

Efectividad biológica de extractos de *Carya illinoensis*, para el control de *Meloidogyne incognita**

Biological effectiveness of *Carya illinoensis* extracts for *Meloidogyne incognita* management

Fabiola Garrido Cruz^{1§}, Melchor Cepeda Siller¹, Francisco Daniel Hernández Castillo¹, Yisa María Ochoa Fuentes¹, Ernesto Cerna Chávez¹ y Diana Margarita Morales Adame²

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro- Departamento de Parasitología. Buenavista. Saltillo, Coahuila de Zaragoza. C. P. 25315. Tel: 8444 11 03 26. ²Fitokimica Industrial de México S. A. de C. V. Brasilia No. 1000 Col. Latinoamericana, Saltillo, Coahuila de Zaragoza. C. P. 25270. Tel: 844 416 23 98. Rio Vistula No.191 Col. Misiones Quinta Manantiales, Ramos Arizpe, Coahuila de Zaragoza. C. P. 25904. Tel: 844 180 52 65. §Autora para correspondencia: fabygarrido@hotmail.com.

Resumen

El trabajo se desarrolló durante 2012 en el Laboratorio de Nematología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con el objetivo de evaluar extractos vegetales derivados del nogal *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch, para el control del nematodo agallador *Meloidogyne* sp. Göldi 1889. Los nematodos fueron obtenidos a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) Var. "Alpha", que presentaban sintomatología. Se realizó la identificación de los nematodos y se determinó que correspondían a *Meloidogyne incognita*. Para el estudio de evaluación de efectividad biológica de los extractos se colocaron los extractos a diferentes concentraciones, (1.0, 1.5 y 2%) utilizando una población de 30±5 especímenes de *Meloidogyne incognita* activos, se estableció un experimento completamente al azar, con once tratamientos incluyendo al testigo y cinco repeticiones. Se observaron al microscopio estereoscópico a las 24, 48 y 72 h de exposición con los extractos, para determinar el porcentaje de mortalidad. De los extractos evaluados, los que presentaron mayor actividad nematocida fueron el FIM8 (ruezno acuoso) con 89.16%, FIM6 (Ruezno etanolítico) con 69.22%, y el FIM7 (Cáscara acuosa) con 60.77%, todos éstos en la concentración al 2% y en la observación a las 72 h de exposición con el extracto.

Abstract

The work was developed in 2012 at the Nematology Laboratory of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, with the aim of evaluating plant extracts derived hickory *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch, for the root-knot nematode *Meloidogyne* sp. Göldi (1889) management. Nematodes were obtained from potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) Var. "Alpha", presenting symptoms. Identification of nematodes was performed and it was determined that corresponded to *Meloidogyne incognita*. Assessment study for the biological effectiveness of the extracts extracts were placed at different concentrations (1.0, 1.5 and 2%) using a population of 30 ± 5 *Meloidogyne incognita* specimens of assets, an experiment was completely randomized, with eleven treatments including control and five replications. Stereoscopic microscope at 24, 48 and 72 h of exposure to the extracts were observed to determine the percentage of mortality. Of the extracts tested, those with higher nematicidal activity were FIM8 (aqueous husk) with 89.16%, FIM6 (etanolítico husk) with 69.22%, and FIM7 (aqueous shell) with 60.77%, all these in the concentration of 2% and observation at 72 h of exposure to the extract.

Keywords: *Carya illinoensis*, *Meloidogyne incognita*, Root-Knot Nematode.

Palabras clave: *Carya illinoensis*, *Meloidogyne incognita*, nematodo agallador.

Los nematodos fitoparásitos son organismos importantes en las plantas como agentes causantes de enfermedades. Estos en la mayoría de los casos se alimentan de las raíces de las plantas, aunque es posible encontrar algunos géneros que atacan las partes aéreas (Arauz, 1998; Agrios, 2004).

Dentro del Orden Rhabditida (Perry, 2006), los fitonematodos del género *Meloidogyne*, son responsables de grandes pérdidas en cultivos de importancia económica (Abad *et al.*, 2003), causando hipertrofia e hiperplasia en las células de alimentación, así como en los alrededores de ellas, conduciendo a la formación de agallas en raíz, que es el síntoma visible de la infección primaria (Abad *et al.*, 2009).

