

CICLO BIOLÓGICO DE *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* EN EL CULTIVO DE LA PAPA EN VENEZUELA

N. Jiménez-Pérez¹, R. Crozzoli² y N. Greco³

¹Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Facultad de Agronomía, Decanato de Agronomía, Apdo. 400, Barquisimeto, Venezuela

²Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Zoología Agrícola, Apdo. 4579, Maracay, Venezuela

³Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per la Protezione delle Piante, Sezione di Bari, Via G. Amendola 122D, 70126 Bari, Italia

Resumen. La duración del ciclo de vida y número de generaciones de una población local del nematodo quiste de la papa, *Globodera rostochiensis*, se determinó en el cv. Andinita en el estado Lara, Venezuela. A una temperatura promedio del aire de 19,5 °C y del suelo a 10 cm de profundidad de 18 °C, el ciclo duró 42 días, observándose los juveniles de segundo, tercero y cuarto estadio dentro de las raíces 14, 21 y 28 días después de la inoculación, respectivamente. Tanto las hembras como los machos, se formaron a los 35 días, mientras que los quistes con huevos en su interior se encontraron 42 días luego de la inoculación. La segunda generación de juveniles de segundo, tercero, cuarto estadio y quistes se observaron 56, 63, 70 y 77 días luego de la inoculación, respectivamente. En otro estudio, en la misma población, se observó una alta respuesta a la incubación durante todo el año. Los juveniles de segundo estadio emergieron de los quistes rápidamente. La emergencia máxima fue alcanzada durante la segunda y tercera semana después de iniciada la incubación 36 y 32%, respectivamente. La emergencia total fue alcanzada en la octava semana y se ubicó entre 80 y 90% en la mayoría de los períodos; excepcionalmente fue menor de 70%. Los resultados sugieren la ausencia de diapausa en la población venezolana de *G. rostochiensis* y que una proporción de los huevos de la primera generación desarrollan una segunda generación.

Palabras clave: Desarrollo, nematodo quiste de la papa, *Solanum tuberosum*.

Summary. Life-cycle and emergence of second stage juveniles from cysts of *Globodera rostochiensis* in Venezuela. Life cycle duration and number of generations of a local population of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, in potato cv. Andinita, were monitored in Lara state, Venezuela. At mean air temperature of 19.5 °C, and mean soil temperature of 18 °C, at 10 cm depth, the life cycle of the nematode was completed in 42 days. Second, third and fourth stage juveniles were observed 14, 21 or 28 days after inoculation, respectively. Both females and males were observed 35 days after inoculation while cysts containing eggs were formed by 42 days after inoculation. Second, third and fourth stage juveniles and cysts of a second generation occurred 56, 63, 70 and 77 days after inoculation. The hatching test showed that the population of *G. rostochiensis* from Lara state hatches throughout the year. The greatest weekly hatch percentage occurred between the second and third week of the test ranging between 36 and 32%, respectively. Egg hatch was exhausted after 8 weeks and final hatch was mainly in the range 80-90% and rarely less than 70%. The results suggest that the Venezuelan population of *G. rostochiensis* does not undergo diapause and that at least a small proportion of the eggs from the first generation develop a second generation.

Keywords: Development, potato cyst nematode, *Solanum tuberosum*.

Globodera rostochiensis (Woll.) Behrens, es uno de los nematodos de quiste más especializado y exitoso como plaga del cultivo de la papa en el mundo (Turner and Evans, 1998). En Venezuela es uno de los principales problemas en los estados Andinos y en el estado Lara (Greco y Crozzoli, 1995).

