

I. Título

EFFECTO NEMATICIDA DE LOS ACEITES VEGETALES DE MARIGOLD, CHIJCHIPA Y MUÑA PARA EL CONTROL IN VITRO DE *Nacobbus* spp.

II. Resumen del Proyecto de Tesis

El presente trabajo de investigación se realizará a razón de que en la región de Puno el cultivo de Papa es considerado una actividad esencial para la subsistencia de los pobladores; y en cada campaña agrícola se presentan numerosas plagas y enfermedades, dentro de ellos el *Nacobbus* spp; motivo por el cual se ha propiciado el desarrollo de la presente investigación con el objetivo general de evaluar el efecto nematicida de los aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña para el control in vitro de *Nacobbus* spp; y con los objetivos específicos de demostrar la concentración más efectiva de nematicidas con aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña para el control in vitro de *Nacobbus* spp, y determinar el tiempo de mortalidad in vitro del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) con la aplicación de aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña; obteniendo los aceites vegetales por el método químico denominado "Arrastre por vapor"; para posteriormente obtener los nematodos (*Nacobbus* spp.); empleando el método modificado de Baermann; y con ello aplicar los aceites vegetales de cada planta al 5%, 10% y 15%; todo ello expuesto a un tiempo de: 5, 10 y 15 minutos; en estudio; para así conocer la concentración óptima y tiempo de mortalidad óptima de nematicida con aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña para el control in vitro de *Nacobbus* spp.; y finalmente determinar su efectividad. Esperando que los resultados esperados sirvan para que se expendan nematicidas naturales y amigables con el medio ambiente; haciendo uso sostenible de los recursos naturales para las actuales y futuras generaciones; siendo la agricultura el sustento necesario para las sociedades, por lo que por medio de esta investigación se pretende dar un referente teórico para que ya no se emplee agentes químicos en los cultivos.

III. Palabras claves (Keywords)

Aceites vegetales, control, nematodos, dosis, *Nacobbus* spp.

IV. Planteamiento del problema

Actualmente en el mundo uno de los problemas más relevantes en los productores de diferentes cultivos; como es el caso de la Papa, que es el más consumido del Mundo; es sin duda el ataque de plagas y enfermedades (Ochoa, y otros, 2019); entre las cuales destaca la infestación por nematodos Fito parasitarios; las cuales afectan la raíz de las plantas generando importantes pérdidas económicas (Betancourt, 2020); siendo un Fito parasito que emerge del huevo como juvenil, penetrando a las raíces e invadiendo el tejido vascular generando nódulos que obstruyen el paso de nutrientes y agua hacia la planta ocasionando su muerte (Álvarez & Gutiérrez, 2022); Ante ello para combatir dicha situación surge la aplicación de sustancias con efectos nematicidas pero sin embargo presentan compuestos químicos potencialmente dañinos para los seres vivos; causando afecciones a nivel del sistema nervioso central provocando muerte por paro respiratorio y generando un impacto negativo significativo en el medio ambiente (Iler, 2017).

Así mismo en el Perú al igual que en el mundo existe la predominancia sobre el uso de nematicidas químicos para generar un mejor rendimiento en los cultivos; como es el caso en el cultivo de la Papa; siendo el alimento que mayor se consume (Vilca, 2018); En este tipo de cultivos principalmente se emplea agroquímicos como nematicidas; siendo los tipos organofosforados y carbonatos; sin embargo su uso viene siendo una causal de daños hacia la salud y al medio ambiente; por ello se es necesario investigar otros tipos de estrategias eco amigables con el medio ambiente que puedan minimizar los nematodos y con ello mejorar el rendimiento de los cultivos (Ramos, 2020); Ahondando todo ello se puede decir que los nematodos ejercen una importante

54 influencia en la estructura y estabilidad del ecosistema; las cuales se introducen en las raíces de
55 la planta; alimentándose directamente de ellas; causándoles daños (Cornejo, 2019).

56 En la región de Puno, el cultivo de Papa es considerado una actividad esencial para la subsistencia
57 de los pobladores; y actualmente cada año se suscitan numerosas plagas y enfermedades como
58 son los agentes Fito parasitarios (insectos, hongos, bacterias, virus y nematodos) durante su etapa
59 de crecimiento, desarrollo y post cosecha, disminuyendo significativamente su calidad comercial y
60 rendimiento (Checahuari, 2018). Ante ello se es necesario prácticas de bajo impacto ambiental
61 para el manejo de los nematodos; si bien es cierto que existe algunos productos naturales como
62 extractos de plantas con actividad nematocida; los aceites vegetales han demostrado poseer
63 interesantes propiedades biológicas debido no solo a su carácter hidrofóbico, volatilidad y aroma
64 característico sino porque se encuentran conformados en su mayor parte por terpenos 2 y
65 sesquiterpenos, fenilpropanoides, derivados de hidrocarburos parafínicos, alcoholes, cetonas,
66 ácidos grasos y compuestos que contienen azufre y nitrógeno, que les confiere actividad
67 nematocida.

68 Con base a lo indicando se realizará la experimentación in vitro de la actividad Nematocida con
69 aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña para el control del nematodo de la Papa
70 (*Nacobbus* spp); presentando las siguientes interrogantes.

72 **4.1. Formulación de preguntas del problema**

73 **4.1.1. Problema general**

74 ¿Qué nivel nematocida tendrá los aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña para el control
75 invitro de *Nacobbus* spp?

