de tomate.

Respecto al peso seco, se observó la misma tendencia que en el peso fresco, como se puede observar en los gráficos 17, 18 y 19.

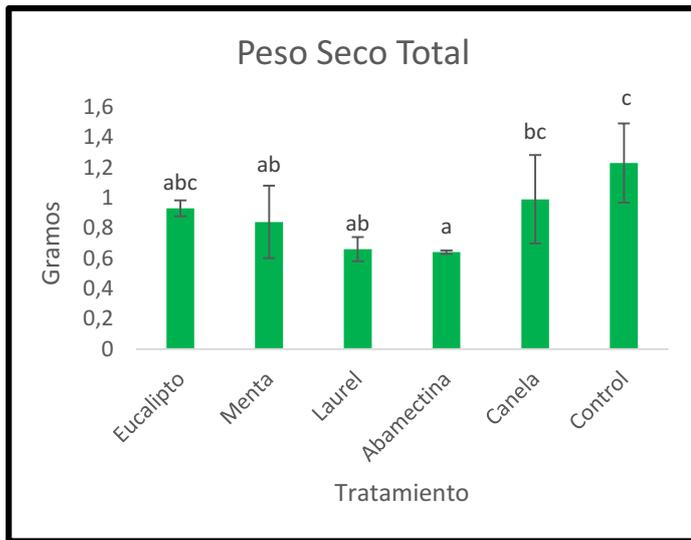


Gráfico 17. Efecto de los distintos tratamientos sobre el peso seco total de las plantas de tomate.

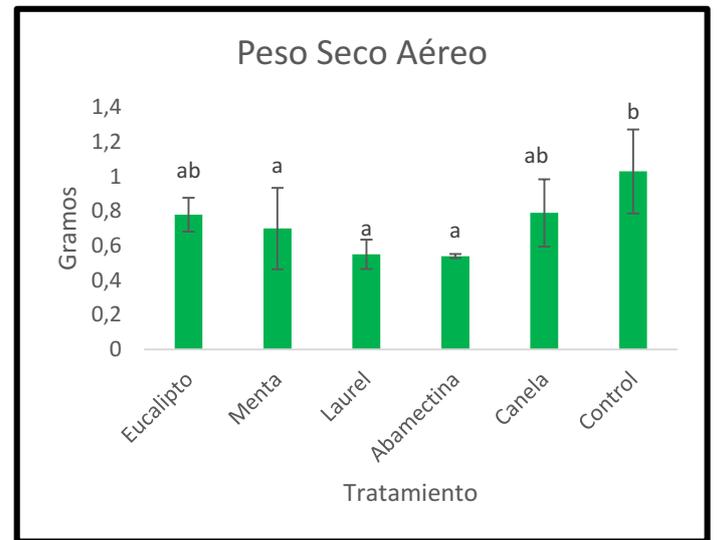


Gráfico 18. Efecto de los distintos tratamientos sobre el peso seco aéreo de las plantas de tomate.

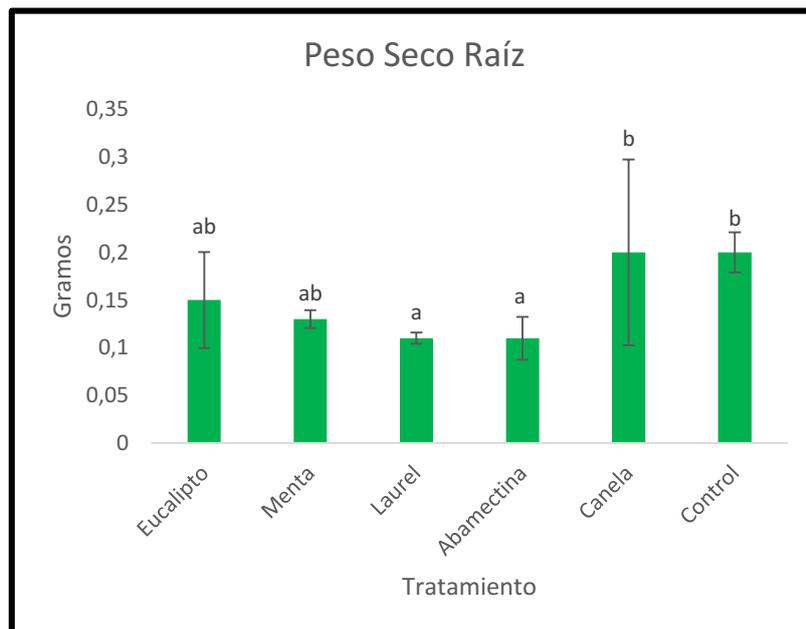


Gráfico 19. Efecto de los distintos tratamientos sobre el peso seco de la raíz de las plantas de tomate.