En regiones de clima templado los huevos contenidos en el quiste pueden permanecer en el suelo hasta por 30 años, entrando, el patógeno, en un estado de dormancia, debido a condiciones ambientales desfavorables (quiescencia) o por factores endógenos (diapausa) (González y Phillips, 1996). En este último caso, aun en presencia del hospedante y con adecuadas condiciones ambientales sólo una pequeña proporción del total de huevos responde al estímulo de los exudados radicales e incubación. Después de un tiempo, la diapausa puede desapa-

recer debido a cambios en el ambiente que se tornan favorables o cuando factores endógenos permiten al nematodo responder a estímulos liberados por la planta hospedante. De este modo, las poblaciones del nematodo introducidas a nuevas regiones pueden adaptarse a diferentes estaciones de crecimiento del cultivo hospedante (Turner y Evans, 1998; Devine y Jones, 2000). Se ha sugerido que este comportamiento está influenciado por diferentes factores como la producción de inhibidores de la incubación (Ellenby, 1946), estacionalidad (Calam *et al.*, 1949), déficit de oxígeno (Wallace, 1959), genotipo del nematodo (Evans, 1979), fotoperíodo (Homnick, 1986) y edad del quiste (Muhammad y Evans, 1997). En estas regiones templadas, sólo una porción de los juveniles del quiste emergen normalmente durante un ciclo del cultivo. La emergencia de juveniles desde

los quistes es baja y prolongada durante el otoño e invierno y rápida durante primavera y verano, esta diapausa podría representar una ventaja biológica para el nematodo, porque permite sincronizar su ciclo de vida con el de la planta hospedante (Hominick *et al.*, 1985).

La presente investigación se planteó con el propósito de conocer la duración del ciclo biológico de una población de *G. rostochiensis* proveniente del estado Lara, Venezuela y por ende cuantas generaciones puede tener el nematodo en un ciclo de cultivo y determinar si el patógeno presenta un período de diapausa o si por el contrario los huevos recién formados, al recibir un estímulo, pueden incubarse de inmediato y desarrollar juveniles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ciclo de vida. El experimento fue conducido en la localidad de Agua Negra, estado Lara a 1400 msnm, para lo cual en cien bolsas de polietileno se colocaron 2500 cm³ de una mezcla de suelo (6% arcilla, 12% limo, 80% arena, 2% materia orgánica) tratado por solarización. Para la inoculación se colectaron quistes jóvenes tan pronto maduraron, sobre raíces de papa cv. Andinita (*Solanum tuberosum* L.) cultivada en la finca "Las Quebrillas" ubicada en la localidad de Cubiro, estado Lara. Se contaron los quistes y luego se rompieron siguiendo el método de Seinhorst y Den Ouden (1966) con la finalidad de contar los huevos viables, y de esta forma determinar el número de quistes necesarios para alcanzar una densidad de 20 huevos/cm³ de suelo (Greco *et al.*, 1988). La inoculación se realizó con 145 quistes/bolsa.

Un tubérculo de papa cv. Andinita fue plantado en cada bolsa al momento de la inoculación y éstas, a su vez, se enterraron en canales de 30 cm de profundidad. A las plantas se les aplicó riego, fertilizante (15-15-15) y se ejecutaron las prácticas agronómicas requeridas por el cultivo y comunes en la zona. Catorce días luego de haber plantado el tubérculo semilla e inoculado con los quistes del nematodo, se procedió a cosechar cuatro plantas y se realizaron las siguientes determinaciones: número de ejemplares por estadios de vida del nematodo presentes en 10 g de raíces en cada planta, número de quistes presentes en 100 cm³ de suelo, para lo cual se utilizó el método de Fenwick (1940) y número de juveniles de segundo estadio y machos presentes en 100 cm³ de suelo, para lo cual se procesó el suelo por el aparato de Oostenbrink y la limpieza de la muestra se realizó con el embudo de Baermann (s'Jacob y Van Bezooijen, 1971). Estas determinaciones fueron repetidas cada 7 días hasta el final del ciclo del cultivo (119 días). Durante la conducción de la investigación se registró a diario la temperatura del aire y del suelo a 10 cm de profundidad.

Emergencia de juveniles desde los huevos. Se colectaron quistes de *G. rostochiensis* tan pronto maduraron sobre raíces de papa cv. Andinita provenientes de una

siembra comercial cultivada en la misma localidad señalada anteriormente. Se mezclaron con suelo proveniente de una zona virgen (nunca cultivada) previamente tratado por solarización, para garantizar que solo estos quistes estarían presentes en el suelo. Luego, se colocó la mezcla dentro de un recipiente y se dejó en el campo al aire libre. Quincenalmente se colectó una muestra y se procesó por el método de Fenwick (1940) con la finalidad de recuperar 400 quistes; este procedimiento se repitió durante un año, para un total de 24 muestras de 400 quistes cada una.