76 **4.1.1. Problemas específicos**

- 77 • ¿Cuál será la concentración más efectiva de los aceites vegetales con propiedades nematocidas
78 de Marigold, Chijchipa y Muña para el control in vitro de *Nacobbus* spp?
- 79 • ¿Cuál será el mejor tiempo de aplicación de aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña
80 para el control invitro de juveniles del falso nematodo del nódulo de la raíz *Nacobbus* spp?
81
82

83 **V. Justificación del proyecto**

84 El control de nematodos es más complejo y es por eso que en la actualidad el método más
85 empleado es la aplicación de agroquímicos. Si bien la mayoría de estos compuestos son tóxicos,
86 persistentes en el ambiente y causantes indirectos de graves enfermedades en las personas, su
87 aplicación es cada vez más común. Por este motivo es importante identificar alternativas naturales,
88 que controlen plagas de forma eficiente evitando el uso indiscriminado de compuestos químicos
89 sintéticos. Además, al ser la papa un producto de consumo masivo resulta interesante identificar
90 una alternativa al control de nematodos mediante el uso de productos naturales; por ello se justifica
91 el desarrollo del presente estudio; en el cual se experimentará con aceites vegetales derivados de
92 vegetales del Marigold, Chijchipa y Muña; para conocer su efecto nematocida In vitro; a razón de
93 que actualmente no se ha conocido su capacidad nematocida.
94

95 **VI. Antecedentes del proyecto**

96 **6.1. A nivel internacional**

97 Delillo (2019), realizo el trabajo de investigación denominado “Aplicación de aceites esenciales en
98 tomate (*Solanum lycopersicum* L.) como alternativa al control de *Nacobbus aberrans*”; con el
99 objetivo de Aplicar aceites esenciales en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) como alternativa al
100 control de *Nacobbus aberrans*”; Por las razones expuestas, se estudiaron nuevas alternativas de
101 control como es el uso de aceites esenciales de especies vegetales. Se trabajó con aceites
102 esenciales de cuatro especies: canela (*Cinnamomum verum* J.Presl), eucalipto (*Eucalyptus*
103 *globulus* L.), menta (*Mentha x piperita* L) y laurel (*Laurus nobilis* L.). Estos se usaron en pruebas
104 a campo, para estudiar su efecto sobre el rendimiento y en el número final de huevos del nematodo
105 en raíces. En ensayos in-vitro se evaluó la fitotoxicidad, el efecto sobre las formas juveniles y la
106
107

108 eclosión de huevos. Los resultados preliminares muestran que, en las dosis usadas, los aceites
109 no son tóxicos para las plantas, se observó una reducción significativa del número de huevos de
110 *N. aberrans* respecto al testigo y el rendimiento, con la aplicación del aceite esencial de eucalipto,
111 fue superior al resto de los tratamientos. Por consiguiente, los aceites esenciales deben ser
112 considerados, si se piensa en un manejo integrado de plagas en busca de un sistema sustentable
113 que tienda al equilibrio.

114 Duarte (2018), realizó el trabajo de investigación denominado “Efecto de la biofumigación con
115 *Brassicáceas* sobre *Nacobbus Aberrans* en plantas de tomate platense (*Solanum lycopersicum* L.
116 Var. Platense)”; con el objetivo de estudiar el efecto de la biofumigación con *Brassicáceas* sobre
117 el nematodo *N. aberrans* en plantas de tomate platense. Para tal fin, se realizó un ensayo con un
118 diseño factorial 2X3 completamente al azar con 5 repeticiones por tratamiento. Los tratamientos
119 aplicados resultan de la combinación de los siguientes factores con sus correspondientes niveles:
120 2 condiciones de infestación con nematodos: plantas no inoculadas e inoculadas con *N. aberrans*
121 y 3 niveles de residuo de repollo en el sustrato: 0 gr, 140 gr, y 280 gr por kg de sustrato. Se midieron
122 semanalmente, la altura de las plantas, el índice de verdor y el número de hojas. A los 75 días
123 después del trasplante, se determinó el peso fresco (PF) aéreo y radical, número de huevos totales
124 de nematodo por planta, contenido de clorofila, malondialdehído (MDA), proteínas solubles, prolina
125 y se contabilizaron y pesaron los frutos. Los datos se analizaron mediante ANOVA. El PF,
126 contenido de clorofila, altura de las plantas y cantidad y peso de los frutos, aumentó junto con la
127 cantidad de repollo incorporada al suelo, sin verse influenciado por la presencia o ausencia del
128 nematodo, exceptuando el número de frutos. Las proteínas en el tejido foliar se redujeron tanto
129 por la incorporación de *Brassica sp.*, como por la infestación con nematodos. En el tejido radicular,
130 la concentración de proteínas aumentó en los tratamientos con nematodos. El tiempo transcurrido
131 entre la inoculación y las determinaciones fue insuficiente para que las plantas alcancen un nivel
132 de estrés que pueda ser cuantificado a través de parámetros bioquímicos (prolina, MDA). El
133 número de huevos y el factor de reproducción, disminuyó a medida que aumentó la concentración
134 de repollo incorporada al sustrato. Se evidenció un aumento del crecimiento y rendimiento de las
135 plantas de tomate biofumigadas.

