

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS AGROPECUARIAS.

ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL.

Evaluación de Paecilomyces lilacinus como controlador biológico de Meloidogyne exigua en el cultivo del café en la IV Región

DIPLOMANTE: Nelson Pantoja Garcia

ASESOR: Jorge L. Góngora González

Managua, 1 de julio de 1988.

La presente tesis fué sometida a la consideración del honorable Tribunal examinador como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

Fuè revisado y aprobado por el siguiente tribunal:

Ing. (M.S.C.) Agustín Chavarría.



Lic. (M.S.C.) Mauricio García.

Justo A. Rosales

Lic. Justo Rosales.

AGRADECIMIENTO

Mi especial agradecimiento a: la persona que me introdujo y guió en en el presente experimento, la lic. Maryubca Calderón Vega, al Ingeniero agrónomo Jorge Luis Góngora por su asistencia agronómica y científica en el desarrollo de café en viveros y cultivo del hongo Paecilomyces lilacinus en condiciones de laboratorio.

El análisis estadístico fue realizado con ayuda del Ingeniero agrónomo Eddy Castellón y el Ingeniero agrónomo Leslie Peralta, la redacción escrita del presente documento fue realizada en el Centro de Computación del Centro Nacional de Protección Vegetal, bajo la importante e invaluable ayuda de la Cra. Mireya Monterrey, vaya para ellos mi agradecimiento a su valiosa colaboración.

PRESENTACION

1.- Título del proyecto:

Manejo Integrado del nematodo nodulador (*Meloidogyne exigua* Goeldi 1897).

2.- Título del experimento:

Evaluación de *Paecilomyces lilacinus* (Thom. Samson) como controlador biológico de *M. exigua* en el cultivo de café en la IV región.

3.- Responsable:

Nelson Pantoja García.

4.- Asesor:

Jorge Luis Góngora González.

5.- Institución:

Centro Nacional de Protección Vegetal (C.N.P.V).

6.- Duración:

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| a) Formulación del anteproyecto | Enero-Marzo de 1986. |
| b) Ejecución de parte experimental | Abril-Diciembre de 1986. |
| c) Elaboración escrita de tesis | Enero-Marzo de 1988. |

INDICE

Sección	Página
AGRADECIMIENTO	i
INDICE	ii
INDICE DE CUADROS	iii
INDICE DE ILUSTRACIONES	iv
RESUMEN	v
I INTRODUCCION.....	1
II OBJETIVOS.....	8
III MATERIALES Y METODOS.....	9
IV RESULTADOS.....	20
V DISCUSION.....	34
VI CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	37
VII LITERATURA REVISADA.....	41

INDICE DE CUADROS

Cuadro.	Página
1. Efecto de diversas temperaturas del suelo sobre el ciclo de vida de <i>M. exigua</i> .	5
2. Escala de índice de nodulación y/o reproducción de Nematodos de J. N. Sasser.	15
3. Catastro nematológico a nivel Nacional en Café (<i>Coffea arabica</i>), DGA-SAVE, Calderón (1984).	16

CUADROS DE APENDICE

Cuadro.	
1A- Análisis nematológico del suelo que se uso para establecer el ensayo.	22
2A- Actividades del manejo experimental efectuado durante el estudio de la prueba de efectividad de <i>P. lilacinus</i> en condiciones de laboratorio y vivero.	23
3A- Diseño usado en prueba de efectividad de <i>P. lilacinus</i> en condiciones de laboratorio.	24
4A- Análisis de varianza de Prueba de efectividad de <i>P. lilacinus</i> en condiciones de laboratorio.	25
5A- Prueba de Newman-Keuls, nivel 5 % de prueba de efectividad de	26

P. lilacinus en condiciones de laboratorio.

- 6A- ANDEVA de prueba de efectividad de *P. lilacinus* en viveros de 26
café.
- 7A- Comparación de valores enteros de Medias por planta y tratamien- 27
to de nodulación con respecto a su valor en escala de J. N.
Sasser.
- 8A- Análisis de varianza del conteo de nódulos de *M. exigua*. 28
- 9A- Cuadro de los promedios del conteo de nódulos de *M. exigua*. 28
- 10A- Prueba de Newman-Keuls del conteo de nódulos de *M. exigua*. 29
- 11A- Cuadro de los promedios del conteo de *M. exigua* en raíces de 30
café.
- 12A- Prueba de Newman-Keuls a nivel del 5 %, del conteo de *M. exigua*
en raíces de café.

ILUSTRACIONES

Figura	Página
1. Patrones perineales de <i>M. exigua</i> , (22).	17
2. Morfología de <i>M. exigua</i> , (22).	18
3. <i>Paecilomyces lilacinus</i> parasitando embriones de <i>M. arenaria</i> , (15).	19

GRAFICAS

1. Conteo de nódulos de <i>M. exigua</i> : Media de tratamientos vs. Media de cantidad de nódulos por tratamientos.	31
2. Población de <i>M. exigua</i> : Media de tratamientos vs. Media de poblaciones por tratamientos.	32
3. Cantidad de embriones dañados de <i>M. exigua</i> : Media de tratamientos vs. Media de embriones dañados por tratamientos.	33

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la efectividad del hongo *Paecilomyces lilacinus* como controlador biológico de embriones de *Meloidogyne exigua* y compararlo con el control químico de Carbofuran en vivero de café (*Coffea arabica* L.), se realizó entre los meses de Abril a Diciembre de 1986 en la estación experimental Jardín Botánico de Masatepe, departamento de Carazo, la evaluación de seis tratamientos.

El experimento se efectuó en una parcela de 37 m², con cinco repeticiones de un diseño experimental en bloques completos al azar. Se evaluaron las cuatro plantas centrales de cada parcela, en total 120 plantas. El manejo del experimento se basó en la técnica de aislamiento, reproducción y aplicación de *Paecilomyces lilacinus* del Dr. Parviz Jatala (18) y siguiendo las técnicas del cultivo del café utilizada en la IV Región.

Los tratamientos comparados; 3 dosis de arroz cubiertos de colonias de *Paecilomyces lilacinus*; 15 gramos, 10 gramos y 5 gramos, respectivamente, Furadán 5G a la dosis de 5 gramos y todos los anteriores, incluyendo el testigo relativo con una aplicación de 1000 larvas de *Meloidogyne exigua* por cada planta y un testigo absoluto; todos en bolsas de polietileno con capacidad de 2 kilos de suelo. Los tratamientos que presentaron mejor control de la población nematológica son *Paecilomyces lilacinus* a razón de 5g. y Furadán 5G a razón de 5 g. y el testigo absoluto.

En condiciones de laboratorio se comprobó la efectividad del hongo, donde la agresividad para destruir embriones de *Meloidogyne exigua* fue directamente proporcional a la mayor concentración de espo-

ras del hongo (1×10^6 esporas/ml) y al tiempo de exposición a éste.

INTRODUCCION

El cultivo del café (*Coffea arabica* L.) genera en Nicaragua, US \$ 200 millones de divisas aproximadamente en la actualidad. De entre los factores que inciden en la productividad del cultivo, los nemátodos fitoparásitos están presentes como plaga que afectan las raíces principalmente, (3).

Dos géneros de nemátodos son los más dañinos para la planta de café: cuatro especies del género *Meloidogyne* (*exigua*, *africana*, *coffeicola* e *incognita*), donde larvas y hembras producen agallamiento en las raíces secundarias, y cuatro especies del género *Pratylenchus* (*brachyrus*, *coffea*, *loasi* y *prateusis*), que producen lesiones en raíces también, White Head (1986). Bally y Reydon (1922), afirman que a menudo los árboles infestados son tan vigorosos como los no infestados.

Calderón (1984), reportó de 12 departamentos muestreados en Nicaragua, 10 géneros afectando las raíces del cafeto, ver cuadro No.3 . Pantoja (1987) y Calderón (1984), reportan poblaciones de 30.000 y 57.000 nemátodos por 100 gramos de raíces de café, de la especie *Meloidogyne exigua*, respectivamente. Datos estadísticos que demuestren la influencia en crecimiento, desarrollo y producción del cafeto, de los nemátodos a nivel nacional, no están al alcance, empero, en café tecnificado donde se usó diferentes nematicidas, produjeron 1.625 kilos por hectárea y donde se usó sistema tradicional de cultivo, produjeron 325 kilos por hectárea, (1).

Meloidogyne spp., se caracteriza por la formación de nódulos en las raíces. A nivel mundial se le considera como amenaza a la producción, por lo cual en 1978 la Agencia Internacional del Desarrollo de los Estados Unidos de Norteamérica, organizó el Programa Regional a nivel mundial tendiente a alinear esfuerzos en la lucha contra este género de nemátodos. Los nematicidas usados desde 1946, son los productos químicos generalmente usados para controlar y prevenir las poblaciones nematológicas. El nematicida *Carbofuran* pertenece a la clase de compuestos químicos conocidos como *N-metil-carbamatos*. Este ejerce su acción tóxica por inhibición de la enzima conocida como *acetilcolinesterasa*. Es inestable en medio alcalino, estable en condiciones neutras o ligeramente ácida y se degrada a temperaturas mayores de 130°C, (4).

