

Nota técnica

DENSIDAD CRÍTICA DE *Meloidogyne exigua* EN PLANTAS DE ALMÁCIGO DE CAFÉ VARIEDAD CATURRA

Mainor Rojas^{1*}, Luis Salazar^{**}

Palabras clave: *Coffea arabica*, almácigo, densidad crítica, *Meloidogyne exigua*, tolerancia, producción mínima.
Keywords: *Coffea arabica*, nursery, critical density, *Meloidogyne exigua*, tolerancy, minimum performance.

Recibido: 07/01/13

Aceptado: 15/03/13

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de densidad creciente de *Meloidogyne exigua* sobre el desarrollo de plantas de almácigo. Se trasplantaron plántulas de café variedad caturra a bolsas de polietileno con 1335 cm³ de sustrato desinfectado, para establecer un ensayo con diseño de bloques completos al azar, con 8 repeticiones. Los tratamientos aplicados consistieron de poblaciones iniciales (Pi) de 0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32 y 64 huevos+J₂/cm³ de sustrato, aplicadas un mes después del trasplante. El modelo $y=m+(1-m) Z^{P-T}$ aplicado 234 días después del trasplante para la altura, diámetro, número de nudos y peso fresco aéreo, indicó que el límite de tolerancia (T) fue de 0,66; 0,06; 0,13 y 0,88 huevos+J₂/cm³, respectivamente; la producción mínima relativa (m) fue de 0,79; 0,79; 0,33 y 0,54 respectivamente, a Pi iguales o mayores a 64 huevos+J₂/cm³. El índice de agallas alcanzó el máximo a partir de una Pi de 2; el pico máximo de nematodos en el suelo y las raíces se alcanzó con Pi entre 2 y 4; mientras la tasa máxima de reproducción fue de 114 con Pi de 0,125. Se concluyó que la densidad crítica fue cercana a cero huevos/cm³ de sustrato como población

ABSTRACT

Critical density of *Meloidogyne exigua* in nursery coffee plants, Caturra variety. The purpose of this study was to evaluate the effect of increasing density of *Meloidogyne exigua* on the development of nursery plants. Coffee plantlets of the Caturra variety were transplanted into polyethylene bags with 1335 cm³ of disinfected substrate, to establish a trial with a randomized complete block design, with 8 replicates. The treatments applied included initial populations (Pi) of 0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32 and 64 eggs + J₂/cm³ substrate applied one month after transplant. The model $y=m+(1-m) Z^{P-T}$ applied 234 days after transplant to the height, diameter, number of nodes and aerial fresh weight, indicated that the tolerance limit (T) was 0,66; 0,06; 0,13 and 0,88 eggs + J₂/cm³, respectively; the relative minimum production (m) was 0,79; 0,79; 0,33 and 0,54 respectively, at Pi equal to or higher than 64 eggs + J₂/cm³. The gall index reached its maximum from a Pi of 2; the maximum peak of nematodes on the soil and roots was reached with a Pi between 2 and 4 while, the maximum rate of reproduction rate was 114 with a Pi of 0,125. It was concluded that

1 Autor para correspondencia. Correo electrónico: mrojas@icafe.cr

* Instituto del Café de Costa Rica. San José, Costa Rica.

** Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

inicial, y que el almácigo se debe desarrollar libre de nematodos, ya que aún con P_i bajas se puede alcanzar la máxima población en corto tiempo.

the critical density was close to zero eggs/cm³ of substrate as initial population, and the nursery plants should develop free of nematodes since, even with a low P_i ; it could reach the maximum population in a short time.

INTRODUCCIÓN

En las plantaciones de café de Costa Rica se ha reportado la presencia de varias especies de *Meloidogyne*, entre ellas *M. exigua* (Salas y Echandi 1961, ICAFE 1998), *M. arabicida* (López y Salazar 1989, ICAFE 1998), *M. javanica* (Hernández 2007) *M. incognita* y *M. enterolobii* (*mayaguensis*) (Villain et ál. 2006). Rojas (2008) constató que *M. exigua* se identificó en forma molecular y morfológica en más del 80% de los cafetales de Costa Rica, que constituye la especie de nematodo con mayor distribución. Respecto a las pérdidas causadas por *Meloidogyne exigua*, Sasser (1979) citado por Villain et ál. (1999) las estimó entre 10% y 24% a nivel de semillero y campo en América Central.