Los 400 quistes recuperados fueron introducidos en cuatro cestas de 1,5 cm diámetro (100 quistes por cesta) que luego fueron colocadas dentro de cápsulas Petri que contenían 5 ml de una solución de metavanadato de sodio 0,6 mM cuya función fue estimular la emergencia de los juveniles de segundo estadio de los huevos (Greco *et al.*, 1974). Posteriormente, las cápsulas Petri con los quistes fueron colocadas dentro de una incubadora a una temperatura constante de 19 °C, según lo indicado por Franco (1979). Este procedimiento fue repetido cada 15 días con un nuevo lote de quistes y continuado durante un año. Semanalmente se contó el número de juveniles emergidos de los quistes y se sustituyó la solución de metavanadato de sodio.

La evaluación para cada grupo de 400 quistes tuvo una duración de ocho semanas, puesto que luego de ocho semanas de haber iniciado la prueba de emergencia se apreció que el número de juveniles emergidos era muy bajo, por lo cual se decidió terminar la prueba y se procedió a triturar los quistes y a contar el número de huevos y juveniles que aún permanecían dentro. Los juveniles que fueron liberados en el proceso de ruptura de quistes fueron contados como huevos viables no incubados, mientras que los huevos vacíos fueron ignorados. La emergencia fue calculada como un porcentaje del total de huevos viables incubados y no incubados por cada réplica, para cada período de evaluación quincenal durante un año. Del mismo modo, se calculó el porcentaje de juveniles emergidos durante ocho períodos de incubación (ocho semanas).

Análisis estadístico. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de la varianza para determinar el efecto de las diferentes fechas de iniciado el experimento sobre la incubación y una prueba de Fisher como discriminadora entre los períodos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ciclo de vida. La duración del ciclo biológico de *G. rostochiensis* fue de 42 días en la var. Andinita en la localidad Agua Negra, donde la temperatura del aire y del suelo a 10 cm de profundidad fue en promedio de 19,5 y 18 °C, respectivamente.

La presencia de los juveniles de segundo estadio en las raíces de las plantas de papa se detectó en el primer

muestreo, catorce días después de la inoculación. Para este período, la totalidad de los nematodos extraídos de las raíces eran juveniles de segundo estadio (885/10 g de raíces). Veintiún días después de la inoculación, 13% de los nematodos extraídos de las raíces habían perdido su apariencia vermiforme, se observaron más engrosados y se evidenció la formación de una nueva cutícula, esto confirmó que ocurrió la segunda muda, lo cual generó el cambio de juvenil de segundo a juvenil de tercer estadio. Veintiocho días después de la inoculación, 6,31% de los nematodos extraídos de las raíces sufrieron una tercera muda, y dieron origen a los juveniles de cuarto estadio; el porcentaje de cuarto estadio incrementó y alcanzó su pico entre 35 y 42 días después de la inoculación, cuando representaron 23-24% de la población. Tanto las hembras como los machos se formaron 35 días luego de la inoculación y representaron 10 y 15,9% de la población, respectivamente. Posteriormente, la población tanto de hembras como de machos incrementó hasta alcanzar su pico a los 49 y 56 días, respectivamente. Las hembras adquirieron forma globosa y una coloración amarilla, mientras que los machos eran vermiformes. Los quistes con huevos en su interior se formaron 42 días luego de la inoculación, lo que evidenció el final del ciclo biológico del nematodo. No obstante, para ese lapso, la cantidad fue baja, representó sólo 0,3% de la población, probablemente debido a que no se contabilizaron los quistes que quedaron adheridos a las raíces de las plantas (Tabla I).