Se ha comprobado la efectividad de *Carbofuran* en el control de nemátodos (8), pero este y otros nematicidas tienen como inconveniente su alto valor y contaminación del manto freático. En Nicaragua en 1986 se compraron 1,366.675 kilos, representando una inversión de \$ 2.679,282 (4).

En 1978 en Lima, Perú, se realizó por primera vez estudios del hongo *Paecilomyces lilacinus* como una alternativa para control biológico de *Meloidogyne incognita* en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*). Dichos estudios lograron demostrar la efectividad del hongo en la disminución de poblaciones de *Meloidogyne incognita*. Las hifas del hongo penetran los huevos del nemátodo y destruye el embrión, también ataca y crece dentro de hembras en desarrollo causando su muerte. Igualmente se han comenzado ensayos para probar la eficiencia de este

hongo en el control de otros generos y especies de nematodos y en otros cultivos, Jatala (1980).

Por todo lo anterior se condujo el presente estudio con el objetivo de probar la efectividad del hongo *Paccilomyces lilacinus* como controlador biológico de *Meloidogyne exigua*, en viveros de café en condiciones climáticas y de suelo de Masatepe, IV Región y comparar su efectividad con respecto a la de Furadán 5G, teniendo como limitantes no poseer aparatos para registrar regularmente humedad relativa del ambiente y humedad del suelo, así como la temperatura de éste.

La posición sistemática de *Meloidogyne exigua* es la siguiente según Goeldi (1887), (7)

Orden *Tylenchida*
Sub-orden *Tylenchina*
Super-familia *Heteroidea*
Familia *Meloidogynidae*

En cuanto a la distribución y hospedantes, *Meloidogyne exigua* fue la primera especie de nematodos encontrados en las raíces del cafeto, Jobert (1978). Años más tarde Goeldi (7), publicó una descripción de estas especies como parte del informe sobre una enfermedad de las plantas de café en la provincia de Rio de Janeiro, Brasil. *Meloidogyne exigua* aparentemente no ha sido reportada en cafetos fuera de las Americas, Salas y Echandi (1961), sin embargo D'souza (1965), informó su presencia en la India en ciertas malezas, pero no en las raíces del cafeto (7).

La descripción morfológica de la hembra se basa en características de cortes perineales (cortes transversales) de la vulva y medidas a diferentes partes del cuerpo. La hembra endoparasita posee cuerpo piróide con cuello bien definido. Patrón cuticular posterior de conformación más o menos circular, con arco dorsal bajo aplanado; estrías lisas muy espaciadas, rugosas, quebradas y dobladas en regiones laterales, campos laterales no obvios, fasmidios muy separados, Taylor et al (1955). Según Whitehead (1968), la cabeza tiene 2 ó 3 anillos detrás del casquete cefálico y miden 3 micras de alto y 8 micras de ancho. Estilete de 9 a 14 micras a lo largo con protuberancias pequeñas en declive hacia atrás, orificio de la glándula dorsal a 4 ó 6 micras detrás de las protuberancias. Lóbulo glándular traslapando el intestino. Gónodas apareadas muy enrolladas ocupan el cuerpo hinchado (7), ver ilustración No. 3.

La ecología de *Meloidogyne exigua* se enfoca aparte de existir plantas susceptibles, a la temperatura y humedad del suelo. Otro aspecto es la textura del suelo. Estos aspectos se valoran con respecto a la sobrevivencia, reproducción y latencia con datos que a continuación se detallan.

CUADRO 1. EFECTO DE DIVERSAS TEMPERATURAS DEL SUELO SOBRE EL CICLO DE VIDA DE M. EXIGUA, según Taylor y Sasser (1983).

Supervivencia	0° C - 35° C
Reproducción	15° C - 30° C
Latencia	30° C - 35° C

Las especies de *Meloidogyne* dependen del agua en el suelo para continuar su vida y todas sus actividades. Las larvas y los huevos mueren en el suelo seco; pero pueden sobrevivir si hay suficiente humedad para mantener el aire del suelo con casi 100 % de humedad, Peacock (1957). Las larvas emergen rápidamente y se mueven con libertad a través de los poros del suelo cuando hay suficiente agua para formar películas delgadas de agua sobre las partículas del suelo, Wallace (1964). Con bajo contenido de agua se inhibe la emergencia, porque algo de agua es extraída de los huevos y el movimiento de la larva es más difícil. En suelos muy húmedos, la emergencia puede inhibirse y el movimiento larval disminuir por falta de Oxígeno, Taylor y Sasser (1983).

Las larvas del nematodo tienen que moverse a través de los poros del suelo. El movimiento es imposible si los espacios porosos son tan pequeños que les impidan a los nemátodos deslizarse a través de ellos y la movilidad es aparentemente máxima cuando la proporción entre el

diámetro de la partícula sobre la longitud del nemátodo es de 1:3 Wallace (1964).

La posición sistemática de *Paecilomyces lilacinus* según Alexopoulos (1979) y Jatala (1982) es la siguiente.

Clase	<i>Deuteromycetes</i>
Subclase	<i>Hyphomycetidae</i>
Orden	<i>Moniliales</i>
Familia	<i>Moniliaceae</i>

Las colonias que se desarrollan en malta agar y papa-dextrosa-agar crecen moderadamente a temperatura de 25° C, unos 4-6 cm en 14 días.

Al comienzo las colonias se observan blancas, luego color lila, son planas, sin micelios aéreos y delgadas; conidiophoros elevados, (4).

El género *Paecilomyces* es de distribución mundial. Se le puede localizar en la superficie de insectos como *Coleopteros*, *lepidopteros*, *dipteros*, *hymenopteros*, *hymenopteros*, *aracnidos* y frecuentemente aislado de suelos y algunos tipos de maderas. En 1978 fue aislado *Paecilomyces lilacinus* de huevos de *Meloidogyne spp.*, encontrado en una raíz de papa infectada proveniente de las montañas del centro de Perú, en el valle de Huánuco, Jatala (1982).

Para poder examinar este organismo bajo diversas condiciones climatológicas prevaescentes en diferentes partes del mundo, los estudios de control biológico del departamento de Nematología del CIP, forman parte de los objetivos de control estratégico del Proyecto Internacional de *Meloidogyne* (IMP), al cual están adscritos más de 100 colaboradores en 70 diferentes países.

Los requerimientos agroecológicos que determinan la actividad de *Paecilomyces lilacinus* son el PH, humedad y temperatura del suelo. Suelos con alto contenido de materia orgánica, humedad regular, PH= 6.5, temperatura de 15 a 25 C son favorables para su duplicación y sobrevivencia en el suelo. A nivel de laboratorio, medios ricos en carbohidratos y proteínas como PDA, con temperaturas de 22 a 25 C, lo reproducen rápidamente y en 48 horas se observan las colonias (4).

La interacción hongo-nematodos del grupo Heteroderidae, inicialmente fue estudiado con hongos atrapa nematodos. La acción de estos organismos es pasiva y accidental y por ello solo se eliminan un limitado número de nematodos. Los nematodos deben pasar cerca del anillo atrapador o ser capturados por las hifas pegajosas para ser luego eliminados por la intrusión de estructuras globosas y el contenido de su cuerpo consumido por las hifas de asimilación (7).

Paecilomyces lilacinus parasita los huevos, donde la reducción de las poblaciones son más drámaticas. Los huevos de los nematodos del grupo Heteroderidae, depositados naturalmente por la hembra, son más vulnerables al ataque por este organismo, que por otros parásitos migratorios. Cuando se contactan estos con los quistes o masas de huevos, el hongo crece rápidamente y eventualmente parasita todos los embriones de *Meloidogyne incognita* estos fueron destruidos en 5 días de exposición en condiciones de laboratorio. Jatala 1982.

OBJETIVOS

Con la realización del presente estudio se pretende obtener concretamente los siguientes objetivos.

- 1.- Evaluar la efectividad de *Paecilomyces lilacinus* como controlador biológico de *Meloidogyne exigua*.
- 2.- Comparar efectividad del control biológico contra control químico.

MATERIALES Y METODOS

Este estudio fue realizado en el Centro Experimental *Jardín Botánico*, ubicado en la ciudad de Masatepe, IV región a 475 mts. s.n.m., con precipitación y temperatura anual de 1200 mm. y 23.2° C, respectivamente.

Los tratamientos probados en el presente estudio son los siguientes:

- 1.- Plantas inoculadas en 1000 larvas de *Meloidogyne exigua* más 5 gramos de arroz recubiertos por colonias del hongo *Paecilomyces lilacinus* a 2 cm. de profundidad en las bolsas.
- 2.- Plantas inoculadas con 1000 larvas de *Meloidogyne exigua* más 10 gramos de arroz recubiertos por colonias del hongo *Paecilomyces lilacinus* a 2 cm. de profundidad en las bolsas.
- 3.- Plantas inoculadas con 1000 larvas de *Meloidogyne exigua* más 15 gramos de arroz recubiertos por colonias del hongo *Paecilomyces lilacinus* a 2 cm. de profundidad en las bolsas.
- 4.- Plantas inoculadas con 1000 larvas de *Meloidogyne exigua* más 5 gramos de *Furadón 56* a 2 cm. de profundidad en las bolsas.
- 5.- Plantas inoculadas con 1000 larvas de *Meloidogyne exigua* (testigo relativo).