La presencia de *M. exigua* que afectaría en diferente grado, el desarrollo de las plantas de almácigo de café que se producen en todas las regiones cafetaleras de Costa Rica, además del efecto posterior sobre la producción al llevar al campo las plantas infestadas. El deterioro causado por este patógeno puede estar asociado al clima, tipo de suelo, variedad, manejo, entre otros, además de la población inicial del nematodo, aspecto al que se dirige esta investigación.

Al respecto, Ferreira y Crozzoli (1995) reportaron efecto patogénico evidente de *M. exigua* sobre plantas de almácigo de caturra amarillo, el cual se manifestó con reducción de tamaño a partir de poblaciones iniciales de 16 huevos/cm³ de suelo. Agregan que el peso fresco aéreo y el peso fresco total se vio reducido a partir de 0,25 huevos/cm³ de suelo. También encontraron

que el peso radical se redujo en más de 50% con poblaciones iniciales de 8 huevos/cm³ de suelo.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de densidades crecientes de *Meloidogyne exigua* sobre el desarrollo de plantas de almácigo de café Caturra desarrolladas en bolsa al aire libre.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se estableció al aire libre en el Centro de Investigaciones en Café (CICAFE), Barva de Heredia, Costa Rica. El sitio se localiza a 1180 msnm y presenta una temperatura media anual de 21,5°C y 2650 mm de precipitación total al año. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 8 repeticiones. Los tratamientos aplicados consistieron de poblaciones iniciales de 0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32 y 64 huevos+J₂ de *M. exigua*/cm³ de sustrato. La unidad experimental estuvo constituida por una bolsa de polietileno con 2 plantas.

El semillero se realizó en arena y se desinfectó con PCNB a 40 g m⁻². El sustrato de las bolsas estuvo compuesto por 50% de suelo Andisol, 25% de abono orgánico de broza de café descompuesta y 25% de granza de arroz. La desinfección se realizó con 250 g de Basamid 97 MG (Dazomet) m⁻³ de sustrato y cerrado con plástico durante 2 semanas. Después de ventilar el sustrato durante 2 semanas las bolsas de polietileno de 15 x 20 cm se llenaron con 1335 cm³ de sustrato. Las bolsas se colocaron a doble fila, con separación de 20 cm entre cada doble fila y sobre una zaranda a 10 cm de altura para evitar el contacto con el suelo. Las plántulas de caturra se

trasplantaron en estado de copita (hojas cotiledonales) el 29 de mayo del 2009.

La población de *M. exigua* utilizada en esta investigación se obtuvo de un área cultivada con café variedad Villa Sarchí ubicada en CICAFFE e infestada naturalmente por el nematodo. La identificación de la especie se realizó mediante la técnica de los diseños perineales (Franklin 1962) y estudios moleculares mediante la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y análisis de PCR-RFLP del ADN mitocondrial. Para la preparación del inóculo de *M. exigua* se tomaron raíces de café con gran cantidad de agallas o nódulos radicales, se lavaron con abundante agua y se cortaron en trozos de aproximadamente 3 cm de longitud, los que se maceraron con una licuadora por 30 segundos, en cantidades de 20 g de raíces.

Posteriormente el material macerado se pasó a través de un juego de cribas superpuestas de 100 y 500 mesh, con la finalidad de retener en la criba de 500 mesh, huevos y estadios juveniles de *M. exigua*. Después de realizadas varias extracciones, al seguir el procedimiento anterior, se acumuló el inóculo en un frasco graduado, para posteriormente homogeneizarlo y por medio del conteo de 4 alícuotas de 1 ml, obtener un promedio del número de huevos y estadios juveniles por ml de la solución. De esta forma se obtuvo el inóculo de *M. exigua* que fue aplicado, con una pipeta y de acuerdo con las diferentes densidades a evaluar, sobre la superficie y alrededor de las plántulas de café. Las aplicaciones de fertilizante y control de enfermedades se describen en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Aplicaciones de fertilizante y fungicidas durante el desarrollo del almácigo.

