

EFECTO DEL EXTRACTO DE *Tagetes patula* L. SOBRE LA NODULACIÓN RADICULAR DE *Cucurbita maxima* L. OCASIONADO POR *Meloidogyne* sp.

EFFECT OF EXTRACT *Tagetes patula* L. NODULATION ON ROOT OF *Cucurbita maxima* L. CAUSED BY *Meloidogyne* sp.

Armando E. Gil Rivero & Julio Chico Ruiz
Universidad Nacional de Trujillo-Perú.

RESUMEN

La presencia de *Meloidogyne* sp. ha generado el rechazo y temor por la siembra de cucurbitáceas y hortalizas en la campiña La Merced-Laredo. Debido a este problema se planteó una alternativa de control natural de *Meloidogyne* sp., evitando el uso de nematicidas que generan contaminación y es de difícil adquisición por razones económicas. Planteándose el objetivo de evaluar el efecto del extracto acuoso de *Tagetes patula* L. sobre la nodulación radicular de *Cucurbita maxima* L. ocasionado por *Meloidogyne* sp. Se utilizaron tres grupos experimentales y un testigo, utilizando macetas plásticas con un 1 kg de tierra preparada para cada uno. A este substrato se le adicionó extracto del follaje de *Tagetes patula* L. a diferentes concentraciones: 25, 50 y 75% (v/v). En cada maceta se trasplantó una planta de *Cucurbita maxima* L. de 2 semanas de emergencia, luego de se hizo la inoculación de 9000 huevecillos aproximadamente. A las 6 semanas se procedió a evaluar la nodulación radicular de *C. maxima* L. pudiéndose observar que era menor en el tratamiento al 75% a comparación de aquellos tratamientos con baja aplicación de extracto. Se concluye que el extracto acuoso de *T. patula* L. reduce la nodulación radicular de *C. maxima* L. ocasionado por *Meloidogyne* sp. siendo el tratamiento al 75% el más efectivo del estudio.

Palabras clave: extracto, *Tagetes patula* L., nodulación radicular, *Cucurbita maxima* L.

ABSTRACT

The presence of *Meloidogyne* sp. has generated rejection and fear for the planting of cucurbits and vegetables in the La Merced-Laredo countryside. Due to this problem a natural control alternative of *Meloidogyne* sp., avoiding the use of nematicides that generate pollution and is difficult to acquire for economic reasons. The objective of evaluating the effect of the aqueous extract of *Tagetes patula* L. on the root nodulation of *Cucurbita maxima* L. caused by *Meloidogyne* sp. Three experimental groups and a control were used, using plastic pots with 1 kg of soil prepared for each one. To this substrate was added extract of the foliage of *Tagetes patula* L. at different concentrations: 25, 50 and 75% (v / v). A *Cucurbita maxima* L. plant was transplanted in each pot 2 weeks after emergence, after approximately 9000 eggs were inoculated. After 6 weeks, the root nodulation of *C. maxima* L. was evaluated. It could be observed that it was less in the treatment at 75% compared to those treatments with low application of extract. It is concluded that the aqueous extract of *T. patula* L. reduces the root nodulation of *C. maxima* L. caused by *Meloidogyne* sp. the 75% treatment being the most effective in the study.

Key words: extract, *Tagetes patula* L., root nodulation, *Cucurbita maxima* L.

Recibido: Noviembre de 2014

Aceptado: Junio de 2015

INTRODUCCIÓN

Los nematodos denominados anguílulas, tienen aspecto vermiforme pero taxonómicamente son bastante distintos a los verdaderos gusanos. La mayoría de especies de nematodos viven libremente en agua y en el suelo alimentándose de plantas y animales microscópicos. Sin embargo, se sabe que varias especies se alimenta de plantas vivas en las que producen una gran variedad de enfermedades (Agrios, 2001).