Las plantas infectadas son débiles, presentando enanismo, clorosis, marchitez y bajo rendimiento (Triviño, 2004).

En el cultivo de la papa, especies de este género causan importantes daños alrededor del mundo, afectando al sistema radical o a los tubérculos, causando agallas que les confiere una apariencia verrugosa, que reduce la calidad y su valor comercial (Montero *et al.*, 2007).

Se han utilizado métodos de control de nematodos como son: físicos, químicos y culturales, generalmente en combinación con una estrategia de manejo integrado (Perry, 1996).

En la búsqueda de estrategias que mantengan el equilibrio ecológico, sin arriesgar la salud humana (Gallegos *et al.*, 2003), se han estudiado muchas plantas de las cuales se usan semillas, hojas, raíces en forma de extracto o simplemente como abono verde, las propiedades nematocidas de algunas plantas, se relacionan directamente con el contenido de ciertos químicos que resultan tóxicos a los nematodos como fenoles, taninos, azadiractinas, alcaloides y glicósidos, entre otros; siendo variable sus mecanismos de acción (Reina *et al.*, 2002; Aballay, 2005).

El nogal *Carya illinoensis* es considerado un cultivo muy valioso, se han demostrado la actividad antimicrobiana de la nuez, y otras partes del árbol, especialmente de hojas, frutos (Pereira *et al.*, 2008).

Plant parasitic nematodes are important organisms in plants as disease-causing agents. These in most cases feed on plant roots, although might find some genera that attack the aerial parts (Arauz, 1998; Agrios, 2004).

Within the Order Rhabditida (Perry, 2006), the Genus *Meloidogyne* phytonematodes are responsible for major losses in economically important crops (Abad *et al.*, 2003), causing hypertrophy and hyperplasia in feeder cells and around of them, leading to the formation of galls on roots, which is the visible symptom of primary infection (Abad *et al.*, 2009).

Infected plants are weak, showing stunting, chlorosis, wilting and low yield (Trivedi, 2004).

In the potato crop, species of this genus cause significant damage around the world, affecting tubers or root system, causing galls giving them a warty appearance, which reduces the quality and commercial value (Montero *et al.*, 2007).

They have been used for nematode control methods such as physical, chemical and cultural, usually in combination with an integrated management strategy (Perry, 1996).

In the search for strategies that maintain the ecological balance, without risking human health (Gallegos *et al.*, 2003) have studied many plants from which seeds, leaves, roots in extract form or simply used as green manure, nematocidal properties of some plants, nematodes are directly related to the content of certain chemicals that are toxic as phenols, tannins, azadiracthins, glycosides and alkaloids, among others; being variable mechanisms of action (Reina *et al.*, 2002; Aballay, 2005).

The hickory *Carya illinoensis* is considered a very valuable crop, have demonstrated the antimicrobial activity of walnut, and other parts of the tree, especially leaves, fruits (Pereira *et al.*, 2008).

For this reason and in order to contribute to the search for natural products for control of root-knot nematode *M. incognita*, plant extracts were evaluated for their backgrounds as potential drivers of phytopathogenic nematodes.

For this study, potato tubers from Navidad, Municipality of Galeana, Nuevo Leon, who had galls were used. Longitudinal sections of the cuticle of 3-5 mm deep, which were observed under a stereomicroscope at 45x locating small dots of brown, white-cream adult females and their egg masses, were performed.

Por tal razón y con el propósito de contribuir en la búsqueda de productos naturales, para el control del nematodo agallador *M. incognita*, se evaluaron extractos vegetales por sus antecedentes como potenciales controladores de nematodos fitopatógenos.

Para el presente estudio, se utilizaron tubérculos de papa procedente de Navidad, Municipio de Galeana, Nuevo León, que presentaban agallas. Se realizaron cortes longitudinales de la cutícula de 3 a 5 mm de profundidad, que fueron observados bajo un microscopio estereoscópico a 45x localizando pequeños puntos de color café, las hembras adultas blancas-crema así como sus masas de huevos.