La reducción en los parámetros de crecimiento evaluados por efecto de la aplicación de los AE puede ser el resultado de la acción de ciertos componentes y de las dosis empleadas. Algunos compuestos tales como, el camphor, el 1,8-cineol y el 1,4-cineol presentaron efectos inhibitorios sobre el crecimiento con diferentes modos de acción (actuando sobre la mitosis, respiración, etc) (Barton *et al.*, 2010). Derivados hidroxí y ester del 1,8-cineol y 1,4-cineol, mostraron actividad herbicida contra *Lolium multiflorum* y *Raphanus sativus*, destacando que la fitotoxicidad del 1,8-cineol puede deberse a la hidrólisis de los ésteres que se producen cuando las plantas lo asimilan para producir hidroxicineol y ácido carboxílico (Barton *et al.*, 2010).

Evaluación del efecto de los AE sobre la eclosión de huevos de Nacobbus aberrans

En este parámetro se pudo observar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, en las condiciones del ensayo (gráfico 20).

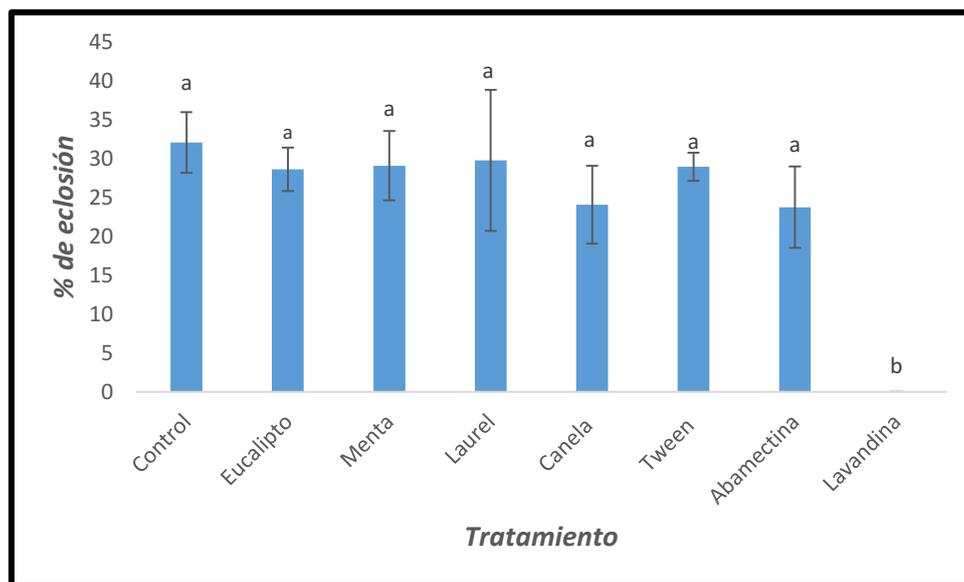


Gráfico 20. Efecto de los distintos tratamientos sobre la eclosión de huevos de *N. aberrans*.

Ibrahim *et al.* (2006) probaron distintas dosis de componentes principales de AE como carvacrol, timol, linalol, terpenol y lomentona observando una reducción en la eclosión de huevos de *Meloidogyne incognita*.

Evaluación del efecto de los AE sobre la movilidad de Nacobbus aberrans

Los AE redujeron significativamente la movilidad de los juveniles del nematodo. El AE de canela y eucalipto la inhibieron completamente y los AE de menta y laurel en aproximadamente 98% (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de los AE sobre la movilidad de juveniles de *N. aberrans*

TRATAMIENTO	% MOVILIDAD o formas móviles	LSD Fisher
Control	89,7	B
Tween20	90	B
Lavandina	0	A
Abamectina	0	A
Eucalipto	0	A
Canela	0	A
Menta	0,85	A
Laurel	1,22	A

Ibrahim, (2006) determinaron que ciertos componentes de AE tales como. carvacrol, timol, linalol, terpenol y la mentona presentan efectos letales sobre formas juveniles del nematodo *Meloidogyne incognita*. Dichos componentes forman parte de los AE evaluados en este ensayo, por lo que podría explicar los resultados sobre *Nacobbus aberrans*. Existen sustancias que tienen efecto nematostático que paralizan los individuos, pero luego de un tiempo al desaparecer el principio activo que los afecta recuperan la movilidad y otras tiene efecto nematicida o letal. En este caso, se puede afirmar que todos los tratamientos tuvieron un efecto nematostático y nematicida lo que se comprobó pasando los nematodos tratados con los aceites a agua destilada por 24 horas.

Evaluación del efecto de los AE sobre el número de juveniles

Los AE de menta y laurel, disminuyeron un 31% y 49 % respectivamente el número de juveniles con respecto al control, mientras que los AE de eucalipto y canela lo redujeron por completo (tabla 3).

Tabla 3. Recuento final de juveniles.