Los nematodos fitoparásitos son animales multicelulares, generalmente microscópicos (miden alrededor de 0.5 mm de largo), poseen los principales sistemas fisiológicos de los organismos

superiores con excepción del respiratorio y del circulatorio. En general tienen forma de gusano delgado, cilíndrico y alargado, con el diámetro reducido en los extremos. Las hembras que son más grandes que los machos, en algunas especies toman diferentes formas. La pared del cuerpo de los nematodos está formada por tres capas: cutícula, hipodermis y musculatura somática.. (Roman & Acosta, 1984).

El reconocimiento taxonómico y morfológico hace posible establecer los grupos tróficos (Bonges en Leguizamo, 2008). Permitiendo agrupar, a los nematodos como omnívoros, predadores, bacteriovoros, detritívoros y parásitos (Neher en Leguizamo, 2008).

Entre las especies reportadas de nematodos en la provincia de Trujillo asociados a cultivos como el del maíz se encontró 11 géneros, entre ellos destaca: *Aphelenchoides*, *Aphelenchus*, *Meloidogyne*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Tylenchus*, *Xiphinema*, etc (Murga, 1999).

Meloidogyne spp. es uno de los géneros de nematodos parásitos de plantas más perjudiciales económicamente en los cultivos hortícolas (Moral & Romero, 1979). *Meloidogyne spp.* es un nematodo formador de nódulos en la raíz que se encuentran por todo el mundo, pero con mayor frecuencia y abundancia en regiones de clima cálido y tórrido e inviernos cortos y moderados. Ataca a más de 2000 especies de plantas, incluyendo las cultivadas. Estos nematodos dañan a las plantas debilitando las puntas de la raíz inhibiendo su desarrollo o estimulando la formación radical excesiva, pero principalmente su daño se genera al inducir la formación de hinchamientos en las raíces, las cuales no solo privan a las plantas de sus nutrientes sino también deforman y disminuyen el valor comercial de muchas raíces de cultivos. Disminuyen la capacidad de las plantas de absorber agua y nutrientes del suelo y de esta manera producen síntomas de deficiencia de agua y nutrientes en los órganos aéreos de ellas. Las plantas infectadas muestran un desarrollo deficiente y una menor cantidad de hojas pequeñas, de color verde pálido o amarillento que tienden a marchitarse cuando el clima es cálido. Las inflorescencias y frutos no se forman o se atrofan y son de baja calidad. Cuando las plantas susceptibles son infectadas en la etapa de plántula, las pérdidas son considerables y pueden dar lugar a la destrucción total del cultivo. Las infecciones que sufren las plantas adultas pueden tener solo efectos ligeros sobre la producción o pueden disminuir en forma considerable la producción (Agrios, 2011).

La acción de los fitonematodos dejan millonarias pérdidas anuales, que se deben no solo a la acción directa, sino también a su interacción con otros agentes patógenos, especialmente hongos, bacterias y virus (Bello, 1983).

El ataque de los nematodos puede reducir en un 10 a 20 % en el crecimiento normal de la planta, lo cual afecta la producción (Macara, 1988).

La controversia surgida por el uso indiscriminado de nematicidas y la creciente concienciación por el uso de prácticas de agricultura sustentable, han ocasionado un aumento en la reflexión de la sociedad lanzando un reto a los investigadores a buscar una solución a este problema. El control biológico es una alternativa de manejo de poblaciones de nematodos a través de mecanismos tales como el parasitismo, depredación, competencia y antibiosis (Cook & Baker en Morales, 2006).

De los métodos que se utilizan el control biológico se pueden dividir en forma general en dos grupos; a) directo, donde los antagonistas se pueden introducir directamente sobre o dentro del tejido de la planta. b) Indirecto, donde las condiciones del cultivo, suelo ambiente pueden modificar la actividad de los antagonistas que ocurren naturalmente (Cook & Baker en Morales, 2006).

La aplicación de materia orgánica, como una alternativa de control de nematodos fitoparásitos, es una práctica agronómica que sea utilizado por muchos años en cultivos de importancia económica (Zavaleta en Morales, 2006).