6.- Plantas sin inbculo de *Meloidogyne exigua* y sin tratamientos químico o biológico.

Dichos tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques completos al azar con cinco (5) repeticiones. Cada tratamiento se estableció azarosamente en 30 parcelas con 30 cm de distancia entre parcelas y 50 cm entre bloques. Cada parcela fue de 16 plantas, tomando como parcela útil las cuatro plantas centrales.

La técnica agronómica del cultivo incluyó trasplante a a los 12 días después de germinar, 4 g. de fertilizante completo (10-30-10) cada 3 meses. Aplicación de Mancozeb contra la enfermedad *Cercospora coffeicola*. La preparación y desinfección del terreno para la ubicación del vivero incluyó limpieza manual de malezas durante todo el ensayo. La tierra utilizada en el llenado de bolsas se desinfectó con formalina al 5 % y tapado durante 48 horas. En el análisis previo de esta a la replantación de las plantitas se encontró en 100 cc de suelo nematodos saprófagos y fitoparásitos en poblaciones extremadamente bajas, ver cuadro No. 1 A.

Para estudiar la efectividad de penetración de *Paecilomyces lilacinus* en embriones de *Meloidogyne exigua* en condiciones de laboratorio, se siguió los siguientes lineamientos elaborados por el laboratorio de Nematología-DGA:

DISEÑO: B.C.A.

- Número de tratamientos: 3
- Número de repeticiones: 5
- Número de viales por tratamientos: 5
- Número de masas de huevos por vial: 2
- Total de viales por tratamientos: 15

TRATAMIENTOS

- T1- 1×10^6 esporas por ml más una masa de huevos.
- T2- 1×10^5 esporas por ml más una masa de huevos.
- T3- 1×10^4 esporas por ml más una masa de huevos.

PROCEDIMIENTOS

Tapar los tubos con papel parafina. Observar una masa de huevos con aumento de 1000x, evaluando el número de huevos penetrados por tiempo de exposición a las cantidades de esporas con el siguiente intervalo de tiempo, tomado de la metodología de Jatala (1983).

- a.- 8 días
- b.- 13 días
- c.- 18 días
- d.- 23 días
- e.- 28 días

La temperatura osciló entre 25 a 28°C, se usaron viales esterilizados a 15° C por 150 minutos y agua esterilizada con un pH de 6.5.

Para aislar *Paecilomyces lilacinus* de la arena traída del Perú en 1985 y multiplicarlo para la infestación del suelo usado, se usan los siguientes procedimientos:

- a.- Agitar bien el frasquito que contiene las esporas en arena, asepticamente llenar una tapa del frasco (aproximadamente 1 gramo) de este cultivo y echarlo en un tubo de ensayo que contenga 9 ml. de agua destilada estéril.
- b.- Mezclar bien y añadir 1 ml. de esta solución a otro tubo de ensayo que contenga 9 ml. de agua destilada estéril.
- c.- Repetir el paso b. Echar 2 ó 3 gotas de la solución del tercer de dilución en una placa conteniendo medio papa-dextrosa-agar. Distribuya el líquido con una anza estéril sobre el medio y esparcir el líquido con una gasa y almacene las placas petri a temperatura ambiente.
- d.- Esta dilución se puede realizar usando la dilución anterior.
- e.- Las colonias del hongo aparecerán a los dos días y dentro de 7 a 10 días la superficie del medio será recubierta por hifas del hongo. La esporulación se realiza dentro de las 48 horas. Jatala (1983).

Para la preparación del hongo para la infestación del suelo se utilizó el siguiente procedimiento:

- a.- Remojar las semillas de arroz en agua durante 12 horas. Luego secarlas con toallas de papel o tela, luego colocarlas en un frasco erlenmeyer y esterilizar en autoclave durante 50 minutos.

- b.- Colocar unos cuantos mililitros de agua esteril en las placas petri conteniendo colonias del hongo con 10 a 14 días de edad, mezclar suavemente, pero bien con una aguja esterilizada o anza para hacer una suspensión de esporas.
- c.- Recolectar en botellas estériles la suspensión de esporas de varias placas e inocular los granos de arroz estéril con algunos mililitros de esta suspensión. Dejar que el hongo se desarrolle en los granos de arroz a temperatura ambiente. Batir el frasco todos los días para obtener un crecimiento uniforme del hongo.
- e.- Después de 14 días de la inoculación, habrá suficiente hongos para la aplicación del suelo utilizado. Jatala (1983).

Para la extracción de larvas de *Meloidogyne exigua* de raíces del café, se sigue la técnica de licuado-tamizado, ésta consiste en lo siguiente:

- a.- Lavar bien las raíces, cortarlas en trozos de 1 cm. aproximadamente y homogenizar.
- b.- Tomar 25 gramos de raíces y licuar por 15 segundos a velocidad baja, 10 segundos de descanso y 10 segundos de velocidad alta.
- c.- Preparar un juego de tamices de 1.5 mm., 0.175 mm. y 0.045 mm. de abertura y colocarlos en ese orden sucesivamente.
- d.- Vertir el licuado en el juego de tamices, lavar a presión con agua del grifo todos los tamices.
- e.- Recoger el residuo del tamiz de 0.045 en un beaker de 250 ml. y aforarlo.

f.- Tomar una alicuota de 2 b 3 ml. y vertirlo en una camara de conteo para determinar la cantidad de poblaciones y especies presente, Taylor (1983), y Calderón (1984).

EXTRACCION DE MASAS DE HUEVOS

Agitar en agua las raices con las masas de huevos expuestas y bati-
tir con una brocha o un pincel para separar las masas de huevos. Co-
lectar sobre uu tamiz de 0.42 mm. de abertura y procesar por 40 segun-
dos en una licuadora (homogenizador) con 500 ml. de una solucibn de
hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 1 %, (22).

IDENTIFICACION DE HEMBRAS DE *Meloidogyne exigua* AL MICROSCOPIO

Debido a la variación, los especímenes individuales de especies de
Meloidogyne no pueden ser identificadas sin una muestra adecuada de la
población que nunca es menos de 10 hembras con sus masas de huevos de
10 partes diferentes del campo. Se realizan cortes de la parte poste-
rior de la hembra, cortes perineales y se observan morfología y medi-
das establecidas por Goeldi (1887), (7).

La cantidad de nódulos relacionados con la efectividad de *Paeci-
lomyces lilacinus* en destrucción de embriones de *Meloidogyne exigua*
es en base a escala de Sasser (1985).

CUADRO 2.

ESCALA DE J. N. SASSER.

- 1.- No agallamiento radicular y/o reproducción de nemátodos: 1 a 2
nódulos o masas de huevos.
- 2.- Trazas de agallamiento radicular y/o trazas de reproducción de
nematodos: 3 a 10 nódulos o masas de huevos.

- 3.- Moderado agallamiento radicular y/o alta reproducción de nemátodos: 11 a 30 nódulos o masas de huevos.
 - 4.- Severo agallamiento radicular y/o alta reproducción de nemátodos: 31 a 100 nódulos o masas de huevos.
 - 5.- Muy severo agallamiento radicular y/o alta reproducción de nemátodos: 100 o más nódulos o masas de huevos.
-

VARIABLES MEDIDAS

- 1.- Efectividad del hongo *Paecilomyces lilacinus* en destrucción de embriones de *Meloidogyne exigua*, determinada por las densidades de poblaciones en base a 100 gramos de raíces en los tratamientos a la conclusión del ensayo. De las cuatro plantas centrales se pesaron, maceraron y tamizaron 25 g de raíces y se observaron al microscopio las larvas de *Meloidogyne exigua* con un aumento de 100 X.
- 2.- La cantidad de nódulos relacionados con la efectividad de *Paecilomyces lilacinus* en destrucción de embriones de *Meloidogyne exigua* en base a la escala de J. M. Sasser (22), y análisis de varianza.
- 3.- Cantidad de embriones dañados relacionados con el tiempo de exposición y concentración a esporas de *Meloidogyne exigua* en condiciones de laboratorio.

CUADRO 3. CATABRO NEMATI NIVEL NACIONAL EN CAFE
(Coffea arabica L.). DGA-SAVE, Caldera (1984).