Fecha	Producto comercial	Dosis
04/06/2009	Osmocote 18-6-12 (N-P-K)	6 g.planta ⁻¹
17/07/2009	Derosal 50 SC (Carbendazim)	1 ml.l ⁻¹
28/07/2009	MAP (Fosfato mono amónico)	2 g.planta ⁻¹
03/08/2009	Amistar 50 WG (Azoxistrobina)	1 ml.l ⁻¹
11/09/2009	Derosal 50 SC+Bayfolan Forte (Multimineral)	1 ml.l ⁻¹ +5 ml.l ⁻¹
23/10/2009	Amistar 50 WG+Bayfolan Forte	1 ml.l ⁻¹ +5 ml.l ⁻¹

La evaluación se realizó 234 días después del trasplante (18 de enero de 2010), y se consideró la altura, diámetro en la base del tallo, número de nudos en el eje ortotrópico, peso fresco aéreo, peso fresco de raíz, índice de agallas, densidad poblacional de *M. exigua* en las raíces y el sustrato. Para determinar la población final de *M. exigua* en las raíces se procesó todo el sistema radical de cada planta mediante la misma metodología que para la obtención del inóculo. Para determinar la población final de *M. exigua* en el sustrato se procedió a homogeneizar el sustrato de cada bolsa y obtener así una sub-muestra de 100 ml de sustrato en cada caso y procesarlas por el método de tamizado y centrifugación en solución azucarada, propuesto por Alvarado y López

(1981), con modificaciones el arreglo de las cribas de 100 y 325 mesh por uno de 100 y 500 mesh.

Los datos se analizaron mediante el modelo $y=m+(1-m)Z^{P-T}$ (Seinhorst 1965) y curvas de respuesta. En el modelo, y es la relación entre el rendimiento y Pi ; Z es una constante menor a 1 con $Z^{-T}=1,05$; T es la población máxima que soporta una planta sin reducción de producción; m es la producción mínima relativa y corresponde al valor de y en presencia de poblaciones muy altas del nematodo; P es la población inicial del nematodo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El modelo $y=m+(1-m)Z^{P-T}$ aplicado 234 días después del trasplante para las variables altura, diámetro, número de nudos y peso

fresco aéreo indicó que el límite de tolerancia (T) fue de 0,66; 0,06; 0,13 y 0,88 huevos+J₂/cm³ de sustrato respectivamente, que indicaba que al cabo de 7 meses después de la inoculación poblaciones iniciales de un huevo/cm³ empezaron a afectar el desarrollo de las plantas de almácigo (Figuras 1, 2, 3 y 4). Con estos resultados se puede estimar que la densidad crítica de *M. exigua* para almácigo de Caturra bajo las condiciones en que se desarrolló el ensayo es cercana a cero huevos/cm³ de sustrato de población inicial.

Según el modelo de Seinhorst, la producción mínima relativa (m) para las variables altura, diámetro, número de nudos y peso fresco aéreo

fue de 0,79; 0,79; 0,33 y 0,54 respectivamente, a Pi iguales o mayores a 64 huevos+J₂/cm³ de sustrato (Figuras 1, 2, 3 y 4). De esta forma se demuestra que poblaciones iniciales de *M. exigua* superiores a 32 huevos/cm³ de sustrato causan una reducción cercana al 20% en la altura y el diámetro del tallo, 65% en el número de nudos y 50% en el peso aéreo. El producto de desarrollar almácigos de café en suelos altamente infestados por este patógeno será probablemente plantas raquílicas y con bajo potencial productivo. Para asegurar la calidad de las plantas producidas se deberá iniciar con el análisis nematológico del suelo donde se realizará el semillero y el almacigal.

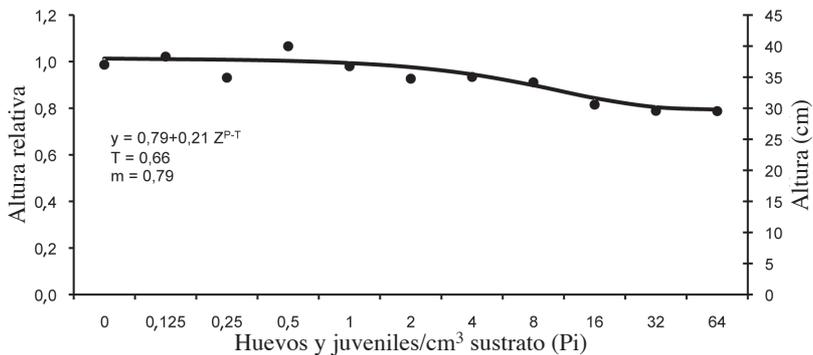


Fig. 1. Efecto de la población inicial (Pi) de *M. exigua* sobre la altura de plantas de almácigo de café, 234 días después del trasplante.