136 6.2. A nivel nacional

137 Álvarez & Gutiérrez (2022), realizaron el trabajo de investigación denominado “Uso de
138 *Purpureocillium lilacinum*, *Trichoderma harzianum* y *Pimenta dioica* (L.) Merrill para control de
139 nematodos en plátano (*Musa paradisiaca* L.), en el centro experimental El Plantel”; con el objetivo
140 de evaluar la eficacia biológica de los hongos *Hypocreales* (*Purpureocillium lilacinum* y
141 *Trichoderma harzianum*) y el aceite esencial de pimienta de Jamaica (*Pimenta dioica* (L.) Merrill)
142 como agentes de biocontrol de nematodos en el cultivo de plátano. Las cepas de *P. lilacinum* y *T.*
143 *harzianum* fueron proporcionadas por el laboratorio de hongos entomopatógenos de la Universidad
144 Nacional Agraria (UNA) y el extracto botánico de pimienta de Jamaica fue adquirido en una casa
145 comercial. El estudio se realizó en el período comprendido de mayo a julio del año 2021, en el
146 centro experimental El Plantel, propiedad de la UNA, se realizaron cinco aplicaciones con
147 intervalos de 21 días. La metodología de muestreo fue la siguiente: se extrajo 20 g de raíz y 200
148 g de suelo por cada unidad experimental, posteriormente las muestras fueron procesadas en el
149 laboratorio de nematología de la UNA. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar (BCA)
150 con cinco tratamientos conformados por cada uno de los hongos entomopatógenos y el aceite de
151 pimienta de Jamaica. Se realizó un análisis de varianza utilizando el programa estadístico InfoStat,
152 versión 2020. Las variables evaluadas fueron número de nematos por planta, altura de planta,
153 diámetro basal de planta y área foliar de planta. Los resultados indican que los géneros de
154 nematodos encontrados fueron: *Pratylenchus sp.*, *Scutellonema sp.*, *Rotylenchulus sp.* y
155 *Helicotylenchus sp.* El análisis estadístico mostró que existen diferencias significativas entre los
156 tratamientos; en raíz, las menores cantidades de nematodos de los géneros *Scutellonema sp.* y
157 *Rotylenchulus sp.* se presentaron en el tratamiento *T. harzianum* con 720 y 340 nematodos
158 respectivamente; en suelo, las menores poblaciones de *Scutellonema sp.* y *Helicotylenchus sp.* se
159 registraron en el tratamiento *P. lilacinum* más *T. harzianum* con 795 y 395 nematodos
160 respectivamente; la mayor altura de planta, diámetro basal y área foliar se registraron en el
161 tratamiento pimienta de Jamaica con 177.85 centímetros de altura, 52.70 centímetros de diámetro
162 basal 6.59 centímetros cuadrados de área foliar.

163 Huamani (2022), realizo el trabajo de investigación denominado “Extractos vegetales para el
164 control del nematodo Nodulador de la raíz *Meloidogyne incognita*, kofoid y white 1919, chitwood
165 1949”; con el objetivo de evaluar los extractos acuosos de *Lupinus mutabilis*, *Ricinus communis*,
166 *Chenopodium quinoa*, *Nerium oleander*, *Chenopodium ambrosioides*, *Brassica oleracea var. italica*
167 y *Brugmansia arborea* a tres concentraciones para el control de *Meloidogyne incognita*. La
168 investigación se realizó a nivel de laboratorio e invernadero en el departamento de Nematología
169 de la Universidad Nacional Agraria La Molina, con un diseño completamente al azar. En la fase en
170 laboratorio se evaluó el efecto sobre la eclosión de huevos dentro y fuera de la ooteca y movimiento
171 de los juveniles de segundo estadio de *Meloidogyne incognita*. Los resultados muestran que los
172 mejores tratamientos fueron el testigo químico (*Oxamy*), el Tarwi y Quinoa. En base a esto se
173 realizó la prueba de invernadero en la cual se inoculó 20 000 huevos de *Meloidogyne incognita*
174 sobre plántulas de tomate sembradas en macetas de un kilogramo y luego se evaluó los
175 parámetros: altura de la parte aérea, peso de la raíz, peso fresco y seco de la parte aérea, grado
176 de nodulación, población en la raíz, población en el suelo, población total y la tasa de reproducción.
177 El mejor tratamiento a nivel de invernadero fue el Tarwi 5000 ppm en los parámetros de peso seco
178 y fresco de follaje, siendo estadísticamente similar al testigo químico. Esto se debe a sus
179 compuestos toxico que inhiben el movimiento, la eclosión dentro y fuera de la ooteca como se ve
180 en la tasa de reproducción de 0.17 siendo estadísticamente similar al testigo químico.

181 Jaramillo (2018), realizo el trabajo de investigación denominado “Evaluación de aceites esenciales
182 de *Brassica carinata braun*, *Nicotiana glauca graham* y *Ricinus communis l.* en nemátodos bajo
183 condiciones controladas”; con el objetivo de evaluar aceites esenciales de *Brassica carinata braun*,
184 *Nicotiana glauca graham* y *Ricinus communis l.* en nemátodos bajo condiciones controladas; Por
185 esta razón en la actualidad se busca nuevos métodos de control ya sean mecánicos, químicos,
186 biológicos o botánicos, originando la presente investigación que tiene como finalidad evaluar la
187 actividad biocida in vitro de tres aceites esenciales al 1% de concentración (*Brassica carinata*,
188 *Nicotiana glauca* y *Ricinus communis.*) con tres dosis (300, 400 y 500 μ l) frente a nemátodos
189 *Meloidogyne*, durante 48 horas en diferentes periodos de tiempo. Obteniendo mejores resultados
190 con la aplicación de la dosis de 500 μ l en los tres aceites esenciales, sin embargo, tuvo mayor
191 eficacia el aceite esencial de *Nicotiana glauca* el cual generó el 77,33% de mortalidad a las 48
192 horas de exposición. Debido a los resultados obtenidos la utilización del aceite esencial de
193 *Nicotiana glauca* ofrece una posibilidad alentadora de ser una nueva herramienta de control para
194 disminuir el uso indiscriminado de nematocidas químicos siendo un método de control agradable al
195 medio ambiente y a la salud humana.