Otra es el uso de agentes biocontroladores como hongos, bacterias, protozoarios, insectos y nematodos predadores (Jatala en Morales, 2006).

La explotación de los mecanismos naturales de defensa de las plantas podría dar lugar a alternativa, sostenible y respetuoso del medio ambiente estrategias de gestión. Las plantas pueden reaccionar rápidamente a la agresión de la planta patógena y son capaces de reconocer compuestos (inductores) producidas o emitidas por el patógeno. El término " resistencia inducida " se utiliza para describir la planta defensas que se activan por el ataque de patógenos y implica la activación de vías de señalización de defensa, en el que el ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA) y etileno el cual juegan un papel importante. (Vieira et al., 2013).

Las propiedades nematocidas de algunas plantas se relacionan directamente con el contenido de ciertos químicos que resultan tóxicos a los nematodos tales como fenoles, taninos, azadirachtinas, ricinas, alcaloides y glicósidos, entre otros. Las plantas con efecto nematocidas más estudiadas en el mundo son: *Cineraria maritima* Dc., *Ruta graveolens* L. y *Tagetes erecta* (Reina y col., 2002).

Se conocen experiencias con extractos vegetales tanto de papayo como de ajo a la concentración de 35 g/ maceta poseen un elevado grado de control contra nematodos, pero no lograron superar al nematocida phenamiphos (Parada & Guzmán, 1997).

Así mismo con *T. minuta* L., reportan que su incorporación al sustrato como enmienda orgánica, reduce la nodulación radicular producido por *Meloidogyne* sp. (Murga, 2012).

Tagetes patula L. es una planta que produce un potencial número de componentes, bioactivos, entre ellos está el alfa-tertienilo el cual es uno de los más tóxicos. Este componente azufrado es abundante en los tejidos del marigold. Incluyendo las raíces y follaje. Es un nematocidas, insecticida, fungicida, antiviral y actividad citotóxica, creyéndose que es este componente principal responsable de su acción nematocidas. Así los nematodos pueden morir al ponerse en contacto con la raíz de la planta o cuando la planta de *T. patula* L. toma contacto con el suelo. Los componentes nematocidas, aparentemente permiten al *T. patula* L. ser eficiente contra los nematodos que atacan la raíz. Los compuestos bioactivos de diferentes especies de *T. patula* L. pueden diferir en la composición, calidad y cantidad. Por lo tanto, ciertas especies de *T. patula* L. pueden ser altamente efectivas contra una especie de nematodo. Es importante destacar que los compuestos de α -tertienilo en *T. patula* L. limitan la actividad de los nematodos cuando se incorporan en el suelo. Solamente el sistema constituido por las raíces y follaje del *T. patula* L. exhibe propiedades nematocidas muy importantes (Koon-Hui et al., 2007).

También se ha demostrado que *T. patula* L. adicionado a un sustrato como extracto acuoso reduce la formación de nódulos en plantas altamente susceptibles como el tomate (Méndez, 2009).

La presente investigación se justificó por la problemática de La campiña La Merced –Laredo, donde la presencia de *Meloidogyne* sp. ha generado el rechazo y temor la siembra de cucurbitáceas y hortalizas a fines. En tal sentido se planteó el problema ¿Cuál es el efecto de los extractos de *T. patula* L. sobre la nodulación radicular de *Cucurbita maxima* L. ocasionado por *Meloidogyne* sp.? Siendo nuestra hipótesis, que el extracto de *T. patula* L. al 75% (v/v), es capaz de reducir la mayor nodulación radicular ocasionado por *Meloidogyne* sp.

El objetivo general fue demostrar el efecto de *T. patula* L. sobre la nodulación radicular de *C. maxima* L. ocasionado por *Meloidogyne* sp. y como objetivo específico el cuantificar la nodulación radicular de *C. maxima* L. y realizar observaciones microscópica del desarrollo de *Meloidogyne* sp. en el tejido vegetal de *C. maxima* L.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Colecta e identificación de *Meloidogyne* sp.