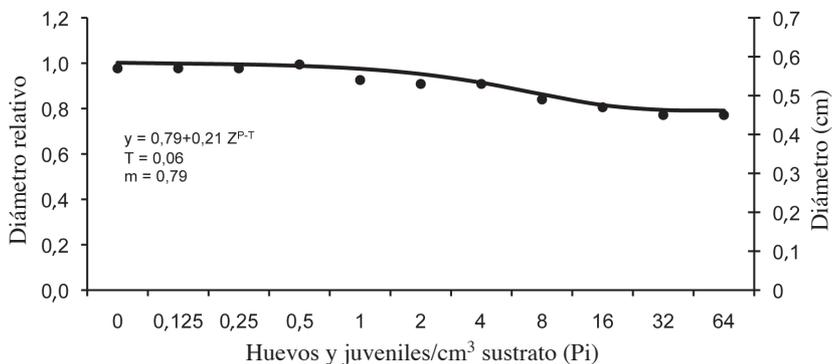


Fig. 2. Efecto de la población inicial (Pi) de *M. exigua* sobre el diámetro de plantas de almácigo de café, 234 días después del trasplante.

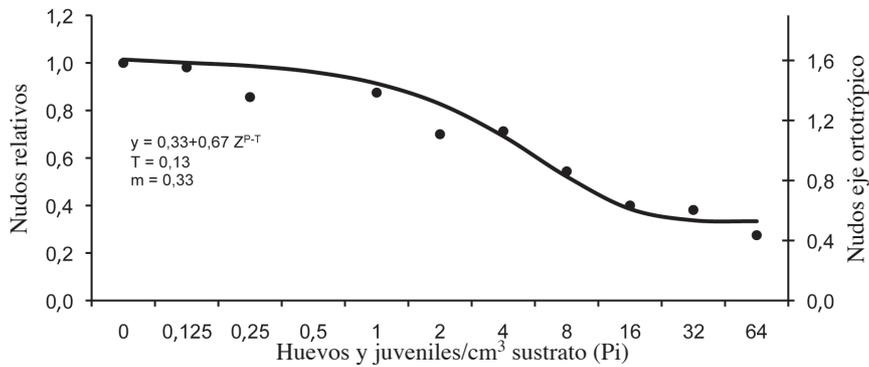


Fig. 3. Efecto de la población inicial (P_i) de *M. exigua* sobre el número de nudos en el eje ortotrópico de plantas de almácigo de café, 234 días después del trasplante.

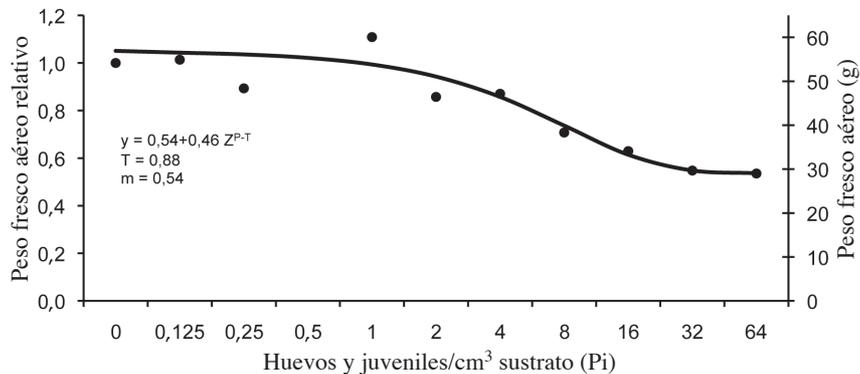


Fig. 4. Efecto de la población inicial (P_i) de *M. exigua* sobre el peso fresco aéreo de plantas de almácigo de café, 234 días después del trasplante.