196 6.3. A nivel local

197 Ramos (2020), realizo el trabajo de investigación denominado “Respuesta de variedades nativas
198 y mejoradas de papa (*Solanum sp.*) al nematodo del Nódulo de la raíz (*Meloidogyne incognita*
199 kofoid y white, 1919) en condiciones de invernadero-Puno.”; con el objetivo de evaluar la respuesta
200 de 10 variedades de papa entre nativas y mejoradas de la región Puno al ataque de *Meloidogyne*
201 *incognita* en condiciones de invernadero. Para el efecto se inocularon 5000 huevos +
202 juveniles/planta del nematodo, en cinco variedades de papa nativa y cinco variedades de papa
203 mejorada; distribuidas en un diseño experimental bloque completamente al azar, con 1 tratamiento
204 y seis repeticiones. Los parámetros evaluados fueron: Altura de planta (AP), Peso fresco de la
205 parte aérea (PFPA), Peso fresco de la raíz (PFR), Numero de tubérculos (NT), numero de nódulos
206 en la raíz (NNR), y factor de reproducción (FR = 0, inmune; FR = ≤ 1 resistente; FR = ≥ 1
207 susceptible). Como resultado se determinó resistencia en las variedades Huayro, Imilla negra,
208 Ccompis, Imilla blanca, Venturana, Silver y Canchan, mientras que en las variedades Altiplano,
209 Peruanita y Ruki, el resultado manifestó respuesta de inmunidad a M. incognita.

210 Jiménez (2017), realizo el trabajo de investigación denominado “Identificación y evaluación
211 poblacional del nematodo de papa (*Solanum tuberosum l.*) en dos variedades de papa en dos
212 localidades de Puno -Perú”; con el objetivo de Identificar los géneros de nematodos fitoparásitos
213 en el cultivo de la papa en dos localidades de Puno; Comparar la población del nematodo en dos
214 variedades, Imilla negra y Peruanita y Evaluar rendimientos por la presencia de nematodos
215 fitoparásitos en dos variedades de papa en el distrito de Capachica comunidad Hilata y en la
216 provincia de Yunguyo comunidad Tahuaco, las muestras evaluadas se sometieron a los métodos

217 de aislamiento y extracción de nematodos (Fenwick y Baermann) y para la identificación se
218 emplearon las claves propuestas por Cepeda, 1996, Meredith, 1997, Jacob y Middelpaats,
219 1990. siendo el resultado los géneros encontrados son *Nacobbus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*,
220 *Globodera* y nematodos de vida libre (saprófitas y predadores). La información obtenida de
221 población se expresó (nematodos en 1 cm³ o en 1 g de suelo) y en huevos y J2 en 1 g de raíces
222 la comparación de la población de nematodos en suelo de Capachica en las dos variedades se
223 obtuvo que el género *Globodera* spp. Que Tiene mayor población de 69.5 quistes /100g de suelo
224 en la variedad Imilla negra seguido del género *Nacobbus* sp. Con una población de 50.2 Individuos
225 /100cm³ de suelo y el género, *Helicotylenchus* sp, *Pratylenchus* sp. Y nematodos de vida libre y
226 una población por debajo de 10 individuos. relación de la población del nematodo en la producción
227 en dos variedades de papa, El número de plantas de papa por hectárea es de 33300 plantas donde
228 se pesó una planta de papa con nematodo con 250 g en la variedad Peruanita y 180 g en la
229 variedad Imilla negra los pesos se multiplicaron por 33300 obteniendo así la producción de plantas
230 de papa con nematodos que son la variedad imilla negra que tiene una producción de 5994kg/ha
231 y la variedad Peruanita que es de 8325 kg/ha, 3. La evaluación de la producción del cultivo de
232 papa es de pérdida en más del 43.3% en la variedad Imilla negra y la Variedad Peruanita 21.3%
233 comparado con la producción promedio de las dos zonas.

234 Velásquez (2013), realizo el trabajo de investigación denominado “Extractos de plantas con
235 potencial nematocida en el control del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) in
236 vitro”; con el objetivo de evaluar el efecto letal in vitro del extracto de plantas de lechuga (*Lactuca*
237 *sativa* L.), Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y Tarwi silvestre (*Lupinus chlorilepis*) sobre el falso
238 nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) y como objetivos específicos: a) Determinar el
239 extracto de plantas y su dosis de aplicación más efectiva para el control del falso nematodo del
240 nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) in vitro y b) Detectar el tiempo de mortalidad óptimo de juveniles
241 del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus* spp.) a la aplicación de los extractos de plantas
242 in vitro. Se utilizó el Diseño Experimental Completamente al Azar (D.C.A), con un arreglo factorial
243 de tres plantas con propiedades nematocidas por dos dosis de aplicación, con un total de seis
244 tratamientos, con tres repeticiones, haciendo un total de 18 unidades experimentales. Antes de
245 realizar los análisis de varianza, los datos originales fueron transformados a la función de $x + 1$,
246 para homogenizar las varianzas debido a que estos constituyen valores de contadas (Calzada,
247 1996). Llegando a las siguientes conclusiones: 1. El extracto de plantas que tuvo mejor resultado
248 en la mortalidad de nematodos juveniles de *Nacobbus* spp. fue del tarwi silvestre al 40% en las
249 dos evaluaciones realizadas. 2. El mejor tiempo en mortalidad de nematodos juveniles de
250 *Nacobbus* spp. fue a los 30 minutos de aplicación del extracto de plantas de tarwi silvestre al 40%.

251 VII. Hipótesis del trabajo

252 **Hipótesis General:**

253 Los aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña presentan altos niveles nematocidas para el
254 control invitro de *Nacobbus* spp

255 **Hipótesis Específica:**

- 256 • La concentración más efectiva de nematocidas de los aceites vegetales con propiedades
257 nematocidas de Marigold, Chijchipa y Muña para el control in vitro de *Nacobbus* spp es del
258 10%.
- 259 • El tiempo de mortalidad in vitro del falso nematodo del nódulo de la raíz *Nacobbus* spp. con la
260 aplicación de aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña es de 10 minutos.

263 VIII. Objetivo general

264 Evaluar el efecto nematocida de los aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña para el control
265 in vitro de *Nacobbus* spp.

267
268
269
270

271
272

IX. Objetivos específicos

273
274
275
276
277

- Demostrar la concentración más efectiva de los aceites vegetales con propiedades nematocidas de Marigold, Chijchipa y Muña para el control in vitro de *Nacobbus* spp.
- Determinar el mejor tiempo de mortalidad con la aplicación de aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña para el control in vitro de juveniles del falso nematodo del nódulo de la raíz *Nacobbus* spp.