TRATAMIENTO	Nº JUVENILES	LSD Fisher
Menta	300	B
Control	437.5	A
Abamectina	0	E
Canela	0	E
Laurel	225	C
Eucalipto	0	E
Lavandina	75	D

Ensayo a campo

Evaluación del efecto de los AE sobre el rendimiento

En el gráfico 21, se observan los datos de rendimiento a cosecha. El tratamiento con AE de eucalipto obtuvo los mejores rindes seguidos por Abamectina, Laurel y Menta; Canela y el Control no presentaron diferencias significativas.

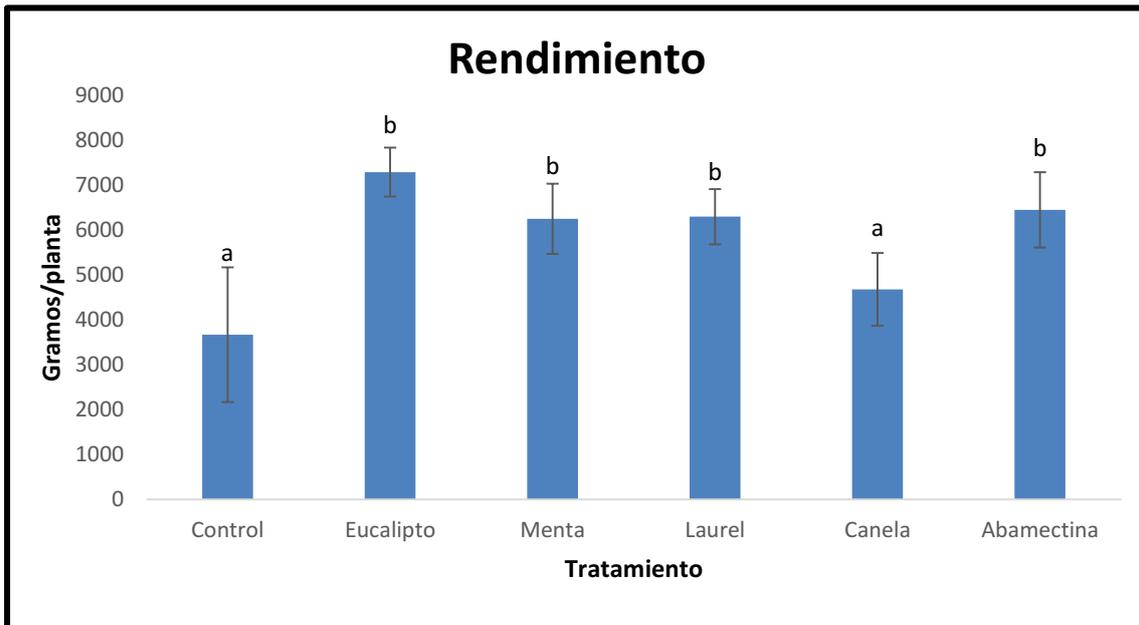


Gráfico 21. Efecto de los distintos tratamientos sobre el rendimiento de las plantas de tomate.

Recuento del número de huevos de *Nacobbus aberrans* en raíces

Al finalizar el ensayo se procesaron las raíces y se realizó el recuento de huevos con microscopio óptico (gráfico 22). Los tratamientos con AE de eucalipto, menta y canela disminuyeron significativamente el número de huevos en las raíces, con respecto al control, como así también el tratamiento al que se le aplicó abamectina. La aplicación de AE de laurel no ejerció ningún efecto sobre este parámetro.