El efecto de *M. exigua* sobre la altura y el diámetro del tallo fue muy evidente a partir de P_i cercanas a 16 huevos/cm³, lo que concuerda con Di Vito et ál. (2000), quienes lo determinaron 4 meses después de la inoculación en un ensayo similar con la variedad Sao Tomè. Salas y Echandi desde 1961 reportaron que *M. exigua* redujo el crecimiento de plantas de almácigo de 4 y 10 meses en 34 y 45% respectivamente, en comparación con plantas desarrolladas en suelo sin infestación.

Las variables de peso fresco aéreo y número de nudos en el eje ortotrópico fueron mucho más sensibles a la densidad del nematodo, al mostrar

fuertes reducciones a partir de poblaciones iniciales de 2 huevos/cm³ de sustrato. Resultados similares reportaron Di Vito et ál. (2000) y Ferreira y Crozzoli (1995) en un ensayo similar con Caturra amarillo, quienes reportaron una disminución del peso fresco aéreo cercana al 60%.

En este trabajo no se observaron síntomas de deficiencias nutricionales o anomalías en el color de las hojas, incluso a las mayores poblaciones iniciales, lo cual puede estar relacionado con buena calidad del sustrato y nutrición adecuada. Ferreira y Crozzoli (1995) tampoco reportaron ninguna sintomatología, a pesar del efecto del nematodo

sobre el desarrollo. Otros autores como Figueroa (1974) y Gonçalves (1992) reportaron síntomas de desnutrición como clorosis y enanismo, relacionados con la infestación de *M. exigua* en plantas de almácigo.

En relación con otras especies de *Meloidogyne*, Vovlas y Di Vito (1991) reportaron que el límite de tolerancia (T) de plantas de *Coffea arabica* variedad Sao Tomè de 6 meses, a *M. incognita* raza 1 y *M. javanica* fue 2,09 y 1,34 huevos+J₂/cm³ de sustrato para el peso fresco aéreo, después de 3 meses de inoculadas. Con esta comparación no se podría concluir que *M. exigua* es más patógeno

por su menor límite de tolerancia, ya que los ensayos se desarrollaron en condiciones distintas.

El peso fresco de la raíz no fue claramente afectado por la Pi (datos no presentados). Sin embargo el peso fresco de raíz tendió a ser mayor cuando había mayor densidad de nematodos en la raíz al final del ensayo (Figura 5). La deformación causada por el nematodo en las raíces, evidente en el alto índice de agallas (Figura 6), puede estar relacionado con este comportamiento, durante una época en que todavía no se presenta pudrición radical. Esto concuerda con el reporte de Alpízar (2003), quien trabajó con plantas

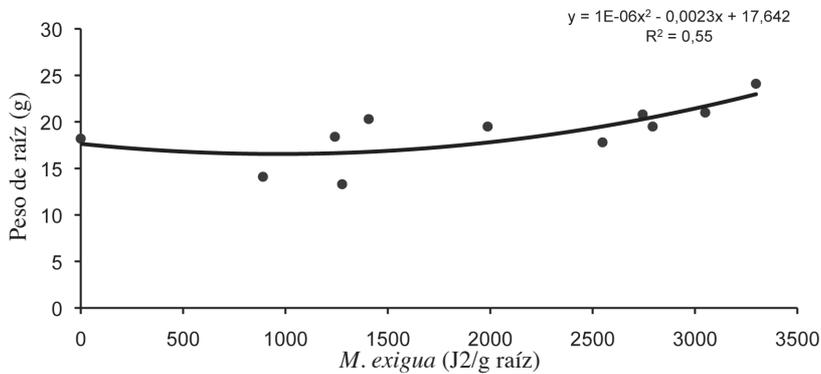


Fig. 5. Relación entre la densidad de nematodos en la raíz y el peso fresco de raíz en plantas de almácigo de café, 234 días después del trasplante.