Las masas de huevos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% por 1 min., se enjuagaron con agua destilada estéril varias veces y se colocaron en una caja Petri estéril, en una incubadora a 25 °C por un periodo de 48 a 72 h, hasta observar la eclosión de juveniles del segundo estadio.

Las hembras adultas se utilizaron para realizar los cortes perineales, siguiendo la técnica de Taylor y Netscher (1974), y siguiendo las claves taxonómicas de Eisenback *et al.* (1981) se identificó la especie.

Posteriormente se realizó el análisis morfométrico de 10 especímenes de juveniles del segundo estadio, obteniendo el promedio de cada carácter medido. Se realizaron montajes de juveniles y se observaron al microscopio compuesto marca Labomed con cámara Digi 2 1500 de 10 a 100 x, midiendo mediante un software Digi Pro 4.0 diferentes índices de DeMan (1880) para la identificación de juveniles.

Los extractos de distintas partes del nogal, fueron otorgados por la empresa Fitokimica Industrial de México, S. A. de C. V. Las claves que se utilizaron para nombrarlos y sus componentes de cada extracto son los siguientes:

FIM 1: cáscara acuoso 1, alto contenido de taninos hidrolizables, condensados y actividad antioxidante respectivamente. FIM 2: ruzno acuoso 1, presencia de taninos hidrolizables y muy baja presencia de taninos condensados. FIM 3: tallo acuoso, presencia de taninos hidrolizables y muy baja presencia de taninos condensados. FIM 4: cáscara acuoso 2, presencia de taninos hidrolizables y muy baja presencia de taninos condensados. FIM 5: ruzno etanolítico 1, alto contenido de taninos hidrolizables. FIM 6: ruzno etanolítico 2, alto contenido de taninos condensados y actividad antioxidante respectivamente. FIM 7: cáscara acuoso 3, alto contenido de

Egg masses were disinfected with sodium hypochlorite 1% for 1 min. Rinsed with sterile distilled water several times and placed in a sterile Petri dish, in an incubator at 25 °C for a period of 48 to 72 h, to observe the hatching of second stage juveniles.

Adult females were used for perineal cuts, following the technique of Taylor and Netscher (1974), and following the taxonomic keys Eisenback *et al.* (1981) identified the species.

Subsequently morphometric analysis of 10 specimens of the second stage juveniles was performed, obtaining the average of each measured character. Juvenile mounts were made and microscopically examined compound Labomed camera mark Digi 2 1500 of 10 to 100 x, measured using a Digi Pro 4.0 DeMan (1880) different indices for identification of juvenile software.

Extracts from different parts of walnut, were granted by the company Fitokimica Industrial de Mexico, SA de C. V keys that were used to name and components of each extract are as follows.:

FIM 1: aqueous skin 1, high content of hydrolysable tannins, condensed and antioxidant activity respectively. FIM 2: acuoso 1 husk, presence of hydrolyzable tannins and low presence of condensed tannins. FIM 3: aqueous stem, presence of hydrolyzable tannins and low presence of condensed tannins. FIM 4: aqueous shell 2, the presence of hydrolyzable tannins and low presence of condensed tannins. FIM 5: etanolítico 1 husk, high in hydrolyzable tannins. FIM 6: etanolítico 2 husk, high content of condensed tannins and antioxidant activity respectively. FIM 7: aqueous shell 3, high content of condensed tannins and hydrolysable respectively. FIM 8: aqueous husk 2 high in total sugars and the presence of hydrolyzable tannins. FIM 9: aqueous shell 4, high hydrolyzable tannins and antioxidant activity respectively. FIM 10: aqueous husk 3 presence of hydrolysable tannins.

The extracts were diluted with sterile distilled water at different concentrations (1, 1.5 and 2%).

Plastic cell culture plates were used with 24 cavities 1.5 cm in diameter, where the 11 treatments with five replicates to evaluate the different concentrations and a population of 30 ± 5 live specimens of J2 *Meloidogyne incognita* were placed. Also the same number of nematodes with sterile distilled water representing the witness was placed.

taninos hidrolizables y condensados respectivamente. FIM8: ruezno acuoso 2, alto contenido de azúcares totales y presencia de taninos hidrolizables. FIM9: cáscara acuoso 4, alto contenido de taninos hidrolizables y actividad antioxidante respectivamente. FIM 10: ruezno acuoso 3, presencia de taninos hidrolizables.