Las muestras de *Meloidogyne* sp. procedieron de la Campiña La Merced, la cual se localiza al Oeste de la ciudad de Laredo, sector Wichanza - ramal 3. La ciudad Laredo está entre las coordenadas 8° 00' 30" a 8° 08' 30" de la latitud Sur y entre 80° 50' 00" a 79° 15' 00" de longitud Oeste.

Para aislar *Meloidogyne* sp. se utilizó el método de tamizado. Para ello se tomó 15 gramos de sustrato y se dispuso sobre dos tamices. Se aplicó un chorro de agua y el sobrenadante de la malla más fina, con ayuda de un piseta se recolectó en una placa de Petri. Se colocó 1 gota del sobrenadante en una lámina y se observó en microscopio con objetivo de 10 X.

La presencia de juveniles y de nodulaciones en las raíces es un indicador de la presencia de *Meloidogyne*. A través de esta técnica más del 90% de los nematodos se colectó vivos.

2. Adquisición de semillas de *C. maxima* L. y de *T. patula* L.

Las semillas certificadas de *C. maxima* L. fueron adquiridas en Agro Chimú y las de *T. patula* L. en Hortus.

3. Preparación se sustrato y siembra de *C. maxima* L.

El sustrato estuvo constituido por suelo y arena en una proporción de 1: 1, lo cual permitió extraer a la planta al final del experimento sin ningún esfuerzo y de esta manera evitar la pérdida de nódulos. Dicho sustrato se desinfectó con legía al 10% por 10 minutos, luego se realizó 3

enjuagues con abundante agua y se expuso a solarización sobre un plástico negro por 1 semana. El sustrato se llenó en bolsas negras de 4 kg y fue transportado a laboratorio.

Para la siembra se utilizó una bandeja germinadora donde se incorporó sustrato. Se sembró 100 semillas certificadas de la marca HORTUS, previamente fue necesaria la aplicación de 10 gramos del fungicida en polvo OMAI, para evitar la infestación del hongo *Pythium*.

Una vez que las semillas germinaron se procedió a trasplantar las plantas a su respectiva maceta de 1kg. El riego del cultivo se realizó 2 veces por semana, incorporando 30 ml de agua a cada maceta.

4. Preparación de extractos y establecimiento de los grupos de estudio

Se hizo uso de un extracto del follaje de *T. patula* L. Las hojas fueron seleccionadas y pesadas. Para la obtención del extracto se utilizó un mortero, donde se incorporó el follaje y agua destilada de acuerdo al grupo experimental.

La preparación del extracto obedece a la siguiente fórmula matemática:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Peso de hojas}}{\text{P. de hojas + agua}} \times 100$$

Esta fórmula nos indica que tanto % de la mezcla a preparar es follaje de *T. patula* L.

Una vez preparado el extracto este fue incorporado al sustrato de acuerdo al grupo experimental al 25, 50 y 75 % (v/v), el grupo testigo no recibió extracto. Luego en cada maceta se trasplantó una plántula de *C. máxima* L.

5. Inoculación de huevecillos de *Meloidogyne* sp.

Para la obtención de los huevos se procedió de la siguiente manera (Zuckerman, 1985):

a. Se colocó en un vaso cerrado 3 gr. de raíces más solución de lejía al 0.5%.

La adición de lejía obedece a la siguiente fórmula matemática:

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Dónde:

C1= Concentración de la lejía.

C2= Concentración de la lejía al 0.5%.

V2=Volumen de la lejía.

V1=Volumen de agua destilada a adicionar.

b. Luego con la ayuda de un bisturí se procedió a realizar cortes a las nodulaciones.

c. El contenido de las raíces lavadas con lejía y cortadas se dejó reposar por 5 minutos, luego se vertió sobre un colador.

d. Luego el contenido se vertió a un vaso, aforándose hasta una solución de 100 ml. Se homogenizó la solución y se tomó una muestra de 0.01 ml con la ayuda de una pipeta.

e. Finalmente se procedió al conteo con ayuda de un microscopio y una cámara Neubauer.