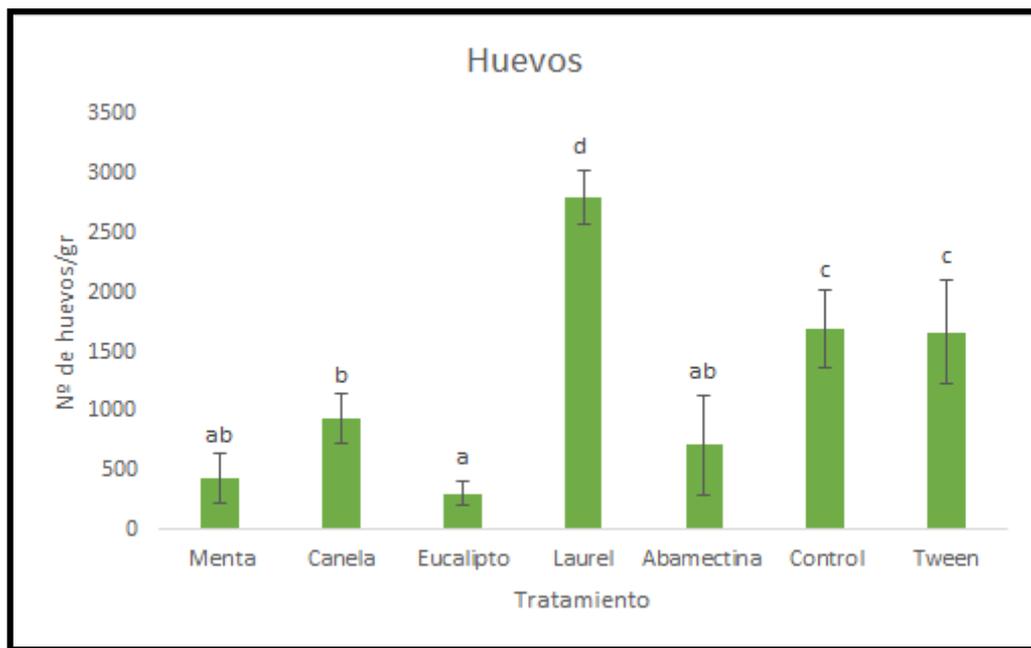


Gráfico 22. Efecto de los distintos tratamientos sobre el número de huevos totales de *N. aberrans*

Recuento de agallas

Los resultados obtenidos en el recuento de agallas (Gráfico 23) coincide con los resultados obtenidos en el número de huevos, donde se observó un menor valor en los tratamientos con AE de menta y eucalipto. En las figuras 18, 19, 20, 21, 22 y 23 se muestran las agallas y el desarrollo de la raíz de las plantas de tomate.

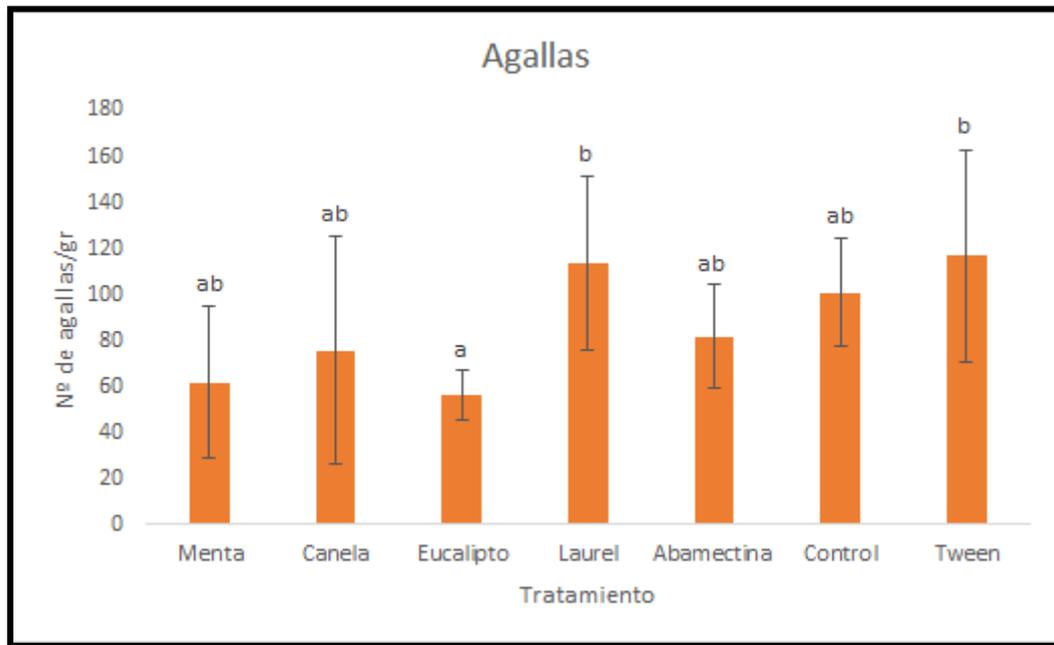


Gráfico 23. Efecto de los distintos tratamientos sobre el número de agallas/gramo de raíz.



Figura 18. Raíz tratada con aceite esencial de menta.



Figura 19. Raíz tratada con aceite esencial de eucalipto.



Figura 20. Raíz control.



Figura 21. Raíz tratada con aceite esencial de canela.



Figura 22. Raíz tratada con abamectina.



Figura 23. Raíz tratada con aceite esencial de laurel.

Muchos autores concluyen en la efectividad de los AE para el control de nematodos. Según Ripodas *et al.*, 2018, la multiplicación de nematodos en las raíces disminuye con las aplicaciones realizadas y consecuentemente, disminuye el inóculo en el siguiente cultivo. Según los resultados expuestos, lo mismo ocurrió durante este ensayo. El autor mencionado, obtuvo una mejor respuesta que los resultados expuestos, pero podría deberse a que los tratamientos fueron aplicados sobre una especie invernal (*Beta vulgaris* var. Cicla L.) donde también los nematodos presentan tasas reproductivas más bajas y menor actividad, producto de las bajas temperaturas.