278
279

X. Metodología de investigación

280

10.1. Tipo de Investigación:

281
282
283

El tipo de investigación es aplicativo centrándose en aplicar los conocimientos de las teorías generales en la realidad, la cual ayuda a resolver las necesidades que aborda la sociedad (Baena, 2017).

284

10.2. Diseño de la Investigación

285
286
287
288
289

El diseño experimental que se usará para el siguiente trabajo de investigación será el diseño completamente al Azar (D.C.A.) con un arreglo factorial de 3 x 3 x 3 (3 plantas con potencial nematocida, por 3 dosis de aplicación, por 3 tiempos de aplicación), haciendo así un total de 27 tratamientos combinados conducidos bajo 3 repeticiones, haciendo así un total de 81 unidades experimentales.

290
291

Así mismo se aplicará el modelo aditivo lineal el cual surge cuando existe una relación entre variables; establecida mediante una función.

292

10.3. Metodología para el desarrollo del Proyecto:

293

10.3.1. Variables en estudio:

294

Variable Independiente:

295
296

Los aceites vegetales de plantas (Marigolt, Chijchipa y muña), las cuales cada una de ellas estarán constituidas a diferentes concentraciones 5, 10 y 15%.

297

Variable dependiente:

298
299

Control invitro de *Nacobbus* spp. (Numero de nematodos juveniles muertos con la aplicación de aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña)

300
301

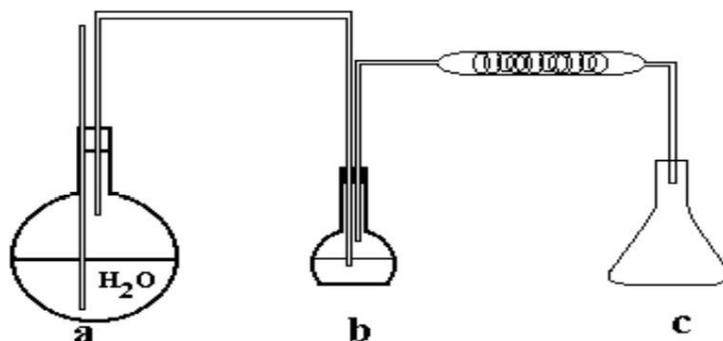
10.3.2. Demostrar la concentración más efectiva de los aceites vegetales con propiedades nematocidas de Marigold, Chijchipa y Muña para el control in vitro de *Nacobbus* spp.

302
303

a) **Extracción de aceites vegetales-** Se emplearán tres especies vegetales (Marigold, Chijchipa y Muña); siendo plántulas con un tamaño apropiado y que estén libres de enfermedades.

304
305
306

Seguidamente se extraerán los aceites vegetales mediante el método químico denominado "Arrastre por vapor"; siguiendo el procedimiento propuesto por (Velásquez, 2013); el cual indica que la destilación por arrastre con vapor se emplea con frecuencia para separar aceites de plantas



307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351

de tejidos vegetales de la siguiente manera:

Figura 1: Extracción de aceite vegetal por arrastre al vapor

Fuente: (Velásquez, 2013)

- Se colocará aproximadamente 150 ml de agua destilada en el matraz **(a)**.
- En el matraz **(b)** se colocará hojas de cada planta (Marigold, Chijchipa y Muña) de manera separada; todo ello en trozos pequeños; de aproximadamente 100g cada una
- Con el mechero, se calentará hasta ebullición el matraz **(a)** a fin de generar el vapor de agua que pasará al matraz **(b)**, extrayéndose de esta manera el aceite de cada planta, que inmediatamente será arrastrado por el vapor de agua en un proceso de codestilación al matraz **(c)**.
- Se suspenderá el calentamiento cuando el volumen del destilado sea de 100 ml aproximadamente

Luego de extraer el aceite vegetal de las plantas (Marigold, Chijchipa y Muña), se guardarán en frascos ámbar de vidrio para cada uno y serán puestos a refrigeración 8°C hasta el momento de usarlos.

b) Obtención de nematodos (*Nacobbus spp*) -. Se obtendrán nematodos (*Nacobbus spp*); de las raíces agalladas de la papa; con una típica forma de rosario; todo ello realizado empleando el método modificado de Baermann descrita por Pérez (2019), el cual consiste en la trituración de tejidos con ayuda de una licuadora para obtener nemátodos endoparásitos; todo ello tomando aproximadamente 10 gr. de raíces agalladas, cortándolas en trozos de 2 a 3 cm de longitud y se colocarán dentro de una licuadora; posteriormente se incorpora agua necesaria para cubrir el material y dependiendo de la dureza del material, se licuará a máxima velocidad de 20 a 60s; seguidamente la solución resultante se vertiera sobre un juego de tamices de N°60 (250µm), donde quedaran los residuos vegetales más grandes mientras que los nematodos que se recuperaran en el tamiz más fino N°325 (45µm); se trasladara al embudo de Baermann en donde se lograra la separación final de los nematodos luego de 48 horas del proceso, el cual consiste hacer pasarlo por un papel filtro, desechando el excedente de agua y material vegetal contenido en el papel filtro. En el embudo se colocará agua de tal manera que se encuentre ligeramente en contacto con la malla y humedecida.

Pasadas las 48 horas se recolectarán volúmenes de 30 ml de agua del embudo, bajo el estereoscopio se concentrará la suspensión de nematodos quitando el exceso de agua hasta lograr una concentración aproximada de 400 nematodos/ml.