Los extractos fueron diluidos con agua destilada estéril, a diferentes concentraciones (1, 1.5 y 2%).

Se utilizaron placas plásticas para cultivo celular con 24 cavidades de 1.5 cm de diámetro, donde se colocaron los 11 tratamientos a evaluar con cinco repeticiones a las diferentes concentraciones y una población de 30 ± 5 especímenes vivos de J2 de *Meloidogyne incognita*. Asimismo, se colocó igual número de nematodos con agua destilada estéril que representa al testigo.

Cada cavidad de la placa, se tomó como una unidad experimental, las 55 unidades experimentales se incubaron a temperatura de 25 °C, posteriormente se observaron al microscopio estereoscópico a las 24, 48 y 72 h de exposición con el extracto y se realizó el conteo de J2, vivos y muertos en cada tratamiento y repetición. Se calculó el porcentaje de mortalidad, utilizando la fórmula de Ashoub y Amara, 2010: (número de nematodos muertos / número de nematodos por tratamiento) x 100.

Se repitió la observación a las 96 h de exposición, estimulando los nematodos con una punta adelgazada de una varilla de bambú, con el objetivo de confirmar el efecto nematocida y no nemostático del tratamiento.

Para el análisis de datos se utilizó un diseño experimental completamente al azar y a los datos obtenidos, se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de diferenciación de medias de Tukey, en base al programa estadístico SAS Versión. 8.0.

De acuerdo a los modelos perineales de las hembras adultas y las claves taxonómicas de identificación de Eisenback (1981), se determinó que el nematodo corresponde a *Meloidogyne incognita*, ya que presentaron un arco dorsal alto y cuadrado formado por estrías, algunas onduladas, sin líneas laterales (Figuras 1, 2 y 3).

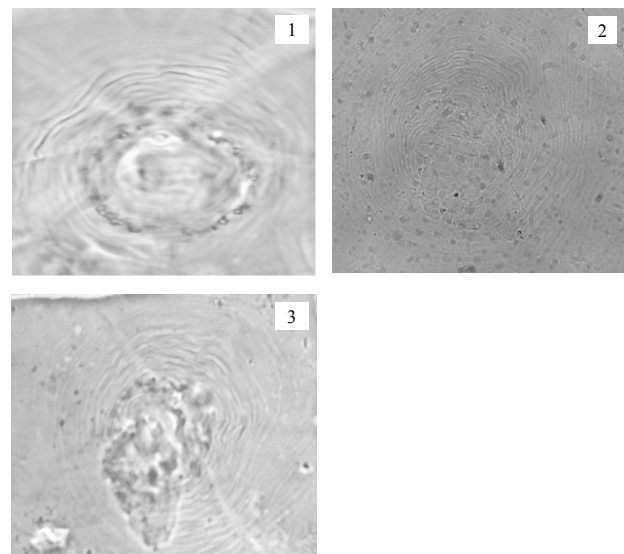
Al observar los valores morfométricos de los juveniles y compararlos con los establecidos por Jepson, 1987, se comprobó que pertenecen a juveniles de *Meloidogyne incognita* (Cuadro 1).

Each cavity of the plate was taken as an experimental unit, the 55 experimental units were incubated at 25 °C, then the stereomicroscope at 24, 48 and 72 h of exposure to the extract were observed and counts were made J2, living and dead in each treatment and replicate. Percent mortality was calculated using the formula of Ashoub and Amara, 2010: (number of deaths/number of nematodes Nematodes per treatment) x 100.

Observation at 96 h of exposure was repeated, stimulating the nematodes with a tapered tip of a bamboo rod, in order to confirm the effect nematocidal and non-nemostatic treatment.

For data analysis we used a completely randomized experimental design and data, they conducted an analysis of variance (ANOVA) test and Tukey differentiation, based on the SAS program. 8.0.