Departamentos.	GENEROS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
BOACO	x	x	x	x	x					
CARAZO	x	x	x			x	x	x	x	x
CHONTALES	x									
GRANADA	x	x	x	x			x			
JINOTEGA	x	x	x				x			
MANAGUA			x				x			
MASAYA	x	x	x		x		x			
MATAGALPA	x	x	x	x			x	x	x	
NUEVA SEGOVIA	x		x	x	x		x		x	x
RIO SAN JUAN			x				x			
RIVAS	x		x				x			
ZELAYA SUR	x		x				x	x		

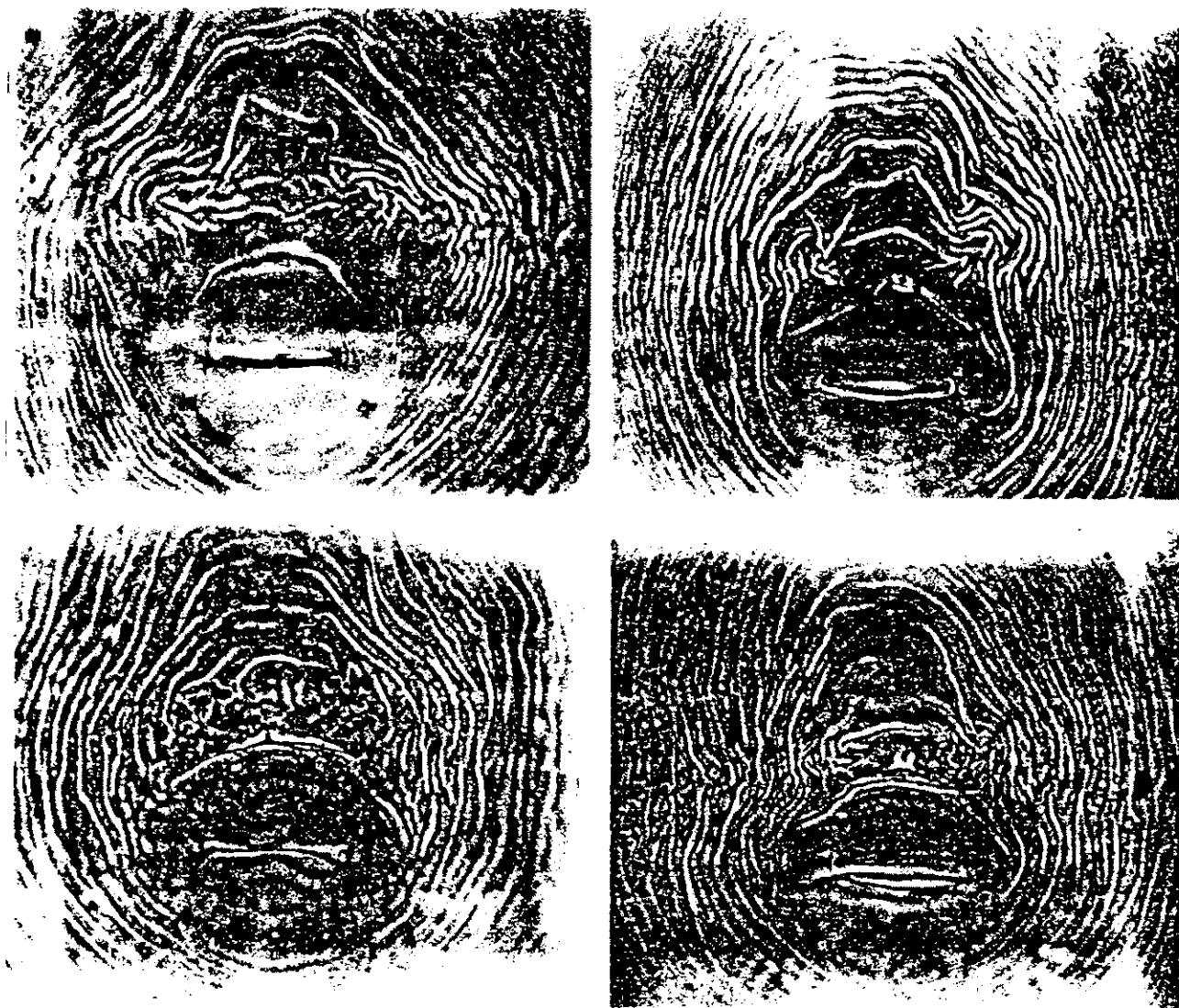
ABREVIATURAS: 1 :Helicotylenchus. 2 :Hoplolaimus.

3 :Meloidogyne. 4 :Tylenchus. 5: Xiphinema

6 :Criconemoides. 7 :Pratylenchus. 8 :Psilenchus

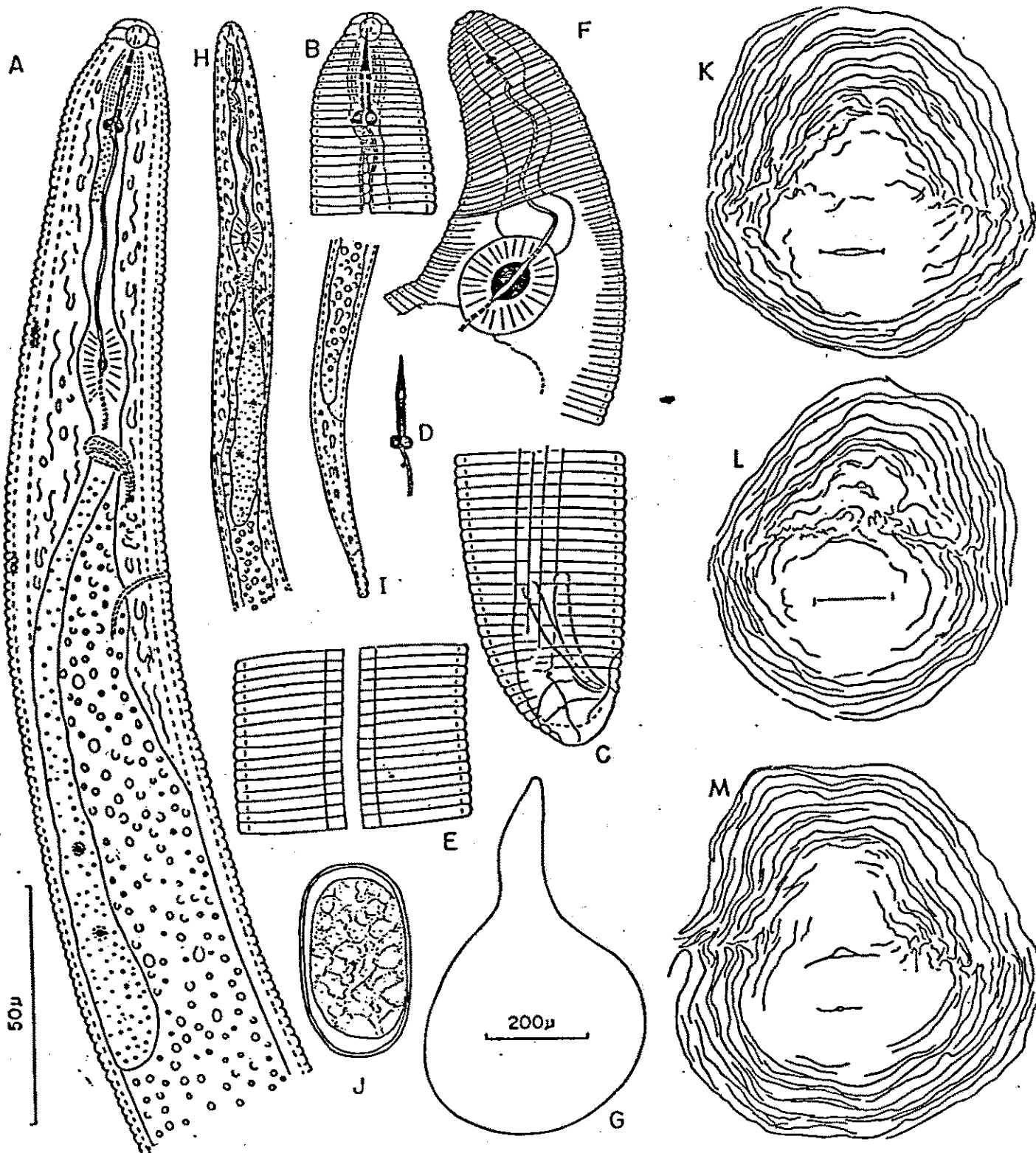
9 :Rotylenchulus. 10 :Tylenchulus.

FIGURA 2. PATRONES PERINEALES DE MELOIDOGYNE EXIGUA, (22).