Para la identificación de los nematodos extraídos del género (*Nacobbus spp*) se utilizará un microscopio en el cual se observará la forma del cuerpo y se procederá a la identificación a nivel de géneros y para ellos se utilizarán las claves correspondientes.

c) Aplicación de los aceites vegetales-. Para la aplicación de los aceites esenciales; sobre los juveniles de *Nacobbus spp*; se toman las consideraciones descritas por Delillo (2019); ante ello se tomarán 10 juveniles (*Nacobbus spp*); por tratamiento visualizándose en el microscopio; empleando una micropipeta para colocarlos en las placas Petri.

Posteriormente con la ayuda de una micropipeta se colocarán sobre estos nematodos juveniles (*Nacobbus spp*); el aceite vegetal de cada planta al 5%,10% y 15% (se entiende que en cada probeta de 100 ml., se agregará la proporción de 5 ml, 10ml y 15ml de cada aceite vegetal y sobre este se adicionarán 95ml, 90ml y 85ml de agua destilada, completando así los 100 ml para cada solución procediendo luego a su agitación hasta su posterior utilización).

352

Tabla 2: dosis del proceso experimental de nematicidas

Tratamiento	Dosis de Nematicida	Repeticiones
T1: Aceite vegetal de <u>Marigold</u>	5ml	R1, R2, R3
	10ml	R1, R2, R3
	15ml	R1, R2, R3
T2: Aceite vegetal de <u>Chijchipa</u>	5ml	R1, R2, R3
	10ml	R1, R2, R3
	15ml	R1, R2, R3
T3: Aceite vegetal de Muña	5ml	R1, R2, R3
	10ml	R1, R2, R3
	15ml	R1, R2, R3

Fuente: Elaboración propia

353

354

355

356

d) Determinación de la concentración óptima de los nematicidas-. Finalmente se conocerá cual concentración de 5%,10% y 15% de aceite vegetal presento mejores efectos nematicidas

357

358

359

10.3.3. Determinar el mejor tiempo de aplicación de aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña para el control invitro de juveniles del falso nematodo del nódulo de la raíz *Nacobbus spp*

360

361

362

363

364

Con respecto al presente objetivo se evaluará el tiempo de mortalidad in vitro del falso nematodo del nódulo de la raíz (*Nacobbus spp.*), tomando las consideraciones establecidas por Delillo (2019); siendo en este caso con la aplicación de los aceites vegetales de Marigold, Chijchipa y Muña; para ello; constituida por una concentración del: 5%, 10% y 15% de aceite vegetal estará expuesto a un tiempo de: 5, 10 y 15 minutos; con los nematodos.

365

Tabla 2: Tiempo de mortalidad in vitro del nematodo *Nacobbus spp.*

Tratamiento	Dosis de Nematicida	Repeticiones	Tiempo de exposición con los nematodos
T1: Aceite vegetal de <u>Marigold</u>	5ml	R1, R2, R3	5, 10 y 15 minutos
	10ml	R1, R2, R3	
	15ml	R1, R2, R3	
T2: Aceite vegetal de <u>Chijchipa</u>	5ml	R1, R2, R3	5, 10 y 15 minutos
	10ml	R1, R2, R3	
	15ml	R1, R2, R3	
T3: Aceite vegetal de Muña	5ml	R1, R2, R3	5, 10 y 15 minutos
	10ml	R1, R2, R3	
	15ml	R1, R2, R3	

Fuente: Elaboración propia

366

367

368

369

a) Determinación del tiempo de mortalidad -. Finalmente se conocerá cual tiempo de exposición con los nematodos de 5min, 10min y 15 min; con los aceites vegetales presenta mejores efectos nematicidas.

370

371

10.3.4. Diseño estadístico

372

Para contrastar la hipótesis bajo el diseño completamente al azar; será el siguiente

373

374

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + Q_j + k + (aQ)_{ij} + (a)_{ik} + (Q)_{jk} + (aQ)_{ijk} + s_{ijkl}$$

$$\begin{aligned} i &= 1, 2, \dots, a \text{ (Niveles del factor A)} \\ j &= 1, 2, \dots, b \text{ (Niveles del factor B)} \\ k &= 1, 2, \dots, c \text{ (Niveles del factor C)} \\ l &= 1, 2, \dots, r \text{ (repeticiones)} \end{aligned}$$

Donde:

Y_{ijkl} : Es la variable respuesta de la l-ésima observación bajo el k-ésimo nivel de factor C, en el j-ésimo nivel del factor b, sujeto al i-ésimo nivel de tratamiento A

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

a_i : efecto del i-ésimo nivel del factor A.

Q_j : efecto del j-ésimo nivel del factor B.

k : efecto del j-ésimo nivel del factor C.

$(aQ)_{ij}$: Efecto de la interacción i-ésimo nivel del factor A, con el j-ésimo nivel del factor B. $(a)_{ik}$:

Efecto de la interacción i-ésimo nivel del factor A, con el k-ésimo nivel del factor C. $(Q)_{jk}$: Efecto de la interacción J-ésimo nivel del factor B, con el k-ésimo nivel del factor C.

$(aQ)_{ijk}$: Efecto de la interacción i-ésimo nivel del factor A, en el j-ésimo nivel del factor B sujeto al k-ésimo nivel del factor C.