Una vez contabilizado se procedió a distribuir por tratamiento:

- T1: Blanco, sin extracto de *T. patula* L. + 9000 huevecillos.
- T2: Extracto acuoso de *T. patula* L. al 25 % + 9000 huevecillos.
- T3: Extracto acuoso de *T. patula* L. al 50% + 9000 huevecillos.
- T4: Extracto acuoso de *T. patula* L. al 75% + 9000 huevecillos.

6. Evaluación de la nodulación de *Cucurbita maxima* L.

A los 45 días de la inoculación, de cada maceta se extrajo una planta de *Cucurbita maxima* L. Se lavó y analizó sus raíces, con ayuda de un estereoscopio se observó y contabilizó los nódulos de *Meloidogyne* sp. en el sistema radicular *C. maxima* L.

Para la evaluación microscópica, la cual nos permitió conocer las diferentes fases de desarrollo de *Meloidogyne* sp. se tomó parte de raíces noduladas de *C. maxima* L. y se conservó en medio AFA. El medio AFA (formalina, alcohol, ac. Acético) está constituido por:

Para 100 ml:

- 5.4 ml de formalina (37%).
- 65.6 ml de cloroformo.
- 5 ml de ácido acético.
- 24 ml de agua destilada.

Luego la muestra fue llevada al Laboratorio de Patología del Hospital Regional de Trujillo, donde se realizó la inclusión de la muestra en parafina y la coloración Hematoxilina – Eosina. Habiéndose obtenido ya las muestras en láminas y con ayuda de un microscopio (10 x) se identificó las estructuras que permitieron identificar a *Meloidogyne sp.*

RESULTADOS

Los resultados están orientados a contabilizar el número de nodulaciones de las raíces de *C. maxima L.* En la figura 1 se observa los promedios del número de nódulos radiculares por tratamiento. Todos los tratamientos evidenciaron la presencia de nodulaciones, pero los tratamientos al 50 y 75 % mostraron una notable reducción del número de nódulos.



Fig. 1. Promedios del número de nódulos radiculares en *Cucurbita maxima L.* según tratamiento con extracto de *T. Patula L.* al 25, 50 y 75% y el grupo testigo.

Tabla 1. ANOVA del número de nódulos radiculares de *Cucurbita maxima L.* ocasionado por *Meloidogyne sp.* según tratamiento con extracto de *Tagetes Patula L.* al 25, 50 y 75%.

FV	GL	SC	CM	FC	Ft	P
Tratamiento	3	25925.4	8641.8	700.4	2.87	0.0001
Error	36	444.2	12.3			
Total	39	26369.6				

El nivel de significancia de la prueba ANOVA es $p = 0.001$ la cual es menor al nivel 0.05, demostrándose que al menos un tratamiento se diferencia significativamente de los demás; es decir, existe diferencia alguna entre tratamientos.