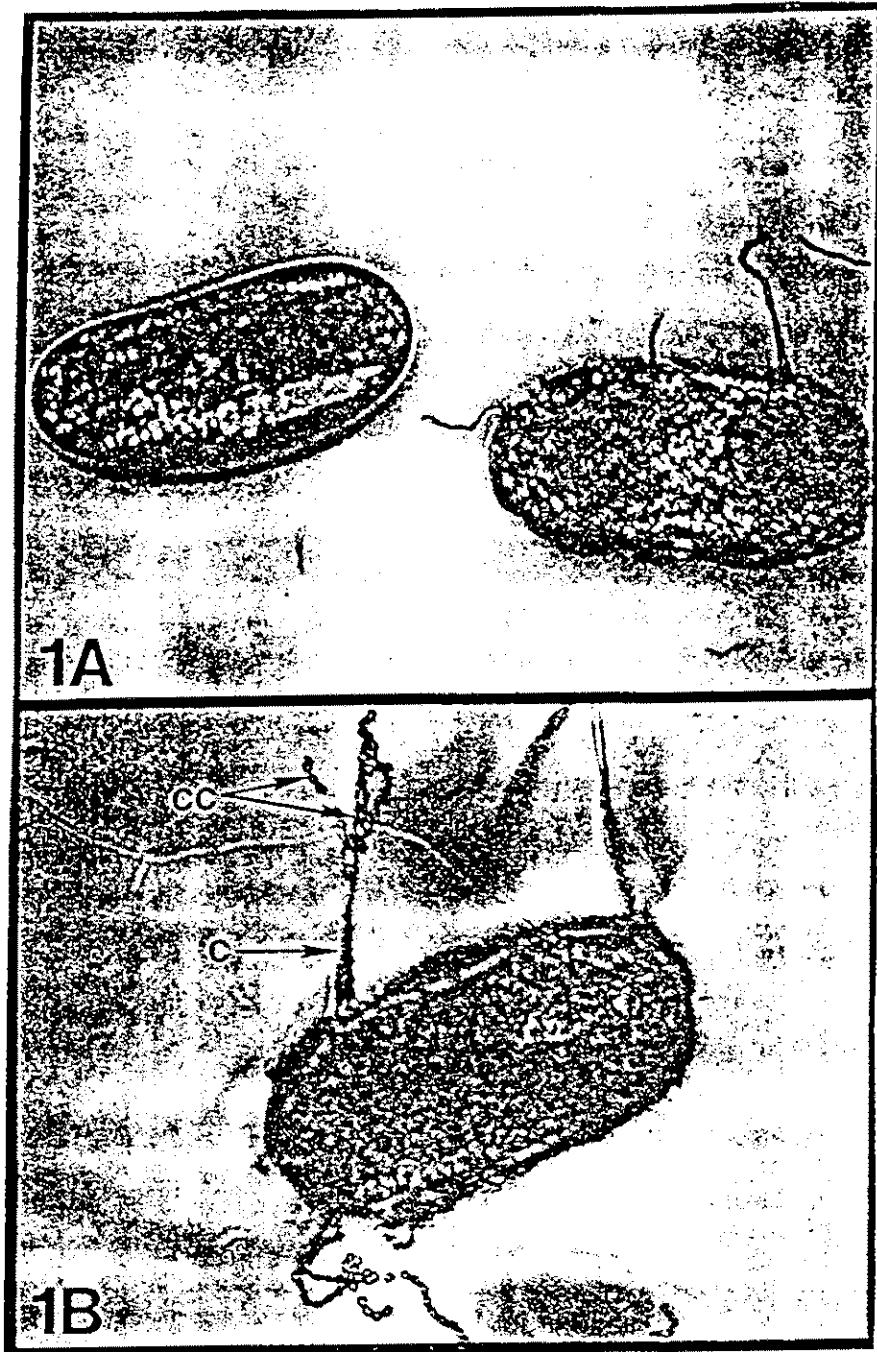
Meloidogyne exigua. Fotografías de patrones perineales. El arco más o menos es aplanado e indentado lateralmente. Las estrías son ampliamente espaciadas. Las estrías quebradas y dobladas terminan en líneas laterales inconspicuas.

FIGURA 3. MORFOLOGIA DE MELOIDOGYNE EXIGUA, (22).



Meloidogyne exigua. A-E: Parte anterior del macho, cabeza, parte posterior, estilete y campo lateral, respectivamente. F, G: Parte anterior de la hembra y forma del cuerpo. H, I: Parte anterior y posterior de la larva. J: Huevo. K-M: Patrones perineales. Lordello y Zamith, 1958.

FIGURA 4. *PAECILOMYCES LILACINUS* PARASITANDO EMBRIONES DE *MELOIDOGYNE ARENARIA*



Dunn M. T. and et al. 1982.

RESULTADOS

A.- Prueba de Laboratorio.

1.- Estudio de efectividad de penetración de embriones de *Meloidogyne exigua* por *Paecilomyces lilacinus*.

En estudios realizados en 28 días consecutivos, se observó la tendencia a la destrucción de embriones de *Meloidogyne exigua* por micelios de *Paecilomyces lilacinus*. El efecto fue directamente proporcional a la concentración y al tiempo de exposición de los embriones al hongo, ver Cuadro 3 A. Según el análisis de varianza las diferencias a un nivel de significancia de 0.05, son significativas entre tratamientos en relación al control de embriones de *Meloidogyne exigua*. Se puede observar a través de la prueba de Newman-Keuls a un nivel de significancia del 5 %, que las concentraciones de esporas del hongo por mililitros de 1×10^6 y 1×10^5 ejercieron el mejor control sobre embriones, teniendo un 88.95 % y 75.20 % de embriones dañados respectivamente.

B.- Prueba de Campo.

1.- Conteo de Nódulos.

Se contarón nódulos en 120 plantas centrales de las parcelas las cantidades obtenidas se analizarán con valores obtenidos con transformación de variable por medio de $\ln(x + 1)$, donde x = variable a transformar, dando como resultado del análisis un promedio general de nódulos por tratamiento de

de Tukey, refleja diferencia significativa entre tratamientos a un nivel de significancia de 0.05, ver cuadro No.8A. Los tratamientos que presentaron menores medias de nodulaci3n fueron: arroz cubierto de P.lilacinus a raz3n de 5 y 10 g con medias de 1.15 y 1.50 respectivamente. Comparando los valores enteros (sin transformaci3n logaritmica del promedio de ndulos por planta y tratamiento con los valores de J. N. Sasser, no hay diferencia en el valor de dicha escala y cae en el rango de trazas de agallamiento y/o trazas de reproducci3n de nem3todos, ver cuadro No.7A.

2.- Niveles de poblaciones.

De las 120 plantas procesadas seg3n prueba de Tukey el an3lisis de varianza refleja diferencia significativa entre tratamientos a un nivel de significancia de 0.05, ver cuadro No. 5 A. Los tratamientos que presentar3n menores medias de poblaci3n fuer3n: arroz cubierto de colonias de P. lilacinus a raz3n de 5 g. y Furad3n 5 G a raz3n de 5 g., con medias de 1.24 y 5.89, respectivamente. Seg3n prueba de Newman Keuls si hay diferencia significativa entre estas medias mencionadas, ver cuadro No. 13 A.

CUADRO 1 A. ANALISIS NEMATOLOGICO DEL SUELO USADO PARA ESTABLECER EL
ENSAYO.

GENEROS EN 100 cc. DE SUELO TOMADO ASARIZADAMENTE.	CANTIDAD.
<i>Tylenchulus sp.</i>	13
<i>Helicotylenchus sp.</i>	13
<i>Rotylenchulus sp.</i>	52
<i>Meloidogyne exigua</i>	26
<i>Panagrolaimus sp.</i>	52
<i>Mononchus sp.</i>	65
<i>Rabditis sp.</i>	45
<i>Aphelenchus sp.</i>	13

CUADRO 3 A. B.C.A. USADO EN PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE P. LILACINUS EN
CONDICIONES DE LABORATORIO CON EMBRIONES DE M. EXIGUA.

TRATA	Lectura 1. (8 días)		Lectura 2. (13 días)		Lectura 3. (18 días)		Lectura 4. (23 días)		Lectura 5. (28 días)		Esp/ml.
	HUEVOS		HUEVOS		HUEVOS		HUEVOS		HUEVOS		
	T	I	T	I	T	I	T	I	T	I	
1	108	78	45	42	126	120	71	67	106	95	1×10^6
2	44	20	86	60	212	180	100	85	55	50	1×10^6
3	64	30	87	40	77	40	94	45	84	70	1×10^6
4	100	0	90	0	84	0	77	0	94	0	Testigo absoluto

Condiciones del laboratorio: temperatura 25 a 28 C, pH del agua 6.5,
viales esterilizados a 150 C por 2 1/2 horas y masas de huevos este-
rilizados en hipoclorito de sodio por 3 minutos.

CUADRO 4 A. ANALISIS DE VARIANZA DE PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE
P. LILACINUS EN CONDICIONES DE LABORATORIO

	S.C.	GDL	CUADROS	MED.	TEST	F.	PROBA.	D.E.	C.V.
VAR. TOTAL	25658.71	19	1350.46						
VAR. FACTOR 1	22928.96	3	7642.99		65.46	0.0000			
VAR. BLOQUES	1328.55	4	332.14		2.84	0.0714			
VAR. RESIDUO 1	1401.20	12	116.77				10.81	19.7	
							(%)	(%)	

CUADRO NO.3A. PROMEDIOS DE PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE P.
LILACINUS EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

PROMEDIO GENERAL = 54.84

PROMEDIO FACTOR 1= TRATAMIENTOS.

F1:	1(T1)	2(T2)	3(T3)	4(T4)	
	88.95	75.20	55.20	0.00	(%)

CUADRO 6 A. PRUEBA DE NEWMAN-KEULS-nivel 5 % DE PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE P. LILACINUS EN CONDICIONES DE LABORATORIO

FACTOR 1: TRATAMIENTOS

TITULOS	PROMEDIOS	GRUPOS	HOMOGENEOS
T1	88.95	A	
T2	75.20	A	
T3	55.20		B
T4	0.00		C

CUADRO NO.5A. ANALISIS DE VARIANZA DE PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE P. LILACINUS EN VIVERO DE CAFE

	S.C.	GDL	CUADRADOS MED.	TEST F	PRDBA.	D.E. C.V.
VAR. TOTAL	428.52	29	14.78			
VAR. FACTOR 1	291.01	5	58.20	10.90	0.0000	
VAR. BLOQUES	30.68	4	7.67	1.44	0.2584	
VAR. RESIDUO 1	106.83	20	5.34			2.31 47.7%

CUADRO 7 A. COMPARACION DE VALORES ENTEROS DE MEDIAS POR PLANTA Y TRATAMIENTO DE NODULACION CON RESPECTO A SU VALOR EN ESCALA DE SASSER.