Lo mismo se observó con un estudio en tomate (Laquale *et al.*, 2015) donde analiza AE de *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus citriodora*, *Ruta graveolens* y *Mentha piperita*, cuyos efectos redujeron significativamente la multiplicación y formación de agallas de *Meloidogyne incognita*, en las raíces, por lo que valida los resultados obtenidos.

CONCLUSIÓN

- La aplicación de AE puede causar un retraso en el proceso de germinación, pero el porcentaje de semillas germinadas no se ve comprometido de manera significativa, salvo en el caso del AE del laurel que sí posee un efecto negativo en el proceso de germinación de semillas de tomate.
- Los aceites esenciales no tienen efecto tóxico durante la emergencia y el crecimiento de las plántulas aplicados en una concentración de 1,25 µl /mL.
- La aplicación en drench de los aceites esenciales de eucalipto y menta contribuyen a reducir la población de *Nacobbus aberrans* en el suelo.
- Los aceites esenciales tienen diferencias significativas con el control respecto al crecimiento, pudiendo comprometer la producción de biomasa por parte del cultivo.
- El rendimiento de frutos, con la aplicación del aceite esencial de eucalipto fue superior al resto de los tratamientos.
- Las aplicaciones de AE de *Mentha piperita* y *Eucalyptus globulus* redujeron significativamente el número de huevos, mientras que el tratamiento con *Laurus nobilis* no produjo diferencias con respecto al testigo.
- Los AE no afectaron la eclosión de los huevos, quizás por ser estructuras de resistencia, pero mostraron efecto sobre las formas juveniles y adultos de *N. aberrans*, reduciendo su movilidad y número.

Se podría decir que los aceites esenciales son una herramienta complementaria a la hora de pensar en un manejo integrado, ya que presentan baja toxicidad y son biodegradables.

El bajo rendimiento en aceites esenciales de las especies aromáticas, dificultaría la producción en masa. Sin embargo, no se descarta su efectividad. Por esto mismo, a pesar de ser efectivo el tratamiento, no se debe recurrir a una dependencia de éste como solución a todos los problemas con nematodos, sino que es una práctica complementaria al manejo de adversidades bióticas por lo que es necesario evaluar los sinergismos y antagonismos de esta práctica con otras utilizadas en la horticultura local.



PRESENTACIONES

Como información adicional, se destaca que resultados parciales de los contenidos en este trabajo fueron presentados en el XXXV Congresso Brasileiro de Nematología. 24 al 29 de junio de 2018. Bento Gonçalves (RS).

Garita, S.; Bernardo, V.; De Lillo, T.; Ripodas, J.; Arango, M.; Ruscitti, M. Óleos essenciais aplicados em drench reduzem a população de *Nacobbus aberrans* em fazendas de produção de tomate. Essential oils applied as drench reduce population of *Nacobbus aberrans* in tomato production farms.

BIBLIOGRAFÍA

Adlercreutz, E. A.; Chaves, E.; Mondino, A.; Szczesny. 2007. Fluctuación poblacional de juveniles del segundo estadio de *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne* sp. bajo condiciones de invernáculos. (Período Sept. 2004 / Oct. 2007). INTA. 2pp.

Alcoser, H.; Murguía-Cordova, J.; Murguía, C. 2006. Efectos de solarización y enmiendas orgánicas contra el nematodo del nudo *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de vivero. *Universalía*, 11 (1): 13-22.

Alippi, A. M., J. A. Ringuet, E. L. Cerimele, M. S. Re and C. P. Henning. 1996. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils Against *Paenibacillus larvae*, the Causal Agent of American Foulbrood Disease. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 4: 9-16.

Herbicidal Activity of Cineole Derivatives

Arregui, M. C.; Bertolacini, I.; Sánchez, D.; Scotta, R. 2012. Reglamentación sobre el uso de plaguicidas en el área periurbana. En: *Manual de horticultura periurbana*. Mitidieri, M. y Corbino, G. Eds. INTA. pp. 29-31.

Baermann, G. 1917. Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. *Geneesk. Tijdschr. Ned-Indië*, 57:131-137.

Bandoni, A. L. 2002. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Editorial de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires.

Barbosa, P.; Lima, A. S.; Vieira, P.; Dias, L. S.; Tonoco, M. T.; Barroso, J. G.; Pedro, L. G.; Figueiredo, A. C.; Mota, M. 2010. Nematicidal activity of essential oils and volatiles derived from Portuguese aromatic flora against the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *Journal of Nematology*, 42:8-16.

Barton, A. 2000. Industrial uses of Eucalyptus. Available online at <http://www.oilmallee.com.au/docs/BARTON.doc>.

Barton, A. F. M.; Dell, B.; Knight, A. R. 2010. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 10147–10155 DOI:10.1021/jf101827v.