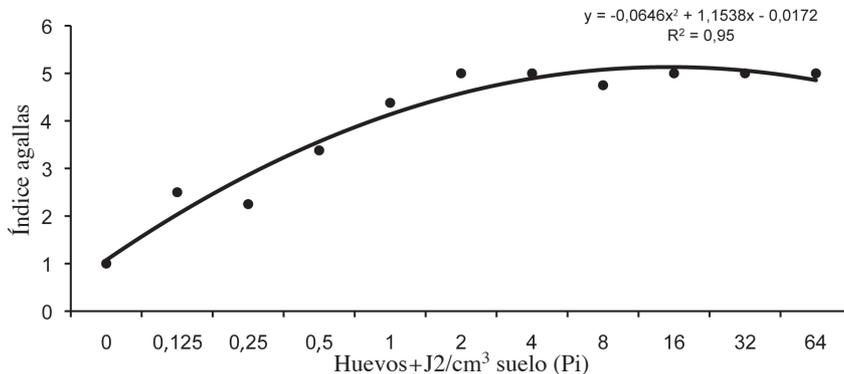


Fig. 6. Efecto de la población inicial (Pi) de *M. exigua* sobre el índice de agallas en plantas de almácigo de café, 234 días después del trasplante.

de almácigo variedad caturra inoculadas con *M. exigua* proveniente de Turrialba, Pérez Zeledón y Naranjo y no encontró diferencias con el testigo sin inocular para la variable peso seco de raíz.

Otros investigadores si han reportado efecto de *M. exigua* sobre el peso de la raíz. Ferreira y Crozzoli (1995) reportaron que el peso radical se redujo en más de 50% con poblaciones iniciales de 8 huevos/cm³ de suelo. Figueroa (1974) indicó que las plantas de almácigo de Caturra de un año de edad mostraron reducciones de casi 3 veces el

peso de las raíces, después de ser inoculadas con *M. exigua* y *Pratylenchus coffeae*.

El índice de agallas mostró buena relación con la población inicial de *M. exigua*, presentó una curva creciente y sostenida hasta los 4 huevos+J₂/cm³ de sustrato, a partir de donde se mantuvo constante (Figura 6). Esta variable estuvo relacionada con la densidad del nematodo en la raíz (Figura 7, Cuadro 2) y fue congruente con la disminución de la tasa de reproducción (Figura 8), que confirma su utilidad práctica.

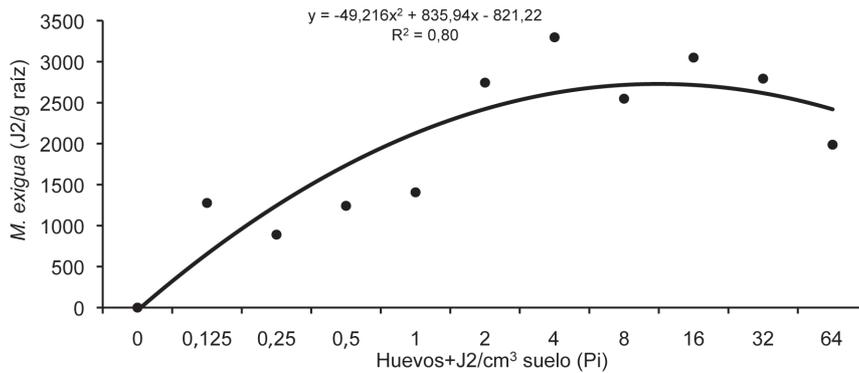


Fig. 7. Efecto de la población inicial (Pi) de *M. exigua* sobre la densidad del nematodo en las raíces de plantas de almácigo de café, 234 días después del trasplante.

Cuadro 2. Población inicial de *Meloidogyne exigua* y población final en las raíces y el sustrato.

Pi (Huevos+J ₂ /cm ³)	Población inicial (Huevos+J ₂ /1335 cm ³)	Población final (Huevos+J ₂)		
		Raíces	Sustrato	Total
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,125	166,9	18443,2	639,1	19082,3
0,25	333,7	14277,1	749,3	15026,4
0,5	667,5	24409,8	944,5	25354,3
1,0	1335,0	30539,8	3063,8	33603,6
2,0	2670,0	60982,2	5807,3	66789,5
4,0	5340,0	83124,4	3904,9	87029,3
8,0	10680,0	49087,0	2324,6	51411,6
16,0	21360,0	73344,2	2022,6	75366,8
32,0	42720,0	61322,1	2002,5	63324,6
64,0	85440,0	41008,2	1486,9	42495,1

