

CAMBIOS EN LA ATRACCION DE *DITYLENCHUS PHYLLOBIUS* HACIA TEJIDOS DE *SOLANUM ELAEAGNIFOLIUM* DURANTE EL DESARROLLO DE LA PLANTA

A. F. Robinson

Southern Crops Research Laboratory, USDA, ARS, Route 5, Box 805, College Station, TX 77845, EE.UU.

RESUMEN

Robinson, A. F. 1992. Cambios en la atracción de *Ditylenchus phyllobius* hacia tejidos de *Solanum elaeagnifolium* durante el desarrollo de la planta. *Nematrópica* 22:37-45.

Un ensayo basado en la acumulación de nematodos en agar fue usado para detectar cambios en la concentración de compuestos atrayentes a *Ditylenchus phyllobius* en diferentes tejidos de *Solanum elaeagnifolium*. La mayor parte de la biomasa de la planta fue altamente atrayente durante todo la etapa de crecimiento. Solamente las flores, los frutos y los ápices del follaje tuvieron un bajo nivel de atracción. La actividad atrayente total aumentó con el desarrollo de la planta y la actividad más alta se encontró en la parte alta de la planta madura. En los tejidos del tallo, la actividad máxima se detectó en la corteza. Una actividad débil detectada en bayas verdes se perdió cuando éstas maduraron.

Palabras clave: atrayente, comportamiento, *Ditylenchus phyllobius*, nematodo, *Solanum elaeagnifolium*.

ABSTRACT

Robinson, C. F. 1992. Changes in the attraction of *Ditylenchus phyllobius* to tissues of *Solanum elaeagnifolium* during plant development. *Nematropica* 22:37-45.

A nematode accumulation assay was used to monitor changes in the concentrations of attractants for *Ditylenchus phyllobius* within organs of *Solanum elaeagnifolium* during plant development. Most of the biomass of the plant was highly attractive throughout the season. Only flowers, fruit, and foliar apices were relatively unattractive. Attractant activity increased during plant development, and the greatest level of activity in stem tissues occurred in the bark. Weak activity in green berries was lost during ripening.

Key words: attractant, behavior, *Ditylenchus phyllobius*, nematode, *Solanum elaeagnifolium*.

INTRODUCCION

Existen muchos ejemplos del comportamiento de nematodos en respuesta a estímulos químicos (4,7,15). Uno de los más interesantes es la atracción de estadios juveniles infectivos del nematodo del follaje *Ditylenchus phyllobius* (Thorne) Filipjev (13) al follaje de especies de *Solanum*. Robinson *et al.* (8) observaron que juveniles infectivos de *D. phyllobius* se acumularon rápidamente alrededor de los tallos de cuatro especies de *Solanum* al ser colocados sobre agar cerca de trozos de tallo. En este mismo estudio los tallos de plantas de 10 familias y de otros cuatro géneros de *Solanaceae* no atrajeron al nematodo. *Ditylen-*

chus phyllobius solamente parasita ciertas especies de *Solanum*, lo cual sugiere que ha co-evolucionado con una o más de estas plantas. El nematodo y el hospedero más común, *Solanum elaeagnifolium*, se encuentran a lo largo de vastas regiones semiáridas de Norte América y Sud América. Los nematodos quiste de la papa *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens y *G. pallida* (Stone) Behrens también son originalmente de Sud América y parecen haber co-evolucionado con *Solanum* spp. (3). En contraste con los nematodos quiste de la papa, que infestan las raíces, *D. phyllobius* se alimenta solamente en el interior de las agallas que induce a la

planta a formar en las hojas, tallos y flores (12). Este nematodo no se ha encontrado infectando la papa. Para completar el ciclo de vida, los juveniles infectivos migran a través del suelo donde invaden chupones emergentes de los rizomas o ascienden por los tallos donde invaden los ápices del follaje. Es posible que el atrayente detectado en condiciones *in vitro* juegue un papel primordial en el reconocimiento del hospedero por el nematodo en condiciones naturales.