Bioescenciales: aceite esencial de canela bio de elaborabio. 2019. www.biovegetalis.blogspot.com

Bocer, S. L. 2002. Cultivos protegidos y problemas ambientales: un estudio de la horticultura marplatense en la década del noventa. Tesis de Maestría, Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales, Universidad Nacional de Mar del Plata.

Bongiorno, M.; Larrosa, C.; Maidana, A.; Arenas, M.; Cruz, Y.; López, R.; Gianuzzi, L.; Cap, G. 2009. Biofumigación con recursos locales: el caso de la producción hortícola de los quinteros del Parque Pereyra Iraola. *LEISA revista de agroecología*.

CABI & EPPO. 1997. Quarantine pests for Europe. 2da Edición. CAB International, Wallingford, UK. 1425 pp.

Castillo, P. G.; Marbán-Mendoza, N. 1984. Histopatología y desarrollo de *Nacobbus aberrans* Thorne & Allen 1944 en raíces de *Capsicum annuum* y *C. baccatum*. *Agrociencia*, 56: 85-93.

Censo Hortiflorícola de Buenos Aires 2005 (CHFBA'05). 2008. Publicación de información pormenorizada de la Región de La Plata. Ministerio de Asuntos Agrarios y Ministerio de Economía de la Prov. de Buenos Aires.

Cieza, R. I.; Ferraris, G.; Seibane, C.; Larrañaga, G.; Mendicino, L. 2015. Aportes a la caracterización de la agricultura familiar en el Partido de La Plata. *Rev. Fac. Agron.* Vol 114 (Núm. Esp.1): 129-142.

Coolen, W. A. 1979. Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. Pp. 317-330 in F. Lamberti and C.E. Taylor, eds. Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species) Systematics, Biology and Control. *Academic Press*, New York, NY, U.S.A.

Curso de Horticultura y Floricultura 2018 (Guía didáctica), Universidad Nacional de La Plata.

Del Pino, M. 2016. Guía didáctica: cultivo y manejo del tomate. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Agrarias. Curso de Horticultura y Floricultura. pp 1-6.

Doucet, M. E.; Lax, P. 2005. El género *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 en Argentina. 6. La especie *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchida) y su relación con la agricultura. In *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria* (Vol. 59, pp. 5-45).

EPPO. 2011. PQR-EPPO Database on Quarantine Pests. Disponible: <http://www.eppo.int>. Genes C.; Baquero E.; Echeverri F.; Maya J. D. & Triana

O., 2011. Mitochondrial dysfunction in *Trypanosoma cruzi*: the role of *Serratia marcescens* prodigiosin in the alternative treatment of Chagas disease. *Parasites Vectors*, 4: 66-70.

Espitia, C. 2011. Evaluación de la actividad repelente e insecticida de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas (*Cymbopogon citratus* y *Tagetes lucida*) utilizados contra *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/4264/1/05598931.2011.pdf> [Fecha revisión: 18 octubre 2012].

Figueredo Rodríguez, M.; Bello Pérez, A.; Piedra Buena, A.; Díez Rojo, M. 2011. Evaluación del uso de residuos agrícolas como biofumigantes en el control de nematodos. *Centro Agrícola* 38(2):15-19.

García, M. 2012. Análisis de las transformaciones de la estructura agraria hortícola platense en los últimos 20 años. El rol de los horticultores bolivianos. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de La Plata.

Garita, S.; Bernardo, V.; De Lillo, T.; Ripodas, J.; Arango, M.; Ruscitti, M. Óleos essenciais aplicados em drench reduzem a população de *Nacobbus aberrans* em fazendas de produção de tomate. XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia. 24 al 29 de junio de 2018. Bento Gonçalves (RS).

González-Guiñez, R.; Silva-Aguayo, G.; Urbina-Parra, A.; Gerding-González, M. 2016. Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill y *Eucalyptus nitens* H. Deane & Maiden (Myrtaceae) para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 32(3), 204-216

Gupta, A.; Sharma, S.; Naik, S. N. 2011. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. *Int Biodeter Biodeg*, 65: 703-707.

Henning, C.; Arango, M. C.; Yordaz, R.; Viña, S. "Efectos alelopáticos de los aceites esenciales de cuatro quimiotipos de *Lippia alba* evaluados en bandejas germinadoras. 38° Congreso Argentino de Horticultura. ASAO. 5 al 8 de octubre de 2015. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

Hewezi, T.; Baum, T. 2013. Manipulation of plant cells by Cyst and Root-Knot Nematode Effectors. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 26(1): 9-16.

Ibrahim, S. K.; Traboulsi, A. F.; El-Haj, A. 2006. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. *Phytopathol. Mediterr.* 45, 238–246

INDEC. 2010. Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010.