According to the perineal models of adult females and taxonomic identification keys Eisenback (1981), it was determined that the nematode corresponds to *Meloidogyne incognita*, because it showed a dorsal arch high and square formed by grooves, some wavy without sidelines (Figures 1, 2 and 3).



Figuras 1, 2 y 3. Modelos perineales de hembras de *Meloidogyne incognita* aisladas de tubérculos de papa mostrando un arco dorsal alto y cuadrado sin líneas laterales.

Figures 1, 2 and 3. Perineal female models *Meloidogyne incognita* isolated potato tuber dorsal arch showing high and square without sidelines.

Cuadro 1. Media aritmética de 10 especímenes.
Table 1. Media arithmetic table 10 specimens.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Media aritmética
L	348.5	351.7	416.3	405.8	427.7	404	410.6	405.3	384.5	395.2	394.96
A	14.2	15.8	14.3	13.8	14.9	15.6	15.1	13.9	14.4	15.8	14.78
Índice A	24.5	22.3	29.1	29.4	28.7	25.89	27.2	29.2	26.7	25	26.799
Índice C	8	8.2	7.8	7.7	8.6	8	7.9	8.1	7.3	7.7	7.93
LE	10.7	10.3	11.2	11.1	10.9	11.5	10.8	11.2	11.4	10.1	10.92
DGO	2.1	2.3	3.2	2.9	3.2	2.8	3	3.2	2.6	2.2	2.75
LC	43.5	42.9	53.5	52.8	49.6	50.5	51.5	49.9	52.9	51	49.81
LRH	7.1	9.2	7.8	8.5	13.8	10.8	12.5	9.2	8.9	10.5	9.9

L= longitud del cuerpo; A= ancho del cuerpo; índice A (longitud del cuerpo dividido entre lo más ancho del cuerpo) índice C (longitud del cuerpo dividido entre longitud de la cola); LE= largo del estilete; DGO= distancia del estilete a la desembocadura de la glándula dorsal; LC= longitud de la cola, y LRH= longitud de la región hialina.

Los diferentes extractos evaluados, mostraron efectos en la mortalidad del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, siendo la concentración de 2% y a las 72 h de exposición, la que presentó mayor porcentaje de mortalidad. El extracto FIM8 (Ruezno acuoso), obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad con 89.16%, seguido por el FIM6 (Ruezno etanolítico) con 69.22%, y el FIM7 (cáscara acuosa) con 60.77% esto a las 72 h de exposición con los extractos.

Alas 48 h de exposición con los extractos, también se observaron efectos notables en la mortalidad a ésta misma concentración con el extracto FIM7 con 52.57% y FIM6 con 47.39%.

De igual forma, en la concentración de 1.5%, se obtuvieron resultados satisfactorios a las 72 h de exposición, como el extracto FIM8 con 78.65%, seguido por el FIM7 con 58.05% de mortalidad.

By observing the morphometric values of juvenile and compare with those established by Jepson, 1987, was found belonging to juveniles of *Meloidogyne incognita*. (Table 1).

The different extracts tested showed effects on mortality of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*, the concentration of 2% and at 72 h of exposure, with the highest percentage of mortality. The FIM8 (aqueous husk) extract had the highest mortality rate with 89.16%, followed by FIM6 (etanolítico husk) with 69.22%, and FIM7 (aqueous shell) with 60.77% that at 72 h of exposure to extracts.

After 48 h of exposure to extracts, this same concentration also significant effects were observed on mortality with FIM7 extract with 52.57% and 47.39% FIM6.

Cuadro 2. Resultado de los bioensayos de efectividad biológica de extractos vegetales, contra J2 de *Meloidogyne incognita*.
Table 2. Bioassays results of biological effectiveness of plant extracts against *Meloidogyne incognita* J2.