La densidad de nematodos en la raíz fue evidentemente mayor que el testigo a partir de una P_i de 0,125 huevos+ J_2 /cm³ de sustrato (Figura 7), que coincide con Ferreira y Crozzoli (1995). La densidad poblacional máxima de nematodos en el sustrato y las raíces se alcanzó con P_i de 4 (Cuadro 2) y concuerda con la disminución de la tasa de reproducción (Figura 8). La población final en las raíces fue en promedio 23 veces mayor que en el sustrato (Cuadro 2), lo que

confirma que *M. exigua* se encuentra principalmente dentro del tejido radical. La tasa máxima de reproducción fue de 114 con P_i de 0,125 huevos+ J_2 /cm³ de sustrato, que coincide con Di Vito et ál. (2000) pero en menor magnitud, ya que ellos reportaron una tasa de 422. Esto indica que las raíces de plantas de almácigo desarrolladas en un sustrato con una P_i de 4 huevos de *M. exigua*/cm³ tendrán el agallamiento máximo al momento de llevarlas al campo.

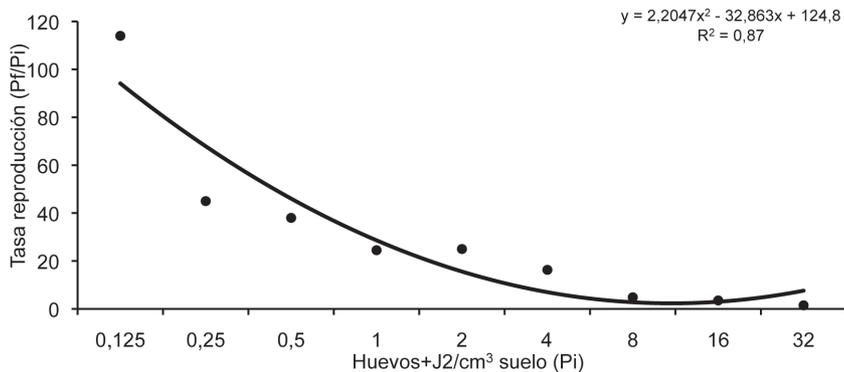


Fig. 8. Relación entre la población inicial (P_i) de *M. exigua* y la tasa de reproducción del nematodo, 234 días después del trasplante en plantas de almácigo variedad Caturra.

De esta forma, aunque el nivel de inóculo inicial sea bajo en un suelo donde se desarrolle un almácigo, tarde o temprano la población del nematodo alcanzará los más altos niveles. Estos resultados tienen implicación a nivel de la calidad de las plantas de almácigo que se comercializan, que afectan el desarrollo de la misma, pero el problema principal que se debe evitar, es llevar al campo plantas infestadas donde la población siga en crecimiento de forma de forma incontrolada.

Según Gonçalves (1992), si las plantas de almácigo se llevan al campo libres de *M. exigua* y se realiza un manejo adecuado de la plantación, la presencia del nematodo en el campo generalmente afecta muy poco la producción. Además el uso de nematicidas en la caficultura actualmente es mínimo, relacionado con aspectos de baja efectividad, restricciones por parte de las empresas certificadoras y alto costo económico y ambiental.

Algunos aspectos de prevención de la infestación que se pueden mencionar son el establecimiento del semillero y almacigal en terrenos libres del patógeno, muestreo previo de densidad de nematodos en el suelo destinado al desarrollo del almácigo, desinfección química o térmica del sustrato, uso de nematicidas o alternativas de control biológico.

En 1988 Figueroa propuso también la injeración y la resistencia varietal, como métodos de control para hacer frente a la plaga. Hoy en día se cuenta a nivel comercial con el patrón de *C. canephora* conocido como Nemaya y otros materiales genéticos que presentan tolerancia a *M. exigua*.

CONCLUSIONES

Se estimó que la densidad crítica de *M. exigua* para almácigo de caturra bajo las condiciones

en que se desarrolló el ensayo es cercana a cero huevos/cm³ de sustrato de población inicial.

El nematodo *Meloidogyne exigua* afectó el desarrollo de las plantas de almácigo a partir de poblaciones iniciales de 0,125 huevos/cm³ de sustrato, que redujo el diámetro del tallo, el número de nudos en el eje ortotrópico y el peso aéreo de las plantas.