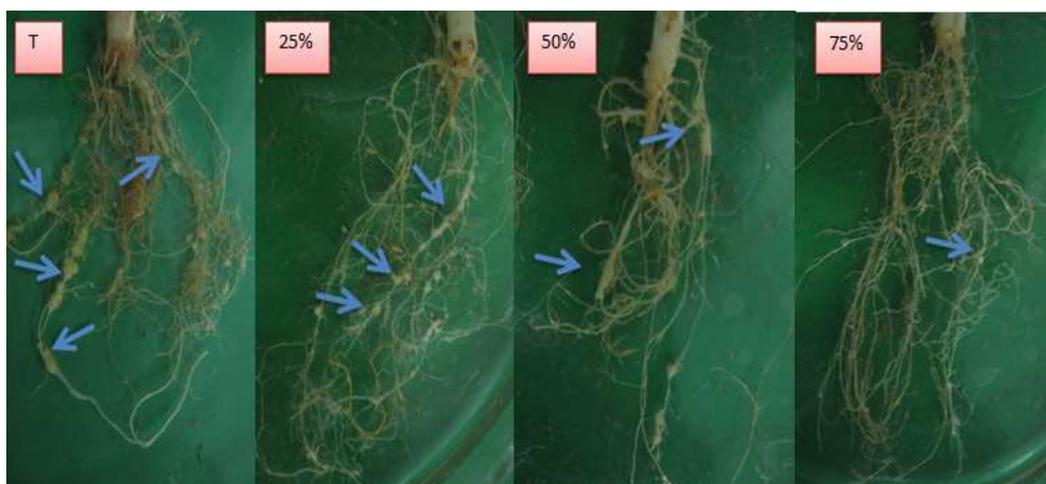


Fig. 2. Nódulos de *C. maxima* L. ocasionado por *Meloidogyne* sp. según tratamiento con extracto de *Tagetes Patula* L. al 25, 50 y 75% y el grupo testigo.

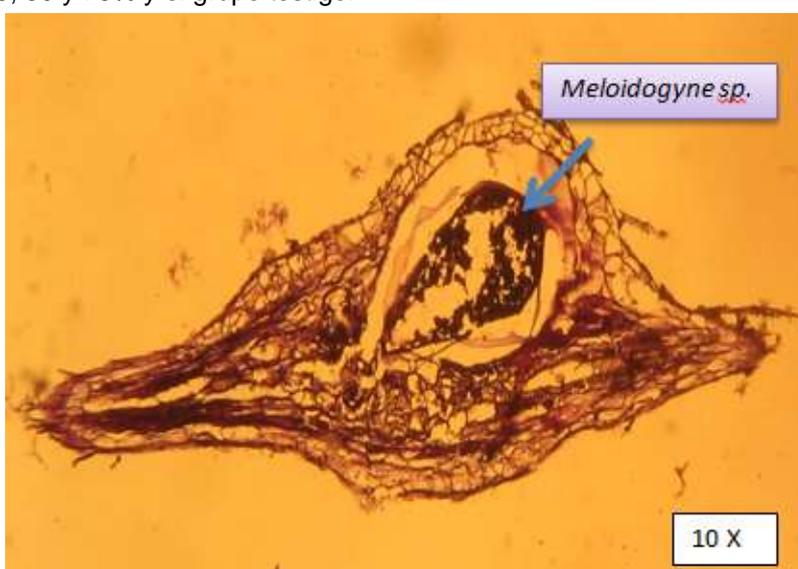


Fig. 3. Corte histológico del tejido de *C. maxima* L., coloreado con hematoxilina – eosina. Donde se observa la hembra adulta de *Meloidogyne* sp.



Fig. 4. Corte histológico del tejido de *C. maxima* L., coloreado con hematoxilina – eosina. Donde se observa la hembra adulta de *Meloidogyne* sp. dentro del nódulo y una masa de huevecillos desprendiéndose del tejido vegetal.

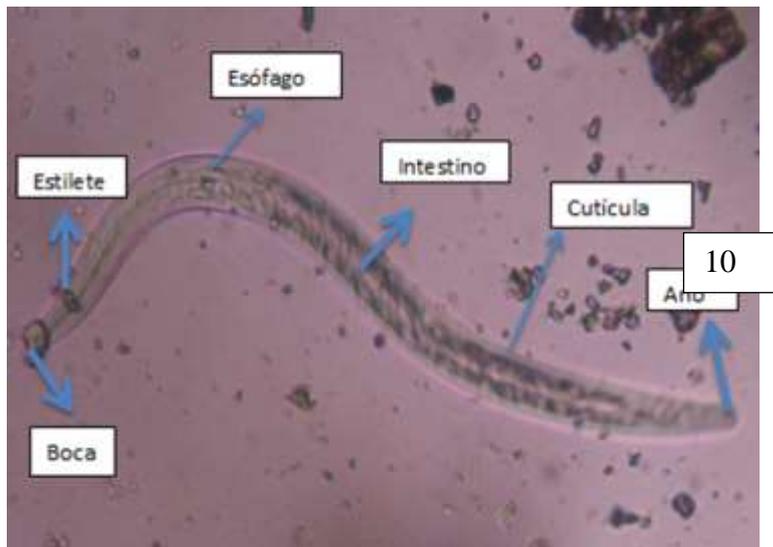


Fig. 5. Muestra en fresco de la Larva II de *Meloidogyne* sp. donde puede identificarse la presencia de boca, estilete, esófago, intestino, cutícula y ano.