s_{ijkl} : efecto del error experimental que está distribuido como ϵ_{ijkl}

XI. Referencias

- Álvarez, V., & Gutiérrez, C. (2022). *Uso de Purpureocillium lilacinum, Trichoderma harzianum y Pimenta dioica (L.) Merrill para control de nematodos en plátano (Musa paradisiaca L.), en el centro experimental El Plantel*. Managua: Universidad Nacional Agraria.
- Álvarez, V., & Gutiérrez, C. (2022). *Uso de Purpureocillium lilacinum, Trichoderma harzianum y Pimenta dioica (L.) Merrill para control de nematodos en plátano (Musa paradisiaca L.), en el centro experimental El Plantel*. Managua: Universidad Tecnica Agraria.
- Baena, G. (2017). *METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION serie integral por competencias*. Mexico: Grupo Editorial Patria.
- Betancourt, H. (2020). *Sinergismo entre hongos micorrícicos y Trichoderma harzianum en el control del nematodo Nacobbus aberrans en plantas de tomate (Solanum lycopersicum L.)*. La Plata: Universidad Nacional de la Plata.
- Cechahuari, S. (2018). *Caracterización del nematodo del nódulo de la raíz (Meloidogyne spp.) en el cultivo de tomate (Lycopersicon esculentum mill.) en region sur del Perú*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- Cornejo, G. (2019). *Prospección de nematodos en cultivo de papaya andina (Carica pubescens L.) Sandía - Puno*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- Delillo, T. (2019). *Aplicación de aceites esenciales en tomate (Solanum lycopersicum L.) como alternativa al control de Nacobbus aberrans*. La Plata: Universidad Nacional de La Plata.
- Duarte, M. (2018). *Efecto de la biofumigación con Brassicáceas sobre Nacobbus Aberrans en plantas de tomate platense (Solanum lycopersicum L. Var. Platense)*. La Plata: Universidad nacional de la Plata.

- Hernández, R., & Mendoza, C. (2018). *Metodología de la investigación Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. México: Mc Graw Hill Education.
- Huamani, E. (2022). *Extractos vegetales para el control del nematodo Nodulador de la raíz Meloidogyne incognita, kofoid y white 1919, chitwood 1949*. Lima: Universidad nacional Agraria la Molina.
- Iler, D. (2017). *Evaluación de la actividad nematocida in vitro de aceites esenciales frente a Meloidogyne*. Ambato: Universidad Técnica de Ambato.
- Jaramillo, J. (2018). *Evaluación de aceites esenciales de Brassica carinata braun, Nicotiana glauca graham y Ricinus communis l. en nemátodos bajo condiciones controladas*. 2018: Universidad Técnica de Ambato.
- Jimenez, A. (2017). *Identificación y evaluación poblacional del nematodo de papa (Solanum tuberosum l.) en dos variedades de papa en dos localidades de Puno –Peru*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- Ochoa, Y., Rojas, G, Delgado, J., Cerna, E., Aguirre, L., . . . Cepeda, M. (2019). Evaluación in vitro de la actividad nematocida de limoneno, isotiocianato de Alilo, Eucaliptol, β -Citronelol y Azadiractina sobre Meloidogyne incognita (Nematoda, Meloidogynidae). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 1 - 8.
- Pérez, A. (2019). *Biofumigación para el control de Meloidogyne spp. Y Nacobbus aberrans en el cultivo de Jitomate*. Montecillo: Colegio de Postgraduados.
- Ramos, E. (2020). *Respuesta de variedades nativas y mejoradas de papa (Solanum sp.) al nematodo del Nódulo de la raíz (Meloidogyne incognita kofoid y white, 1919) en condiciones de invernadero-Puno*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- Velasquez, M. (2013). *Extractos de plantas con potencial nematocida en el control del falso nematodo del nódulo de la raíz (Nacobbus spp.) in vitro*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- Velasquez, M. (2013). *Extractos de plantas con potencial nematocida en el control del falso nematodo del nódulo de la raíz (Nacobbus spp.) in vitro*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- Vilca, R. (2018). *Evaluación de tres cultivos para su uso como plantas trampa del nematodo quiste de la papa Globodera spp. en invernadero*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.

396

397

398

399

400

401

402

403

404

XII. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto

Con el presente trabajo de investigación se aspira a que se expendan nematocidas naturales y amigables con el medio ambiente; practicando el desarrollo sostenible en la minimización, conservación, restauración, protección, y hacer uso sostenible de los recursos naturales para las actuales y futuras generaciones; siendo la agricultura el sustento necesario para las sociedades, por lo que por medio de esta investigación se pretende dar un referente teórico para usarlo de manera sostenible

405

406

XIII. Impactos esperados

407

408

i. Impactos en Ciencia y Tecnología

409

410

Con la investigación se tendrá información técnica el cual será de gran utilidad para futuros proyectos referidos al efecto nematocida de aceites vegetales de la región y del Perú.

411

412

413

ii. Impactos económicos

414
415
416
417
418

El proyecto contribuirá a tener un impacto económico sostenible puesto que la aplicación de esta metodología es de un costo económicamente bajo debido a que se empleara especies vegetales endémicos de la región altioplánica; para la obtención de aceites vegetales y conocer su efecto nematicida del nematodo *Nacobbus aberrans*.

419
420

iii. Impactos sociales

421
422
423

El proyecto tendrá un impacto importante para la región, dando un conocimiento sobre el potencial nematicida de aceites vegetales en comparación a los compuestos químicos que dañan el recurso suelo y la salud de las personas.

424
425

iv. Impactos ambientales

426
427
428

Se presentan ausencia de impactos negativos, dado que el trabajo usa técnicas de observación, con interpretación de información experimental lo cual no ocasionara impactos significativos al ambiente

429
430

XIV. Recursos necesarios

431
432
433

El presente trabajo de investigación se realizará en el laboratorio de Fitopatología de la EPIA, Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA, donde se cuenta con los materiales y equipos necesarios

Recursos humanos

434
435

- Investigador
- Asesores

436

ii. Información y soporte informativo

437
438

- Información bibliográfica
- Internet

439

iii. Software

440
441

- Microsoft Office
- Microsoft Excel

442

iv. material de campo:

443

Plantas con propiedades nematicidas:

444
445

- Marigold, (*Tagetes erecta*)
- Chijchipa, (*Tagetes mandoni*).

446

- Muña, (*Minthostachys mollis*).

447

v. material de escritorio

448
449

- Laptop
- USB

450
451

- Impresora
- Papel bond

452

- Bolígrafos

453
454

XV. Localización del proyecto

455
456

457
458
459

El presente trabajo de investigación, se realizará en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, ubicado en las Coordenadas Geográficas, Longitud: 70° 0'56.08"W Latitud: 15°49'29.27"S, a una altitud de 3832 m.s.n.m.