Inserra, R. N.; Griffin, G. D.; Anderson, J. L. 1985. The false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. Utah Agricultural Experiment Station. Logan, Utah., USA. *Research bulletin* 510.

Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection.* 19: 603–608.

Jaramillo, J.; Rodríguez, V. P.; Guzmán, M.; Zapata, M.; Rengifo, T. 2007. Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas. FAO. Antioquia, Colombia. ISBN 978-92-5-305833-4.

Jatala, P. 1985. El nematodo falso nodulador de la raíz *Nacobbus* spp. En: Fitonematología Avanzada I. Marbán, N.e I. J. Thomason. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méjico. 345 p.

Jensen, H.; Armstrong, J.; Jatala, P. 1978. Annotated Bibliography of Nematode Pests of Potato. International Potato Center and Oregon State University Agricultural Experiment Station Corvallis. Lima, Perú. 315 p.

Kimpinski, J.; Arsenault, C.; Gallant, A.; Sanderson, J. 2000. The effect of marigolds (*Tagetes* sp.) and other cover crops on *Pratylenchus penetrans* and on following potato crops. *Journal of Nematology*, 32: 531-536.

Laquale, S.; Candido, V.; Avato, P.; Argentieri, M. P.; D'Addabbo, T. 2015. Essential oils as soil biofumigants for the control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. *Annals of Applied Biology*, ISSN 0003-4746 .

Lax, P.; Becerra, A.; Soteras, F.; Cabello, M.; Doucet, M. E. 2011. Effect of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans* in tomato plants. *Biol Fertil Soils.* 47: 591–597.

Manzanilla-López, R. H.; Costilla, M. A.; Doucet, M.; Franco, J.; Inserra, R. N.; Lehman, P. S.; Cid del Prado-Vera, I.; Souza, R. M.; Evans, K. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): Systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32: 149-227.

Manzanilla-López, R. H.; Quénehervé, P.; Brito, J. A.; Giblin-Davis, R.; Franco, J.; Román, J.; Inserra R. N., 2008. Contributions by Latin American nematologists to the study of nematode plant disorders and related impact on

crop production. En: *An Anecdotal History of Nematology*. Eds. Webster J. M., Eriksson J. M. & McNamara K. B. Pensoft, Sofia-Moscú: 191-218.

Mezquiriz, N. 2000. Alternativas químicas al uso de bromuro de metilo. Cultivo de tomate. Seminario de cierre Alternativas al uso del bromuro de metilo en frutilla, tomate y flores de corte. Proyecto MP/ARG/97/186: 18-22.

Oka, Y. 2012. Nematicidal activity of *Vervesina encelioides* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* and effects on plant growth. *Plant Soil*, 355:311-322.

Pandey, R., Kalra, A.; Tandon, S.; Mehrotra, N.; Singh, H. N.; Kumar, S. 2000. Essential oils as potent source of nematicidal compounds. *Journal of Phytopathology*, 148, 501-502.

Pérez, E. (2012). Plaguicidas botánicos: Una alternativa a tener en cuenta. *Fitosanidad*, 16 (1), 51-59.

Puertas, A.; de la Noval, B. M.; Martínez, B.; Miranda, I.; Fernández, F.; Hidalgo-Díaz, L. 2006. Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita*. *Rev. Protección Veg.* Vol. 21 No. 2: 80-89.

Radwan, M. A.; Farrag, S. A. A.; Abu-Elamayem, M. M.; Ahmed, N. S. 2012. Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology*, 56: 58-62.

Ringuelet J. A, Urrutia M. I, Yordaz R. M, Henning C. P. 2012. Actividad insecticida de aceites esenciales de laurel y lemongrass sobre *Bemisia tabaci*. *Bol. San. Veg. Plagas*, 38: 353-360.

Ringuelet, J. A.; Viña, S. Z. 2013. Productos naturales vegetales, coordinado por Jorge Abel Ringuelet. - 1a ed. - La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 2013 e-Book 173 pp

Rípodas J. I., Garita S., Ruscitti M., Arango M.C. 2017. Tratamientos no convencionales para el control de *Nacobbus Aberrans* en acelga. *Revista Investigación Joven*, Vol 4 (2) (2017).

Rípodas, J. I.; Garita, S.; Bernardo, V., Ruscitti, M.; Arango, M. C; Hernández, M. 2018. Efecto de la aplicación in vitro de aceites esenciales sobre *Nacobbus aberrans* y *Paecilomyces lilacinus*. *Revista Domiguezia*. p112

Sánchez, E.; García, D.; Carballo, C.; Crespo, M. 1996. Estudio farmacognóstico de *Mentha x piperita* L. (toronjil de menta). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, V1 n.3.