	24 h			48 h			72 h		
	1%	1.5%	2%	1%	1.5%	2%	1%	1.5%	2%
FIM1	3.83* b	4.82* ab	9.08 BCD ab	3.83*b	4.82 CD ab	9.08 DE ab	3.83 AB b	5.82 D ab	9.88 E a
FIM2	2.83*c	5.08*c	24.79 A b	2.83*c	5.08 CD c	30 C b	7.31 AB c	12.2 D c	42.83 CD a
FIM3	3.34*b	5.93*b	7.45 CD b	5.3*b	7.34 CD b	8.88 DE b	7.3 AB b	8.5 D b	16.22 E a
FIM4	0.95*c	5.44*abc	5.89 Dabc	1.86*bc	7.44 CD ab	8.09 E a	4.88 ABabc	8.31 D a	10.34 E a
FIM5	2.98*d	7.53*cd	14.43 ABCDc	2.98*d	12.66 BCDc	25.93 CD b	2.98 B d	13.77 D c	58.96 BC a
FIM6	0.69 *d	7.88*cd	15.35 ABCDc	1.26*d	17.91 ABCc	47.39 ABb	3.94 ABd	41.13 Cb	69.22 AB a
FIM7	0*d	4.38*cd	17.21 ABCcd	4.38*cd	28.9 Abc	52.57 A ab	6.73 ABcd	58.05 Ba	60.77 BC a
FIM8	3.88*e	8.36*cde	19.43 ABbcd	7.44*de	22.98 ABbc	30.63 BCb	8.55 Acde	78.52 Aa	89.16 Aa
FIM9	3.34*b	6.23*b	9.64 BCDB	3.34*b	6.66 CDb	11.36 DEb	4.02 ABb	9.15 Db	24.95 DEa
FIM10	0*c	2.25*bc	8.01 CDbc	2.59*bc	2.25 Dbc	9.84 DEb	2.59 Bbc	9.58 Db	28.49 DEa

*= no presentaron diferencia significativa; distintas letras mayúsculas en las columnas indican diferencia significativa ($p=0.01$). Distintas letras minúsculas en las filas indican diferencia significativa ($p=0.01$).

Esto concuerda con lo reportado por McKenry (2003), quien igualmente realizó pruebas de efectividad biológica de extractos de nogal, para el control del nematodo *Meloidogyne incognita* donde obtuvo mortalidad favorable, en las concentraciones de 10, 25 y 50 g L⁻¹ observadas a las 24, 48 y 144 h de exposición de los juveniles del segundo estadio con el extracto. De igual forma, Dama (2002), reportó una mortalidad de 100%, al evaluar el efecto de naftoquinonas, compuesto orgánico del nogal (Barajas *et al.*, 2012) sobre el nematodo agallador *Meloidogyne javanica*. *in vitro*. Khurma y Mangotra (2004), determinaron que la concentración de los extractos, influye significativamente en la mortalidad de los J2 de *Meloidogyne* sp.

Conclusiones

El extracto FIM8 de ruezno acuoso en las concentraciones de 1.5% y 2% fue el que presentó mayor actividad nematocida observada a las 72 h de exposición.

Los extractos de distintas partes del nogal, presentaron propiedades nematocidas, y éstas variaron de acuerdo a la dosis y el tiempo de exposición.

Los extractos de nogal son una fuente potencial de metabolitos con efectos en el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*.

Literatura citada

- Abad, P.; Favery, B.; Rosso, M. y Castagnone, S. 2003. Root-Knot nematode parasitism and host response: molecular basis of sophisticated interaction. *Mol. Plant Pathol.* 4(4):217-224.
- Abad, P.; Castagnone-Sereno, P.; Rosso, M. N.; Engler, J. A. and Favery, B. 2009. Invasion, feeding and development. *In: Moens, M. R. N.; Perry, J.; Starr, L. (Eds.). Root-knot nematodes.* CAB International. 163-164 pp.
- Aballay, E. 2005. Uso de plantas antagónicas para el control de nematodos fitoparásitos en vides. Santiago de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/19.html.
- Agrios, G. N. 2004. Fitopatología, Ed. Limusa, 2ª (Ed.). 838 p.
- Arauz, L. 1998. Fitopatología: un enfoque agroecológico. San José, Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 476 p.
- Ashoub, A. H. and Amara, M. T. 2010. biocontrol activity of some bacterial genera against root-knot nematode. *Meloidogyne incognita*. *J. Ame. Sci.* 6:321-328.
- Similarly, at the concentration of 1.5%, satisfactory results after 72 hours of exposure, as the extract FIM8 with 78.65%, followed by FIM7 with 58.05% mortality was obtained.
- This is consistent with that reported by McKenry (2003), who also tested for biological effectiveness of extracts of walnut for controlling nematode *Meloidogyne incognita* where mortality was favorable, in concentrations of 10, 25 and 50 g L⁻¹ observed at 24, 48 and 144 h of exposure to second-stage juveniles with the extract. Similarly, Dama (2002) reported a mortality of 100%, to evaluate the effect of naphthoquinones, organic walnut (Barajas *et al.*, 2012) on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* compound. *in vitro*. Khurma and Mangotra (2004) determined that the concentration of the extracts, significantly influences the mortality of J2 of *Meloidogyne* sp.