Estos resultados son similares a los encontrados en Italia en las localidades de Bari y Avezzano, donde después de la penetración del juvenil de segundo estadio, transcurrieron 29 y 28 días, respectivamente, para formarse los primeros quistes (Greco *et al.*, 1988). Del mismo modo, en Chile, el nematodo tardó 28 días para for-

mar los primeros quistes (Greco y Moreno, 1992). No obstante, la duración del ciclo de vida de *G. rostochiensis* encontrada en esta investigación coincide en mayor grado con la encontrada en Italia en la localidad de Catania, donde los quistes se formaron 49 días después de la penetración de los juveniles de segundo estadio. Estas diferencias podrían depender de la calidad de la semilla utilizada, lo cual puede influir en una más rápida o lenta formación de raíces. Del mismo modo las temperaturas del suelo (8-21 °C) durante el cultivo de papa entre diciembre y mayo en la localidad de Catania podrían influir en una lenta emergencia y desarrollo de las plantas (Greco *et al.*, 1988).

Cincuenta y seis días luego de la inoculación se desarrollaron juveniles de segunda generación debido a que los tubérculos aún estaban inmaduros y las raíces eran abundantes. De este modo, las plantas fueron capaces de soportar una segunda generación. La cantidad de juveniles de tercer y cuarto estadio de segunda generación se incrementó y alcanzó su pico 63 días luego de la inoculación, mientras que las hembras y machos de la segunda generación alcanzaron su pico 70 y 84 días, respectivamente luego de la inoculación (Tabla I).

Los resultados demuestran que las condiciones de temperatura del aire y del suelo (19,5 y 18 °C, respectivamente) presentes en la localidad Agua Negra, además del hecho de que la var. Andinita es una variedad tardía, ofrecen una fase de crecimiento del cultivo lo suficientemente larga y favorable como para permitir que el nematodo llegue al estadio de quiste, cuando los tubérculos de papa aún están inmaduros. Esto hace posible que una porción de los juveniles de segundo estadio emerjan de los quistes formados recientemente e infecten las raíces de papa, para desarrollar una segunda generación.

Tabla I. Estadios de vida de *Globodera rostochiensis* recuperados en 10 g de raíces de papa cv. Andinita en Agua Negra, estado Lara, Venezuela, hasta 112 días después de la inoculación (Días).

Días	Juveniles de segundo estadio	(%)	Juveniles de tercer estadio	(%)	Juveniles de cuarto estadio	(%)	♂	(%)	♀	(%)	Quistes	(%)
14	885	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	957	87	143	13	0	0	0	0	0	0	0	0
28	433	30,7	888	63	89	6,3	0	0	0	0	0	0
35	310	19,1	520	32	374	23	258	15,9	163	10	0	0
42	109	9,0	147	12,1	291	24	425	35	238	19,6	4	0,3
49	95	6,9	181	13,1	246	17,8	488	35,4	355	25,7	15	1,1
56	184	8,9	103	5	117	5,7	1301	62,9	344	16,6	18	0,9
63	145	18,2	130	16,3	187	23,5	203	25,5	102	12,8	28	3,5
70	114	16,81	41	6	29	4,3	264	38,9	191	28,2	39	5,7
77	33	6,4	91	17,6	80	15,5	190	36,7	87	16,8	36	7
84	78	13,7	33	5,8	20	3,5	310	54,3	92	16,1	38	6,6
91	43	11,1	35	9,1	25	6,5	209	54,1	40	10,4	34	8,8
98	23	13,4	15	8,8	5	2,9	77	45	14	8,2	37	21,63
105	2	5,7	1	2,8	1	2,8	4	11,4	2	5,7	25	71,4
112	1	2,8	1	2,8	1	2,8	2	5,5	2	5,5	29	80,5
119	12	26,1	0	0	0	0	0	0	0	0	34	73,9

Tabla II. Dinámica de *G. rostochiensis* en suelo cultivado con papa cv. Andinita en la localidad Agua Negra, estado Lara, hasta 119 días después de la inoculación (Días).