TRATAMIENTO	VALOR SEGUN ESCALA	SIGNIFICADO DEL VALOR
1: 6 nódulos por planta	2	trazas de agallamiento radicular y/o trazas de reproducción de nematodos.
2: 10 nódulos por planta	2	Lo anterior.
3: 16 nódulos por planta	3	Moderado agallamiento radicular y/o alta reproducción de nematodos.
4: 15 nódulos por planta	3	Lo anterior.
5: 28 nódulos por planta	3	Lo anterior.
6: 0 nódulos por planta	0	No agallamiento radicular o reproducción de nematodos.

**CUADRO B A. ANALISIS DE VARIANZA DEL CONTEO DE NODULOS
DE MELOIDOGYNE EXIGUA.**

	S.C.	GDL	C.M	TEST. F.	PROBA.	D.E.	C.V.
VAR. TOTAL	62.01	29	2.14				
VAR. FACTOR 1	29.02	5	5.80	5.13	0.0035		
VAR. BLOQUES	10.34	4	2.58	2.28	0/0955		
VAR. RESIDUOS 1	22.65	20	1.13			1.06	66.7%

Factor 1= Tratamientos.

CUADRO NO. 10 PROMEDIOS DEL CONTEO DE NODULOS DE MELOIDOGYNE EXIGUA

PROMEDIO GENERAL DE LOS TRATAMIENTOS: 1.60

PROMEDIO FACTOR 1 = TRAT.

F 1: 1 (A1)	2(B2)	3(C3)	4(D4)	5(E5)	6(F6)
1.15	1.50	1.89	1.73	3.31	0.00

CUADRO 10 A. PRUEBA DE NEWMAN-KEULS = nivel 5 % DEL CONTEO
DE NODULOS DE MELOIDOSBYNE EXIGUA

FACTOR 1 : TRAT.

NUMERO DE PROMEDIOS	2	3	4	5	6
VALORES DE LOS MPAS	1.40	1.70	1.88	2.01	2.12

F1	TITULOS	PROMEDIOS	GRUPOS	HOMOGENEOS
5	E5	3.31	A	
3	C5	1.89	A	B
4	D4	1.73	A	B
2	B2	1.50	A	B
1	A1	1.15		B
6	F6	0.00		B

F= tratamientos.

**CUADRO 11 A. CUADRO DE LOS PROMEDIOS DEL CONTEO DE M. EXIGUA
EN RAICES DE CAFE.**

PROMEDIO GENERAL = 4.85

PROMEDIO FACTOR 1 = TRATAMIENTOS

F1:	1(1)	2(2)	3(3)	4(4)	5(5)	6(6)
	1.24	6.15	7.49	5.89	8.31	0.00

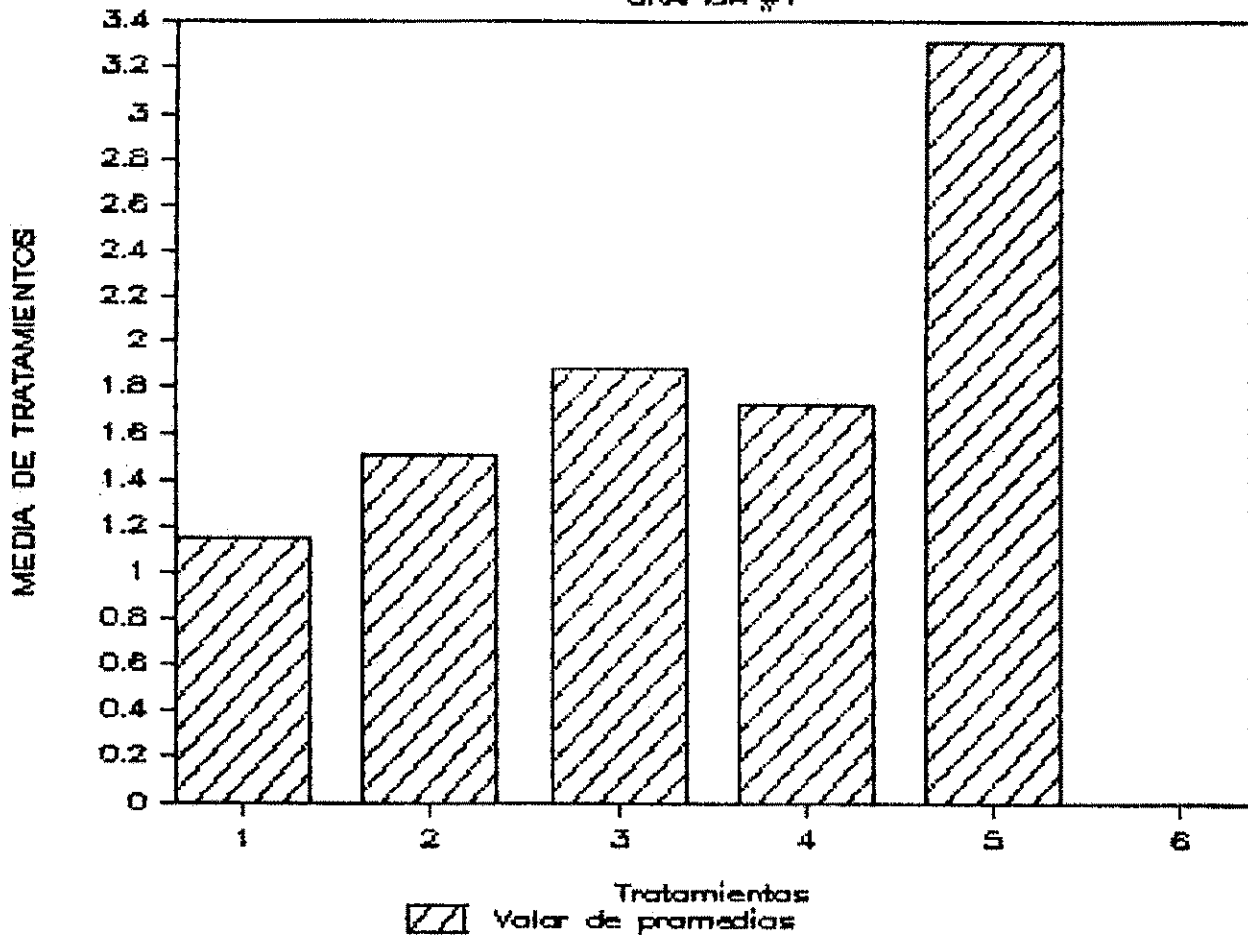
**CUADRO 12 A. PRUEBA DE NEWMAN-KUELS nivel 5 % DEL CONTEO DE M.
EXIGUA EN RAICES DE CAFE.**