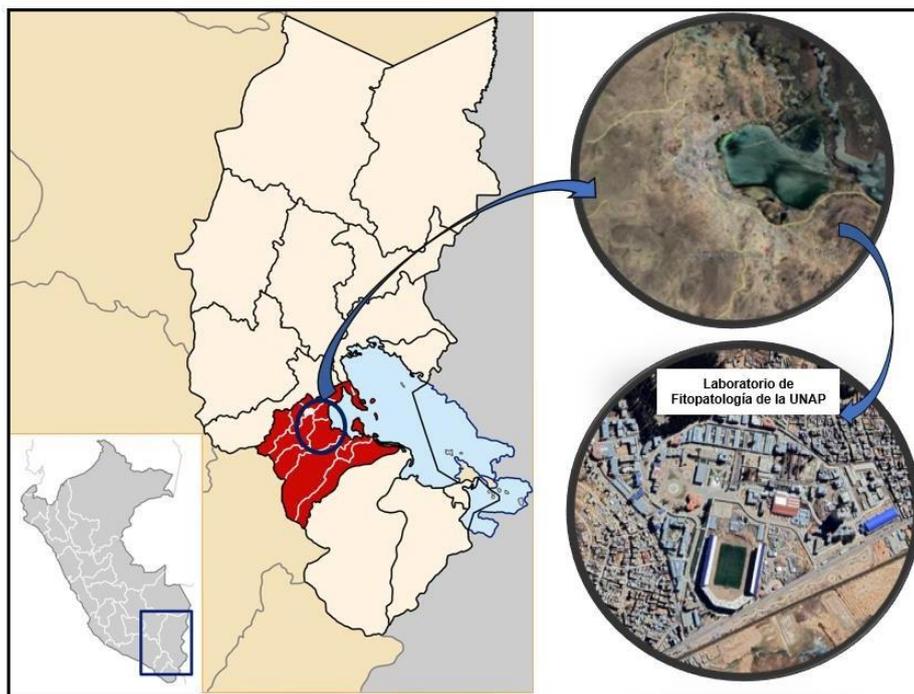


Figura 3: Localización del proyecto
Fuente: Google Earth

460
461
462
463
464
465
466

XVI. Cronograma de actividades

2022-2023

ACTIVIDADES	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Redacción, presentación y aprobación del proyecto de tesis	X												
Recolección de suelo infestado con <i>Nacobbus</i> spp., para su multiplicación en macetas con el cultivo de la papa.		X	X										
Recolección de plantas con potencial Nematicida (Marigold, chijchipa y muña).			X	X									
Instalación del proyecto					X								
Obtención de aceites vegetales y juveniles de nematodos <i>Nacobbus</i> spp.						X							
Determinación de la dosis optima de los aceites vegetales							X						
Determinación de la eficiencia de los aceites vegetales frente a juveniles de <i>Nacobbus</i> spp.								X	X				
Procesamiento de datos										X			
Análisis de resultados											X		
Redacción del borrador de tesis											X	X	
Redacción del artículo científico													X

XVII. Presupuesto

Descripción	Unidad de medida	Costo Unitario (S/.)	Cantidad	Costo total (S/.)
MATERIALES DE CAMPO				
Plantas con potencial nematocida (Marigold, Chijchipa y Muña)	kg	S/ 5.00	3	S/ 15.00
Equipo de jardinería	Global	S/ 100.00	1	S/ 100.00
Movilidad para la recolección de suelo infestado con <i>Nacobbus</i> spp, previo muestreo.	Viaje	S/ 200.00	2	S/ 400.00
Cámara digital	Equipo	S/ 200.00	1	S/ 200.00
Lápiz	Und	S/ 1.00	5	S/ 5.00
Tablero	Und	S/ 10.00	1	S/ 10.00
MATERIALES DE ESCRITORIO				
Papel bond (tamaño A4 de 75 grs)	Millar	S/ 12.00	5	S/ 60.00
Posit	Ciento	S/. 6.00	4	S/. 24.00
Papel bond (tamaño A4 de 80 grs.)	Millar	S/ 12.00	3	S/ 36.00
Energía eléctrica	Und	S/ 50.00	1	S/ 50.00
Laptop	Maq/hora	S/ 2.00	80	S/ 160.00
Memoria USB	Und	S/ 30.00	2	S/ 60.00
DVD	Und	S/ 0.50	10	S/ 5.00
Impresiones y computo	Millar	S/ 100.00	1	S/ 100.00
MATERIALES DE LABORATORIO				
Agua destilada	Lts	S/ 4.00	5	S/ 20.00
Mechero de alcohol	Und	S/ 15.00	1	S/ 15.00
Micropipetas	Und	S/ 3.00	3	S/ 9.00

Probetas	Und	S/ 5.00	3	S/ 15.00
Matraz	Und	S/ 5.00	3	S/ 15.00
Embudo de Baermann	Und	S/ 100.00	1	S/ 100.00
Lunas de reloj	Und	S/ 3.00	50	S/ 150.00
Tamiz	Und	S/ 100.00	1	S/ 100.00
SERVICIOS				
Transporte	Viajes	S/ 5.00	6	S/ 30.00
Internet	Hora/hombre	S/ 1.00	200	S/ 200.00
Proyector multimedia	Maq/hora	S/ 40.00	1	S/ 40.00
Servicios de fotocopia	Hoja	S/ 0.10	2000	S/ 200.00
Redacción del Documento Final	Und	S/ 400.00	1.00	S/ 400.00
Presentación de Tesis	Und	S/ 400.00	3.00	S/ 1200.00
SUBTOTAL				S/ 3719.00
Imprevistos	15%			S/ 557.85
COSTO TOTAL				S/ 4276.85