Días	Porcentaje de humedad	Jv2/100 cm ³ de suelo	Machos/100 cm ³ de suelo	Quistes/100 cm ³ de suelo	Huevos/cm ³ de suelo
0	75				
14	65	535	0	4,1	2,5
21	58	410	0	3,3	1,7
28	67	385	0	2,7	1,7
35	77	90	10	1,4	0,7
42	78	124	58	1,2	0,7
49	69	112	44	9	5,7
56	65	184	65	11	7,8
63	77	225	155	8	4,2
70	73	174	79	12	4,7
77	67	158	97	15	10,3
84	69	174	104	13	9,4
91	72	165	148	18	14,6
98	69	105	98	24	13,2
105	65	77	102	29	27,7
112	68	94	78	33	21,4
119	70	72	87	31	27,7

Estos resultados coinciden con los obtenidos en Avezzano, Italia, donde las bajas temperaturas (12-24 °C) incrementaron la duración de la fase de crecimiento del cultivo, lo cual favoreció el desarrollo de una segunda generación (Greco *et al.*, 1988). Philis (1980) en Chipre, constató que una segunda generación se inició, pero no se completó debido a la insuficiente cantidad de raíces que proporcionarían alimento. No obstante, en Italia en las localidades de Catania y Bari, que tienen una corta estación de crecimiento de la papa, no fue iniciada una segunda generación debido a que no habían raíces adecuadas y por el efecto adverso que tienen las altas temperaturas del suelo (25 °C) en el sur de Italia (Greco *et al.*, 1988). Del mismo modo, en Chile e Inglaterra han demostrado que el nematodo solamente logra una generación por ciclo del cultivo (Evans, 1979; Greco *et al.*, 1988; Greco y Moreno, 1992).

Durante el primer y segundo muestreo se encontró un gran número de juveniles de segundo estadio en las muestras de suelo (535 y 410/100 cm³ de suelo, respectivamente); sin embargo, la densidad declinó rápidamente durante las dos semanas siguientes. Posteriormente, como consecuencia de la emergencia de juveniles de segundo estadio provenientes de los quistes recientemente formados, la densidad de juveniles de segundo estadio comenzó a incrementarse hasta llegar a un pico de 225 juveniles/100 cm³ de suelo 63 días después de la inoculación, a partir de cuando comenzó a disminuir gradualmente hasta la cosecha (Tabla II).

La dinámica poblacional de los juveniles de segundo estadio obtenidos en el presente estudio difirió de la señalada por Greco y Moreno (1992) en Chile, donde encontraron un gran número de juveniles de segundo estadio durante las primeras semanas de evaluación. Posteriormente, el número fue disminuyendo hasta llegar a niveles insignificantes durante la cosecha. No obstante,

estos resultados coincidieron con los obtenidos en la localidad de Avezzano, Italia, donde el nematodo puede desarrollar una segunda generación (Greco *et al.*, 1988), por lo cual, la densidad poblacional de juveniles de segundo estadio en el suelo disminuyó gradualmente durante las primeras semanas después de haber emergido el cultivo, luego la densidad poblacional se incrementó hasta llegar a un pico a partir del cual decreció hasta la cosecha.

Los machos aparecieron en las muestras de suelo 35 días después de la inoculación e inicialmente fueron escasos, hasta que, transcurridos 63 días de la inoculación, alcanzaron su máxima densidad (155 ejemplares/100 cm³ de suelo). Posteriormente, la densidad declinó para luego ascender gradualmente y alcanzar otro pico 91 días después de la inoculación (148 ejemplares/100 cm³ de suelo), desde ese momento la densidad bajó hasta la cosecha (Tabla II).

Como consecuencia de la incubación de los juveniles de segundo estadio, el número de quistes y huevos/cm³ de suelo disminuyó gradualmente durante los primeros 42 días, luego comenzó a incrementarse producto del desarrollo de quistes nuevos. Por este motivo el número de huevos también se incrementó para el momento de la cosecha (27,7 huevos/cm³ de suelo) y una densidad de 31 quistes/100 cm³, lo que indica que el nematodo alcanzó una tasa de reproducción de 5,3. Resultados similares obtuvieron Greco y Moreno (1992) en Chile donde 40% de los nematodos que infectaron las raíces llegaron al estadio de quiste.