FACTOR 1: TRATAMIENTOS

F1	TITULOS	PROMEDIOS	GRUPOS	HOMOGENEOS
5	5	8.31	A	
3	3	7.49	A	
2	2	6.15	A	
4	4	5.89	A	
1	1	1.24		B
6	6	0.00		B

CONTEO DE NODULOS

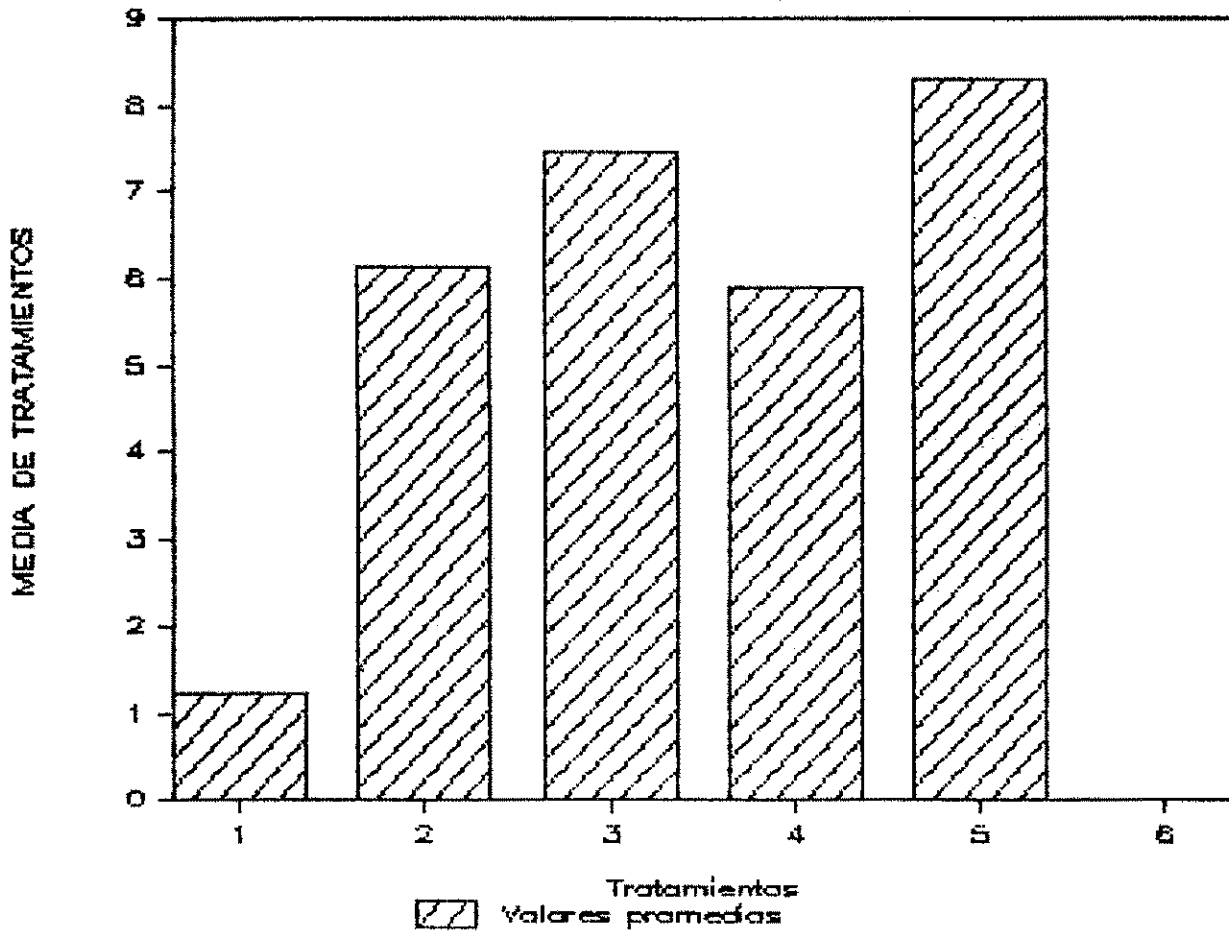
GRAFICA #1



Conteo de nodulos de *M. exigua* : Media de tratamientos vs.
Media de cantidad de nodulos por tratamientos.

POBLACION DE M. EXIGUA

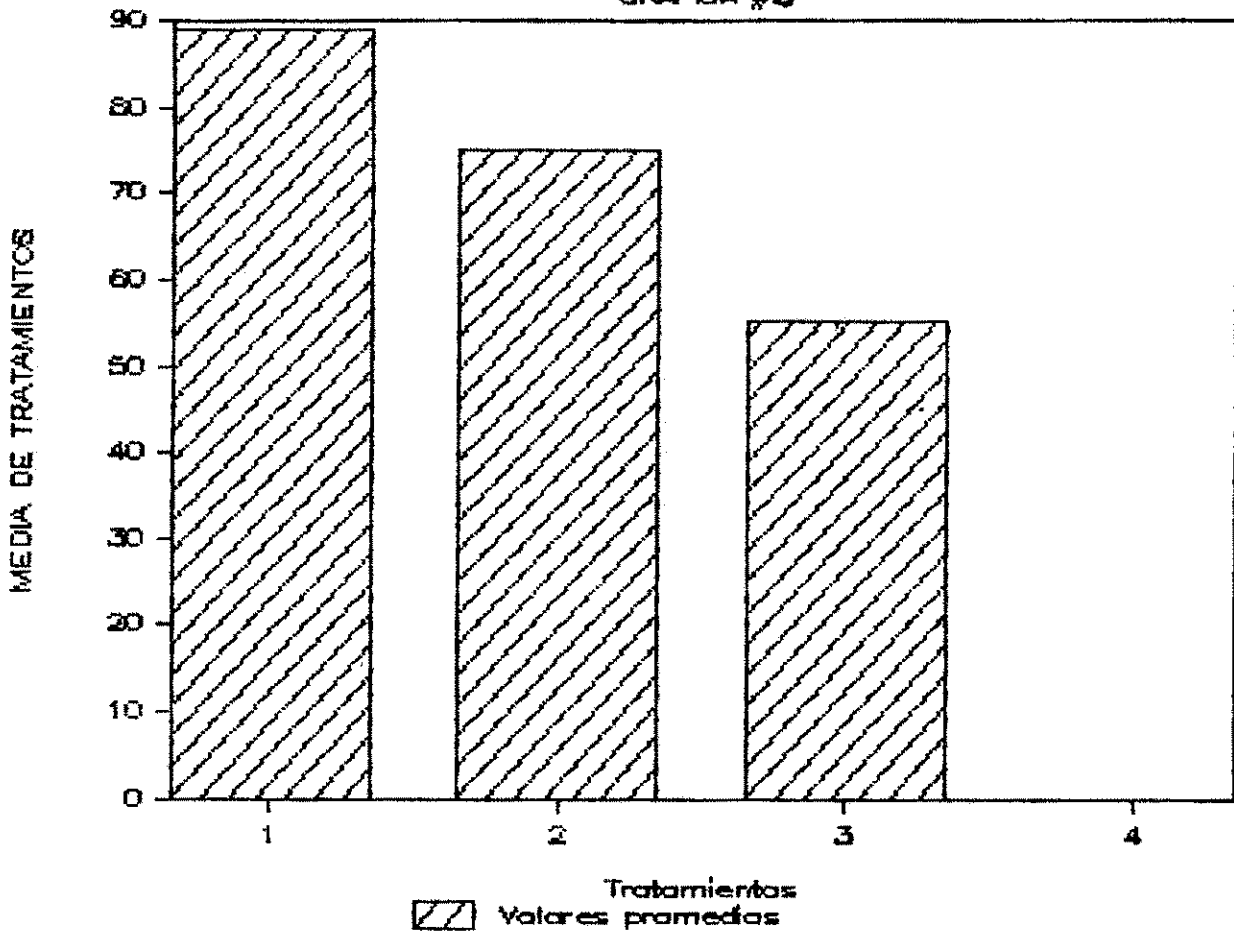
GRAFICA #2



Poblacion de M. exigua : Media de tratamientos vs. Media de poblaciones por tratamientos.

EMBRIONES DANADOS

GRAFICA #3



Cantidad de embriones danados de *M. exigua* : Media de tratamientos vs. Media de embriones danados por tratamientos.

DISCUSION

Se comprobó la efectividad de *P. lilacinus* en condiciones de laboratorio donde a los 8 días se observó y contaron huevos dañados y no dañados de *M. exigua*. Se estudió con aumento de 1000 X a los embriones rodeados por las hifas de las colonias de *P. lilacinus* y un ennegrecimiento gradual en el cuerpo de las larvas, este proceso fue observado con mucha similitud al nuestro, pero con correcta interpretación fotográfica por Morgan-Jones et al (1984), ver copia de su ilustración de embriones de *Meloidogyne arenaria*, No. 4.

En 28 días de estudio consecutivo en el laboratorio de nematología, se contabilizó huevos dañados cada 5 días, se reportaron 88.95 %, 75.20 %, 55.20 % y 0.00 % de huevos dañados de los tratamientos de 1×10^6 , 1×10^5 y 1×10^4 esporas por mililitro y testigo absoluto, respectivamente. En relación al intervalo de tiempo usados en el experimento y así como las concentraciones, Jatala (1983), Franco (1981), y Dunn et al (1982), comprobaron que en condiciones de laboratorio (en medio P.D.A), *P. lilacinus* destruyó embriones de *M. incognita*, *Globodera pallida* y *M. incognita*, respectivamente, a los 5 días de exposición al hongo y que el porcentaje de embriones destruidos son directamente proporcional al tiempo y concentración de esporas a los que son expuestos estos. En este intervalo de tiempo.

Preliminarmente el arroz colonizado por *P. lilacinus* a razón de 5 y 10 g. presentaron las menores medias de formación de nódulos por tratamientos. Croshier (1985), comparó 5 cantidades de arroz colonizado por dicho hongo, donde las cantidades de 1.1 g y 0.75 g, presentaron un 76.25 % y 62.04 % de huevos de *M. javanica* parasitados en cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*), variedad Rutgers, inoculadas las plantas con 10.000 larvas de nemátodos. Jatala (1983) con dosis de 1 g. de arroz colonizado por *P. lilacinus* y 10.000 larvas de *M. incognita* por planta, obtuvo un 60 % de huevos parasitados en viveros de papa (*Solanum tuberosum*), aunque los parámetros analizados fuerón huevos danados en el caso de Croshier y Jatala, las mayores cantidades de arroz colonizado con el hongo dierón los mejores resultados, a diferencia de nuestro experimento en estudio donde la menor cantidad de arroz colonizado dierón las menores medias de nodulación y población nematológica.

En cuanto a las poblaciones determinadas en el experimento, las menores medias poblacionales la presentan los tratamientos de arroz más *P. lilacinus* a razón de 5 g. y Furadán 5G a razón de 5 gramos resultando como mejor control poblacional el tratamiento biológico, lo que coincide con Candanedo et al (1993), el que reporta que experimentos conducidos en parcelas de Malasia, Panamá, Perú, Filipinas, Puerto Rico y Estados Unidos de Norteamérica, han indicado que *P. lilacinus* efectivamente controla *M. incognita* más efectivamente

que los nematocidas comunes y coinciden también con Jatala (1983), el cual en pruebas de invernadero con papa, comprobó también la efectividad de *P. lilacinus* (1 g. de arroz) contra Temik 10G (25 kg/h), Nemacur 5G (50 kg/h), Furadán 5G (50 kg/h), materia orgánica (10 ton. por hectárea) y control relativo, donde el promedio de agallamiento según escala de J. N. Sasser fue el menor presentado por el tratamiento con *P. lilacinus* y con un valor de 2.93 que significa según escala moderado agallamiento radicular y/o reproducción de nemátodos véase escala en cuadro 2. También demostró que en cultivos de naranjas (*Citrus sinensis*) en Perú, que *P. lilacinus* disminuyó las poblaciones de *Tylenchulus semipenetrans* más efectivamente que Temik 10G, Nemacur 5G, y Furadán 5G, donde las plantas incrementaron la producción al cabo de dos años de tratamiento con el hongo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En condiciones de laboratorio se comprobó la efectividad de *P. lilacinus* para danar embriones de *M. exigua*. Hay que tomar en cuenta el hecho que las concentraciones de esporas en los tratamientos T1 y T2 es alta y que el sitio donde se efectuó nuestro experimento, libera al hongo de la natural competencia con otros microorganismos y condiciones naturales de temperatura y humedad del suelo, por lo que los resultados en los suelos agrícolas puede diferir al éxito logrado dentro del laboratorio.