Sánchez Delgado, G. A. 2007. Comportamiento de las principales variedades comerciales de tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill) al parasitismo de los nematodos “nudo de la raíz” (*Meloidogyne incognita*) y “rosario de la raíz” (*Nacobbus aberrans*) en Ibarra-Imbabura. Tesis de Ingeniero Agropecuario.

Sánchez Portillo, J. F. 2010. Efecto de quitina y quitosano sobre huevos y juveniles de nemátodos formadores de nódulos radiculares, *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de in vitro e in vivo.

Souza Casadinho, O.; Bocero, S. 2008. Agrotóxicos: Condiciones de utilización en la horticultura de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). *Revista Iberoamericana de Economía Ecológica*, 9: 87-101.

Stavisky, A. 2010. Situación actual de la plasticultura en Argentina. En XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. Rosario: Asociación Argentina de Horticultura (ASAHO).

Vilaseca, J. C.; Font, M. E.; Jord, C. 2006. Biofumigación y biosolarización en el control de ToMV: una buena alternativa al bromuro de metilo. *Agroecología*, 1:105-115.

ANEXO

Tablas ANOVA

Ensayo de germinación

Germinación dosis 1

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.86	5	0.37	23.07	<0.0001
Tratam	1.86	5	0.37	23.07	<0.0001
Error	0.19	12	0.02		
Total	2.05	17			

Germinación dosis 2

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.30	5	0.06	4.09	0.0212
Tratam	0.30	5	0.06	4.09	0.0212
Error	0.18	12	0.01		
Total	0.47	17			

Ensayo de emergencia

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.04	5	0.01	0.20	0.9552
Tratamiento	0.04	5	0.01	0.20	0.9552
Error	0.48	12	0.04		
Total	0.52	17			

Ensayo de crecimiento

Numero de hojas

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14.44	5	2.89	2.89	0.0613
Tratamiento	14.44	5	2.89	2.89	0.0613
Error	12.00	12	1.00		
Total	26.44	17			

Altura

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	22.32	5	4.46	1.63	0.2267
Tratamiento	22.32	5	4.46	1.63	0.2267
Error	32.93	12	2.74		
Total	55.26	17			

Diámetro

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.03	5	0.01	1.56	0.2430
Tratamiento	0.03	5	0.01	1.56	0.2430
Error	0.05	12	4.0E-03		
Total	0.08	17			

Peso fresco aéreo

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	19.71	5	3.94	5.40	0.0079
Tratamiento	19.71	5	3.94	5.40	0.0079
Error	8.77	12	0.73		
Total	28.48	17			

Peso fresco raíz

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4.67	5	0.93	14.11	0.0001
Tratamiento	4.67	5	0.93	14.11	0.0001
Error	0.79	12	0.07		
Total	5.46	17			

Peso fresco total

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	13.47	5	2.69	3.72	0.0367
Tratamiento	13.47	5	2.69	3.72	0.0367
Error	7.25	10	0.72		
Total	20.71	15			

Peso seco aéreo

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.50	5	0.10	3.53	0.0342
Tratamiento	0.50	5	0.10	3.53	0.0342
Error	0.34	12	0.03		
Total	0.84	17			

Peso seco raíz

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.03	5	0.01	2.63	0.0792
Tratamiento	0.03	5	0.01	2.63	0.0792
Error	0.03	12	2.2E-03		
Total	0.05	17			

Peso seco total

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.73	5	0.15	3.98	0.0232
Tratamiento	0.73	5	0.15	3.98	0.0232
Error	0.44	12	0.04		
Total	1.18	17			

Ensayo de in vitro

Movilidad de juveniles

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.72	5	0.74	285.83	<0.0001
Tratamiento	3.72	5	0.74	285.83	<0.0001
Error	0.03	12	2.6E-03		
Total	3.75	17			

Eclosión de huevos

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.02	6	3.6E-03	1.12	0.4003
Tratamiento	0.02	6	3.6E-03	1.12	0.4003
Error	0.04	14	3.2E-03		
Total	0.07	20			

Número de juveniles

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	551651,79	6	91941,96	102975,00	<0,0001
Tratamiento	551651,79	6	91941,96	102975,00	<0,0001
Error	12,50	14	0,89		
Total	551664,29	20			

Ensayo a campo

Rendimiento

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	101470151.72	6	16911691.95	16.06	<0.0001
Tratamiento	101470151.72	6	16911691.95	16.06	<0.0001
Error	34753930.68	33	1053149.41		
Total	136224082.40	39			

Número de agallas en raíz

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12541.38	6	2090.23	2.05	0.1146
Tratamiento	12541.38	6	2090.23	2.05	0.1146
Error	17352.46	17	1020.73		
Total	29893.84	23			

Número de huevos en raíz

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14358845.75	6	2393140.96	25.03	<0.0001
Tratamiento	14358845.75	6	2393140.96	25.03	<0.0001
Error	1434267.82	15	95617.85		
Total	15793113.57	21			