Emergencia de juveniles. La emergencia de juveniles de *G. rostochiensis* de los huevos osciló entre 77 y 89% en las 24 evaluaciones realizadas durante un año de evaluación (Fig. 1). El análisis de varianza para el efecto de diferentes fechas sobre la incubación no presentó dife-

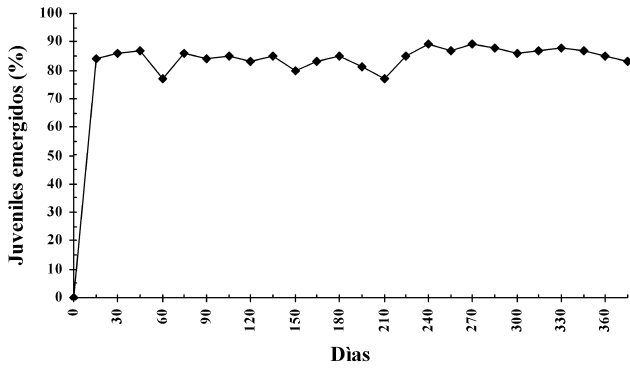


Fig. 1. Porcentaje de juveniles de segundo estadio de *Globodera rostochiensis* emergidos durante 375 días de evaluación.

rencias significativas ($P < 0,05$) lo que sugiere que la emergencia de los juveniles en nuestras condiciones no está determinada por el tiempo de incubación o periodo del año. Esto demuestra la rápida y alta capacidad de emergencia de los juveniles de segundo estadio de *G. rostochiensis*, e indica que en Venezuela el nematodo es capaz de reproducirse y por lo tanto causar daño al cultivo durante todo el año. Sin embargo, la emergencia de los juveniles fue afectada por los períodos de incubación estudiados (7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días), es decir las ocho semanas de evaluación. Los máximos porcentajes de emergencia fueron obtenidos a los 14 y 21 días después de iniciadas las pruebas de incubación (36 y 32%, respectivamente), seguido de la emergencia obtenida a los 28 días de incubación (12%), mientras que la emergencia a los 7, 35, 42, 49 y 56 días siempre estuvo por debajo de 6%. A los 21 días de iniciada la incubación, 74% de los juveniles ya había emergido (Tabla III). Esto denota la rápida respuesta de los juveniles al estímulo de incubación y sugiere que si el cultivo se protege de los juveniles emergidos durante los primeros

Tabla III. Porcentaje de juveniles de *G. rostochiensis* emergidos durante ocho períodos de incubación. Promedio de 25 repeticiones.

Días después de iniciada la incubación	Juveniles de segundo estadio emergidos (%)
7	6 C ⁽¹⁾
14	36 A
21	32 A
28	12 B
35	5 C
42	3 D
49	2 E
56	1 E

⁽¹⁾ Las medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales según la Prueba de Fisher ($P < 0,001$).

21 días luego de la brotación de las plantas, puede obtenerse un control satisfactorio del nematodo.

El hecho de obtener la mayor emergencia de juveniles entre los 14 y 21 días después de iniciada la incubación (Tabla III) y una emergencia acumulada superior al 80% (Fig. 1) son indicativos de ausencia de diapausa en esta población, situación similar a la señalada por Greco y Moreno (1992) quienes evidenciaron que en Chile el nematodo no presentó diapausa, puesto que los juveniles emergieron entre 50 y 84,4% durante todo el año, con un máximo de emergencia durante la tercera y quinta semana después de iniciada la incubación. El nematodo se reproduce durante todo el año favorecido por el hecho de que se cultiva papa en el mismo campo hasta dos veces al año. De igual manera, en Venezuela se cultiva papa durante todo el año en los mismos campos, y este manejo garantiza la presencia de la planta hospedante y por ende la alimentación del patógeno, lo cual le permite reproducirse en cualquier época del año.

LITERATURA CITADA

Atkinson H., Taylor J. y Fowler M., 1987. Changes in the second stage juveniles of *Globodera rostochiensis* prior to hatching in response to potato root diffusate. *Annals of Applied Biology*, 110: 105-114.