Conclusions

The aqueous husk extract FIM8 in concentrations of 1.5% and 2% was presented the highest nematocidal activity observed after 72 h of exposure.

Extracts from different parts of walnut, presented nematocidal properties, and these ranged from according to the dose and exposure time.

Walnut extracts are a potential metabolites with effects in the control of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* source.

End of the English version



- Barajas, B. L.; Cantú, G. R. L.; López, L. L.; Nery, F. S. y Palomo, L. L. 2012. Naftoquinonas: de simples pigmentos a moléculas terapéuticas. *Biológicas.* 14(2):48-56.
- Confederación Nacional de Productores de Papa (CONPAPA) 2010. Plan rector nacional papa. Sistema Producto Papa. http://www.inforural.com.mx/producto.php?&id_rubrique=174&id_article=9291.
- Dama, L. B. 2002. Effect of naturally occurring naphthoquinones on root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Indian Phytopathol.* 55(1):67-69.
- De Man, J. G. 1880. Die einheimischen, frei in der reinen Erde und im sussen Wasser Lebenden Nematoden. *Tijdschr. Ned. Dierk.* Ver. 5:28-29.

- Eisenback, D.; Hirschmann, J.; Sasser H. and Triantaphyllou, A. 1981. Guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.). Plant pathology and genetics North Carolina State University and the United States Agency for International Development. Raleigh, North Carolina. 321-348.
- Jepson, S. B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). CAB International, Wallingford, UK. 265 p.
- Khurma, U. R. and Mangotra, A. 2004. Screening of some Leguminosae seeds for nematicidal activity. South Pacific J. Natural Sci. 22:50-52.
- McKenry, M. V. and Anwar, S. A. 2003. Nematicidal activity of walnut extracts against root-knot nematodes. J. Nematol. 35:358.
- Montero, Z.; García, L. C.; Salazar, R.; Valverde L. y Gómez-Alpizar, L. 2007. Detección de *Meloidogyne incognita* en tubérculos de papa en Costa Rica. Agron. Costarric. 31(1):77-84.
- Pereira, J. A.; Oliveira, I.; Sousa, A.; Ferreira, I. C. F. R.; Bento, A. and Estevinho, L. 2008. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. Food Chem. Toxicol. 46:2103-2111.
- Perry, N. R. 1996. Chemoreception in plant parasitic nematodes. Annu. Rev. Phytopathol. 34:181-199.
- Perry, N. R. and Moens, M. 2006. Plant nematology. 1ª edición. CABI, UK.
- Reina, Y.; Crozzoli, R. y Greco, N. 2002. Efecto nematicida del extracto acuoso de hojas de algodón de seda *Calotropis procera*, sobre diferentes especies de nematodos fitoparasíticos. Fitopatología Venezolana. 15:44-49.
- Rosso, L. A.; de Candida, P.; Leonetti, N. y Ciancio, A. 2004. Alteraciones histopatológicas causadas por *Meloidogyne incognita* en almendro (*Prunus amygdalus*). Nematropica. 34:257-261.
- Taylor, D. P. and Netscher, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematológica. 20:268-269.
- Triviño, G. C. 2004. Tecnología biológica para el manejo del nematodo agallador de raíces *Meloidogyne* spp. en tomate. Boletín Técnico N° 109. Estación Experimental Boliche, Guayaquil, Ecuador. 15 p.