Es conveniente determinar el efecto del hongo sobre los nemátodos en el campo, no solamente por la cantidad de sustrato para su diseminación en el campo (en este caso el arroz), si no por la cantidad promedio de esporas que cada cantidad de sustrato representa y obtener la más conveniente a utilizar. El hongo debe ser reaislado de los huevos infectados en los viales (laboratorio), vivero o campo y desarrollarlos nuevamente en el laboratorio para reconocer una vez más el microorganismo que afectó a los nemátodos.

En el presente experimento se siguió la metodología del Dr. Parviz Jatala, empero varió la cantidades de larvas aplicadas a las plantitas de café, de 10.000 recomendadas a 1.000 utilizadas. Lo anterior se debió a la edad de las plantas de café usadas (75 días) y al poco desarrollo radicular que presentaron en esa fecha. La cantidad de arroz recomendadas es de 1.5 kg por 40 m² de parcelas. Lo recomendado de producto comercial para café de vivero en cuanto al Furadán 56 es de 7.5 a 10 g., y como no se determinó en nuestro experimento

la cantidad de esporas de las colonias del hongo en el arroz utilizado para el vivero, se comparó cantidades de producto comercial químico y el sustrato del hongo (arroz), sin embargo la cantidad que se recomienda por planta es aproximadamente un gramo, por lo que se debe probar con cantidades aproximadas a la anterior y menor que las usadas en este experimento y que puede partir de la más efectiva: 5 g. de arroz en este caso.

En el vivero las condiciones fueron relativamente reguladas en lo referente a la humedad y temperatura del suelo por medio de la sombra parcial, riego cada 3 días (excepción fechas lluviosas) y ayudados por la temperatura promedio de esos meses, que anduvo por 28°C, valor que no afecta la actividad de ambos organismos en estudio. Así como la precipitación fue de 150 mm., baja, pero por el riego periódico aplicado no se toma como un factor negativo importante (datos suministrados por el departamento de Agrometeorología de la DGA de los meses de Abril a Diciembre de 1986). Según lo anterior los factores negativos para la adaptación y reproducción de ambos microorganismos son pocos.

Referente a la cantidad de nódulos y expresar su diferencia en base a la escala internacional de J. N. Sasser, se realizó un solo muestreo y aunque al momento de diagnosticar se realizaron tres lecturas y se sacó un promedio como dato final, se debió realizar por los menos dos muestreos, el primero a los 45 días de aplicado el hongo y el segundo 30 días después del primero, dando lugar a medir la fluctuación de población nematológica en el período que dura el ciclo de las hembras. Con más datos, la información es numéricamente más re-

presentativa y los altos rangos entre los valores de dicha escala podrían denotar alguna diferencia entre tratamientos, pues en el trabajo en mención, no hay diferencia entre tratamientos biológicos y químicos, según los valores de la escala mencionada, aunque estadísticamente el mejor tratamiento fue el control biológico y en cantidad de 5 gramos de arroz como sustrato del hongo.

El tratamiento T1: 5 gramos de arroz más *P. lilacinus* dió la menor media poblacional, le sigue el T4: Furadán 5G, a razón de 5 g. Dieron resultados con medias bastantes semejantes, con lo cual no se descarta la efectividad del Furadán en la reducción poblacional de los nemátodos.

El experimento debe realizarse en diferentes cultivos y en diferentes géneros y especies de nemátodos, pues según el Dr. Párviz Jata-la, podría existir un efecto del cultivo en el establecimiento de la población y efectividad del hongo, además de no usar el camote como cultivo principal/

El estudio de control biológico de un microorganismo se tiene que conducir por lo menos dos años para obtener la irrefutable idea del tipo de interacción entre el microorganismo controlador y el controlado. Cabe aclarar que la influencia del control biológico en condiciones naturales son muy difíciles de medir porque generalmente los nemátodos muertos uno o dos días previos al análisis, ya se han desintegrado, nuestro estudio aunque en condiciones de viveros, tiene carácter preliminar sobre dicha interacción.

Hay que realizar otros ensayos donde se comparen la efectividad de *P. lilacinus* y Furadan, pues se sospecha que el género *Meloidogyne spp.* ha creado algun tipo de resistencia a dicho producto químico. En pruebas realizados y aunque no concluidas en el Jardín Botánico, en café para el control de *Meloidogyne sp.* se compararon los efectos de Rugby, Temik y Furadán, en este último se reportó la mayor cantidad de nemátodos en intervalos de uno y seis meses, al mismo tiempo se evaluó la producción donde Furadán presentó los menores kilogramos por planta (información de comunicación verbal con el Lic. Justo Rosales, responsable del lab. de nematología del J. Botánico).

LITERATURA REVISADA

- 1.- Abrego Leopoldo. 1976. Boletín informativo del Instituto Salvadoreño de investigaciones del Café, El Salvador, San Salvador. 13 pag.
- 2.- Alexopholus C. J. 1979. Sub-división Deuteromycotina Form-class Deuteromycetes. Introductory Micology. Capítulo 27.
- 3.- Bolaños O. Miguel. 1975. Evaluación de diferentes fumigantes del suelo y Nematicidas en semilleros de Café (*Coffea arabica* L.) en Jardín Botánico, Masatepe, Nicaragua. Folleto de 12 pag.
- 4.- C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. 1979. London, England. No. 613.
- 5.- Candanedo E. J. Lara and et al. 1983. Control biológico del Nematodo *Meloidogyne incognita* por el hongo *Paecilomyces lilacinus*. Abstr. XXIII Meetings, APS, Caribbean Div.
- 6 - Calderón V. Marywska. 1984. Catastro Nematológico a Nivel Nacional. 35 pag.
- 7.- C. I. H., Descripción de Nematodos fitoparásitos. Serie 4:46.
- 8.- Dunn M. T. and et al. 1982. Colonization of Nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* observed with scanning electron microscopy. Control biológico 3: 1351-1357.
- 9.- Franco J. P. and et al. 1981. Efficiency of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Globodera pallida*. *Nematologica* 13(1): 438-439.
- 10.- F.M.C. 1987. Manejo y aplicación del Furadán granulado. Folleto 4 pag.

- 11.- International Meloidogyne Project. 1982. Biological control with the fungus *Paecilomyces lilacinus* by Parviz Jatala, Lima, Perú. Volumen I, paginas 209-213.
- 12.- International Nematology Network Newsletter. 1985. Effectiveness of *Paecilomyces lilacinus* in the control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in Chile. 2(3): 3.
- 13.- Journal of Nematology. 1987. Efecto combinado de *Paecilomyces lilacinus* y el hongo *Pasteuria penetrans*. 19(2): 222-227.
- 14.- Jatala Parviz. 1983. Potencial and projects of biological control of Nematodes. Abstrac XXIII. Meetings APS, Caribbean Div.
- 15.- Morgan Jones and et al. 1984. Phytonematode pathology: Ultraestructural Studies. II Parasitism of *Meloidogyne Arenaria* eggs and larvae by *Paecilomyces lilacinus*. *Nematologica* 14(1): 57-71.
- 16.- Morgan Jones G. 1982. Interacciones hongos-nematodos del grupo *Heterodidae*. *Nematologica* 22(3): 60-65.
- 17.- *Nematologica*. 1983. Phytonematode pathology: Ultraestructural studies of *Heterodidae* group. 13(1): 20-25.
- 18.- Pantoja G. Nelson. 1987. Diagnóstico fitosanitario No. 0710 del Centro Nacional de Protección Vegetal, DGA.
- 19.- Raymundo N. 1987. Efectos de sistemas de cultivos en el control del nemátodo del nudo de la raíz. Proceedings of the third research and planning conference on Root-knot nematodes *Meloidogyne* spp., Lima, Perú. Región II. 173-183.

- 20.- Rodríguez R. 1984. Effectivenesses of Species of Gliocladium, Paecilomyces and Verticillium for control of Meloidogyne arenaria. Nematròpica. 14(2): 155-169.
- 21.- Sasser J. N. and et al. 1985. Biological control of Nematodes by Parviz Jatala. An advanced treatise on Meloidogyne. Carolina del Norte, U.S.A. 1: 303-308.
- 22.- Taylor A. L. and Sasser J. N. 1983. Ecología de Meloidogyne exigua. Biología, Identificación y control de los nemátodos del Nódulo de la raíz. Carolina del Norte. U.S.A. 1: 1-11.

END.