Calam C.T., Raistrick H. y Tood A.R., 1949. The potato eelworm hatching factor I. The preparation of concentrates of the hatching factor and a method of bioassay. *Biochemical Journal*, 45: 513-519.

Devine K. y Jones P., 2000. Response of *Globodera rostochiensis* to exogenously applied hatching factors in soil. *Annals of Applied Biology*, 137: 21-29.

El-Shatovry H., 1978. Genetic control of dormancy in the potato cyst nematode. *Experientia*, 34: 448-449.

Ellenby C., 1946. Ecology of the eelworm cyst. *Nature*, 157: 451-452.

Evans K., 1979. Is there genetic control of hatching in cyst-nematodes. *Journal of Nematology*, 11: 297.

Fenwick D.W., 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*, 18: 155-172.

Franco J., 1979. Effect of temperature on hatching and multiplication of potato cyst-nematodes. *Nematologica*, 25: 237-244.

González J. y Phillips M., 1996. Hatching behaviour of potato cyst nematodes from the Canary islands. *Journal of Nematology*, 28: 451-456.

Greet D.N., 1974. The response of five round-cyst nematodes (Heteroderidae) to five artificial hatching agents. *Nematologica*, 20: 363-364.

Greco N. y Crozzoli R., 1995. Nematodos del quiste de la papa, *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*: Aspectos generales. *Fitopatología Venezolana*, 8: 26-32.

Greco N. y Moreno I., 1992. Influence of *Globodera rostochiensis* on yield of summer, winter and spring sown potato in Chile. *Nematropica*, 22: 165-173.

Greco N., Inserra R.N., Brandonisio A. y De Marinis G., 1988. Life-cycle of *Globodera rostochiensis* on potato in Italy. *Nematologia Mediterranea* 16: 69-73.

- Hominick W.M., Forrest J.M. y Evans A., 1985. Diapause in *Globodera rostochiensis* and variability in hatching trials. *Nematologica*, 31: 159-170.
- Hominick W.M., 1986. Photoperiod and diapause in the potato cyst-nematode, *Globodera rostochiensis*. *Nematologica*, 32: 408-418.
- s'Jacob, J. and Van Bezooijen, J. 1971. *A manual for practical work in nematology*. Wageningen, Agricultural University, The Netherland. pp. 11-17.
- Jones M., 1981. Host cell response to endoparasitic nematode attack: structure and function of giant cells and syncytia. *Annals Review of Applied Biology*, 97: 353-372.
- Muhammad Z. y Evans A., 1997. Hatching in the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* indicating diapause as a cause of variability in emergence. *Nematologia Mediterranea*, 25: 141-149.
- Perry R., Hodges J. y Beane J., 1981. Hatching of *Globodera rostochiensis* in response to potato root diffusate persisting in soil. *Nematologica*, 27: 349-352.
- Philis J., 1980. Life history of the potato cyst-nematode *Globodera rostochiensis* in Cyprus. *Nematologica*, 26: 295-301.
- Rawsthorne D. y Brodie B., 1986. Relationship between root growth of potato, root diffusate production, and hatching of *Globodera rostochiensis*. *Journal of Nematology*, 18: 379-384.
- Rawsthorne D. y Brodie B., 1987. Movement of potato root diffusate through soil. *Journal of Nematology*, 19: 119-122.
- Seinhorst J.W. y Den Ouden H., 1966. An improvement of the Bijlloo's methods for determining the egg content of *Heterodera* cysts. *Nematologica*, 28: 277-284.
- Turner S.J. y Evans K., 1998. The origins, global distribution and biology of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* (Woll.) and *Globodera pallida* Stone). Pp. 7-26. In: *Potato cyst Nematodes Biology, Distribution and Control* (Marks R.J. and Brodie B.B., eds). C.A.B. International, Wallingford, U.K.
- Turner S. y Stone A., 1981. Hatching of potato cyst-nematodes (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*) in root exudates of *Solanum vernei* hybrids. *Nematologica*, 27: 315-318.
- Wallace H.R., 1959. Further observations on some factors influencing the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm *Heterodera schachtii* Schmidt. *Nematologica*, 4: 245-252.