El índice de agallas y la densidad de nematodos en las raíces mostraron muy buena relación con la población inicial de *M. exigua* y la tasa de reproducción y alcanzaron el máximo con una Pi de 4 huevos+J₂/cm³ de sustrato, mientras la tasa máxima de reproducción fue de 114 con Pi de 0,125 huevos+J₂/cm³ de sustrato.

El almácigo se debe desarrollar en sustrato o suelo libre de nematodos, ya que aún con inóculos bajos se puede alcanzar los niveles máximos de población en un período corto de tiempo.

LITERATURA CITADA

- ALPIZAR E. 2003. Evaluación de la patogenicidad de poblaciones de *Meloidogyne exigua* en genotipos de *Coffea arabica* con diferentes niveles de resistencia. Tesis de maestría, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 39 p.
- ALVARADO M., LÓPEZ R. 1981. Extracción de nematodos fitoparásitos asociados al arroz, cv. CR.1113, mediante modificaciones de las técnicas de centrifugación, flotación y embudo de Baermann modificado. *Agronomía Costarricense* 5(1/2):7-13.
- DI VITO M., CROZZOLI R., VOVLAS N. 2000. Pathogenicity of *Meloidogyne exigua* on coffee (*Coffea arabica* L.) in pots. *Nematropica* 30(1):55-61.
- FERREIRA I., CROZZOLI R. 1995. Efectos del nematodo agallador *Meloidogyne exigua* sobre el crecimiento de plantas de café en vivero. *Nematol. medit.* 23:325-328.
- FIGUEROA A. 1974. Nematodos en café. *Boletín Técnico* (Costa Rica) N°. 62.
- FIGUEROA A. 1988. Análisis del problema de los nemátodos en viveros de café (*Coffea arabica* L.). *MIP* N°. 8:12-21.
- FRANKLIN M.T. 1962. Preparation of posterior cuticular patterns of *Meloidogyne* spp., for identification. *Nematologica* 7:336-337.
- GONÇALVES W. 1992. Melhoramento do cafeeiro visando resistência a nematóides. *Informe Agropecuário* (Brasil) 16(172):66-72.
- HERNÁNDEZ A. 2007. Caracterización de la diversidad de nemátodos agalladores (*Meloidogyne* sp.) asociados al cultivo del café de Centroamérica. *Boletín IICA-PROMECAFE* N°. 112. Julio-septiembre 2007. 8-11.
- ICAFE. 1998. Manual de recomendaciones para el cultivo del café. Centro de Investigaciones en Café, Heredia, Costa Rica. 193 p.
- LÓPEZ R., SALAZAR L. 1989. *Meloidogyne arabicida* sp. n. (Nemata: Heteroderidae) nativo de Costa Rica: un nuevo y severo patógeno del café. *Turrialba* 39(3):313-323.
- ROJAS M. 2008. Avance sobre la caracterización morfológica y molecular de especies de *Meloidogyne* en cafetales de Costa Rica. Simposio Nacional de Caficultura, Instituto del Café de Costa Rica. Heredia, Costa Rica. 11 p.
- SALAS L., ECHANDI E. 1961. Nematodos parásitos en plantaciones de café de Costa Rica. *Café* (Costa Rica) 3(8):21-24.
- SEINHORST J. 1965. The relation between nematode density and damage to plants. *Nematologica* 11:137-154.
- VILLAIN L., ANZUETO F., HERNÁNDEZ A., SARAH J. 1999. Los nemátodos parásitos del café, pp. 327-367. In: B. Bertrand y B. Rapidel (eds.). *Desafíos de la caficultura en Cen-troamérica*. IICA/PROMECAFE, CIRAD, IRD, CCCR.
- VILLAIN L., SARAH J., HERNÁNDEZ A., CHARMETANT P., BERTRAND B., ANTHONY F., TOPART P., LASHERMES P., ANZUETO F., CARNEIRO R. 2006. Biodiversity of root knot nematodes, on coffee in Cen-tral America. ASIC, París, Francia. Consultada el 19 de marzo de 2012 en http://asic-cafe.org/en/system/files/PA189_2006.pdf
- VOVLAS N., DI VITO M. 1991. Effect of root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on the growth of coffee (*Coffea arabica* L.) in pots. *Nematol. Medit.* 19:253-258.