Fig. 6. Huevecillos de *Meloidogyne* sp. en diferentes estadios. Las flechas indican el juvenil I dentro de un huevecillo pronto a eclosionar.

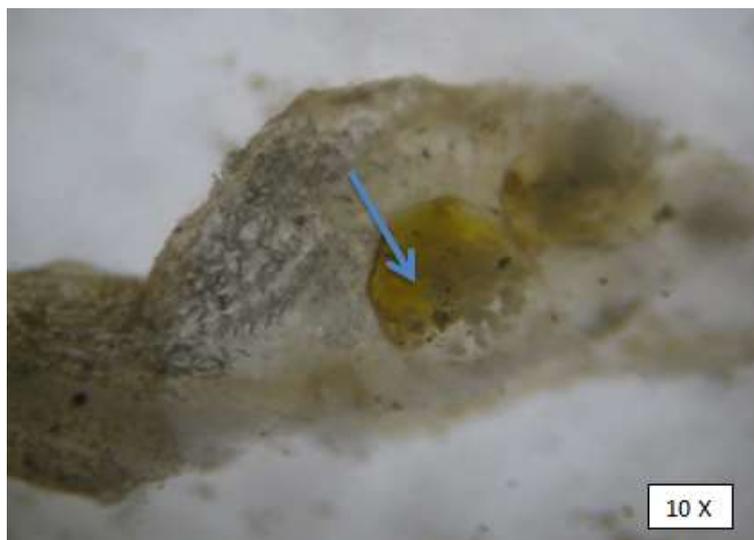


Fig. 7. Identificación de masa de huevos de *Meloidogyne* sp. en corte transversal de nódulo de *C. maxima* L.

DISCUSIÓN

La presencia de nódulos en las raíces del cultivo de *C. maxima* L., es un indicador de la infección causada por *Meloidogyne* sp.

Meloidogyne sp. daña a las plantas debilitando las puntas de la raíz inhibiendo su desarrollo o estimulando la formación radical. Su daño se genera al inducir la formación de hipertrofia en las raíces, las cuales no solo privan a las plantas de sus nutrientes sino también deforman y disminuyen el valor comercial de muchas raíces de cultivos. Disminuyen la capacidad de las plantas de absorber agua y nutrientes del suelo y de esta manera producen síntomas de deficiencia de agua y nutrientes en los órganos aéreos (Agrios, 2011).

Se encontraron pocos nódulos en el tratamiento al 75 % (v/v) de extracto de *T. patula* L., en comparación con los tratamientos al 25, 50 % (v/v) y el grupo testigo, indican que el extracto acuoso de *T. patula* L. tiene efecto antagónico en el desarrollo de *Meloidogyne* sp. Este efecto guarda relación con los resultados obtenidos por otros autores, que han demostrado que *T. patula* L. tiene efecto nematocidas, larvicida y fungicida (Parada, 1997).

Las propiedades nematocidas de algunas plantas se relacionan directamente con el contenido de ciertos químicos que resultan tóxicos a los nematodos tales como fenoles, taninos, azadirachtinas, ricinas, alcaloides y glicósidos, entre otros (Reina et al., 2002).

Esto se debe a que *T. Patula* L. es una planta que produce un potencial número de componentes, bioactivos, entre ellos está el alfa-tertienilo el cual es uno de los más tóxicos. Este componente azufrado es abundante en los tejidos del *Tagetes patula* L. Incluyendo las raíces y follaje (Koon-Hui et al., 2007).

En lo que respecta a los cortes histológicos se pudo evidenciar diferentes fases tanto huevo, larva y adulto. Lográndose identificar que *Meloidogyne* sp. tiene la peculiaridad de colocar grandes masas de huevos dentro de los nódulos de *C. maxima* L., los cuales rápidamente maduran a estados juveniles y adultos. Un corte histológico del tejido de *C. maxima* L., coloreado con hematoxilina – eosina se observó la hembra adulta de *Meloidogyne* sp. dentro del nódulo y una masa de huevecillos desprendiéndose del tejido vegetal.

Así mismo muestras en fresco nos permitieron observar la Larva II de *Meloidogyne* sp. donde se puede identificarse la presencia de boca, estilete, esófago, intestino, cutícula y ano.

La ejecución de este experimento, valida la aplicación del extracto de *T. patula* L. a cultivos susceptibles como *C. maxima* L. y hortalizas para el control de *Meloidogyne* sp.

CONCLUSIONES

Se concluye que el extracto acuoso de *T. patula* L. reduce la nodulación radicular de *C. maxima* L. ocasionado por *Meloidogyne* sp., siendo el tratamiento al 75% (v/v) el más efectivo del estudio ya que se evidenció una menor nodulación en la raíz de *C. maxima* L.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, N.G. 2001. *Fitopatología*. 2^{da} ed. México: LIMUSA S.A.
- Bello, A. 1983. Nematodos patógenos de árboles frutales. *Plagas*, 9:133-165.
- Koon-Hui, W.; C. Hooks & A. Ploeg, A. 2007. Protecting Crops from Nematode Pests: Using Marigold as an Alternative to Chemical Nematicides. *Résum. Inf. Investigac. Univ. Nac. de California*.
- Leguizamo, C. & C. Parada. 2008. Nematodos del suelo en el sistema Maíz-Soya y en hábitats naturales adyacentes de la Altillanura colombiana. *Corpoica*, 9(1), 61-65. *Fac. Cienc. Agrop. Univ. Nac. de Colombia*.
- Macara, A. 1988. Nematodos asociados a plantas forestales en Portugal. *Plagas*, 14, 185-225.
- Méndez E., F. 2009. El cultivo de *Tagetes erecta* L. en el Perú: Presente y futuro. Tesis Ms. SC. Univ. Nac Agraria La Molina.
- Morales, M., R. 2006. Manejo de nematodos fitoparasitarios utilizando productos naturales y biológicos. Tesis Ms. SC. Univ. Nac de Puerto Rico.
- Moral, J. & M.D. Romero. 1979. Técnicas de separación, morfometría y control de *Meloidogyne hapla* Chitwood en tomate, mediante diversos nematocidas. *Plagas*, 5:165-176.
- Murga, S., N. 1999. Efecto del follaje de *Tagetes minuta* sobre la nodulación radicular de *Meloidogyne* sp. en *Capsicum annum*, en invernadero. *Revista Peruana de Biología*. 19(3): 257-260.

- Murga, S.N.** 2012. Nematodos fitoparásitos asociados con el cultivo de *Zea mays* L. en la provincia de Trujillo, Perú. *Rebiol* 22 (1-2): 23-27.
- Parada, R. & R. Guzmán.** 1997..Evaluación de extractos botánicos contra el nematodo *Meloidogyne incognita* en *Phaseolus vulgaris*. *Agronomía mesoamericana*, 8(1), 108-114.
- Reina, Y.; R. Crozzoli & N. Greco.** 2002. Efecto nematocidas del extracto acuoso de hojas de algodón de seda *Calotropis procera*, sobre diferentes especies de nematodos fitoparasíticos. Tesis Ingeniero Agrónomo. Univ. Central de Venezuela.
- Roman, J. & N. Acosta.** 1984. Nematodos: Diagnostico y combate. Resum. Inf. Investigac. Univ. de Puerto Rico.
- Vieira, D.; R. Curtis & I. Abrantes.** 2013. Effect of plant elicitors on the reproduction of the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* on susceptible hosts. *Eur. J plant pathol*, 136, 193- 202.