Un examen preliminar de las características químicas de actividad atrayente en extractos del follaje de *Solanum elaeagnifolium* indicó que el atrayente es altamente polar, con un peso molecular menor que 1 000, estable a temperaturas menos de 60 C, desactivado de manera reversible por ácido y detectable por bioensayo en fracciones distintas provenientes de inyecciones individuales en columnas HPLC (9). Por esta razón, el atrayente parece lo suficientemente estable para aislarlo por métodos de cromatografía ya conocidos y lo suficientemente pequeño para permitir la determinación de su estructura. El aislamiento del compuesto y el conocimiento de su estructura proveerá un mejor conocimiento de la biología de *D. phyllobius*. El origen biosintético, la significancia fisiológica y las características químicas del compuesto quizás proveerían información importante con relación a las sustancias involucradas en el reconocimiento de hospederos por muchos nematodos fitoparásitos.

En especies vegetales los semioquímicos muchas veces son sintetizados principalmente en órganos específicos y luego son trasladados a otros órganos, frecuentemente frutos, donde se acumulan en altas concentraciones (14). En algunos casos, son transformados a sustancias de diferente actividad biológica durante la maduración de los frutos y la senescencia de la

planta. Es posible que el atrayente de *D. phyllobius* también se encuentra primordialmente en ciertas partes de la planta y que las concentraciones de estos compuestos puedan sufrir cambios durante el desarrollo de la planta. Previo a intentar aislar el atrayente, sería importante saber la distribución espacial y temporal de la actividad atrayente dentro de la planta. Esto permitiría determinar el modo y tiempo óptimo para recoger tejidos para fraccionar químicamente el compuesto atrayente. Además, un conocimiento más amplio sobre los cambios en la concentración del atrayente podría ayudar en la interpretación de cromatogramas y a la vez permitiría comparaciones entre el atrayente y los intensivamente estudiados sapoginas y glicoalcaloides esteroidales (11) de *Solanum* spp. Este trabajo presenta los resultados de un bioensayo basado en la acumulación de nematodos en agar, utilizado para detectar cambios en la actividad atrayente en varios órganos y tejidos de *S. elaeagnifolium*, recolectados de una población natural.

MATERIALES Y METODOS

Recolecciones de plantas: Una población de *S. elaeagnifolium* de 20 m de diámetro fue escogida en una empastada cerca de College Station, Texas, EE.UU. El sitio no había sido regado ni arado durante los tres últimos años. Tampoco fue regado, arado, ni cortado durante el transcurso de las recolecciones de plantas. Plantas representativas fueron recolectadas cada mes entre abril y septiembre de 1990. Las plantas crecieron desde una altura media de 15 cm en abril hasta 70 cm en septiembre. Estas florecieron y fructificaron entre junio y agosto. La floración cesó en septiembre.

En abril, 100 plantas fueron recolectadas. Se cortaron trozos de rizomas, tallos verticales provenientes desde bajo el nivel del suelo, tallos aéreos, y hojas de dos tamaños. Los tejidos de cada clase fueron

procesados en bruto. En mayo, se recolectaron solamente rizomas, tallos verticales subterráneos y tallos aéreos; éstas muestras también fueron procesadas en bruto. En junio, julio, agosto y septiembre, tres plantas fueron recolectadas cada mes y cortadas para proveer rizomas, flores, bayas, brotes del follaje (los ápices de los tallos junto con hojas menos de 0.5 cm de longitud con los meristemas incluidos), tallos de tres categorías (tallos bajos, medios y altos) y hojas de dos clases de tamaño. Los tejidos de la misma clase de cada planta fueron agrupados y procesados por separado. Recolecciones de tejidos adicionales incluyeron la corteza, xilema secundario (la parte leñosa) y la médula de tallos recolectados en julio, y bayas de cuatro clases recolectadas en octubre. Las bayas fueron clasificadas por su color, que cambia de verde a amarillo durante la maduración.

Inmediatamente después de recoger y cortar las plantas, los órganos fueron congelados, luego congelados en seco, molidos a polvo con un molino Wiley y colocados sobre CaSO_4 dentro de un desecador. En la mayoría de los casos, se obtuvieron los pesos frescos de órganos, y después de congelarlos en seco se pesaron nuevamente. Cada muestra en polvo fue procesada como un filtrado extracto acuoso de 6% (p/p) preparado 30 min antes la evaluación. El material de abril fue procesado como extractos acuosos de 0.6% y de 6%.

En octubre las plantas del sitio de origen fueron cortadas y destruidas. Sin embargo, 50 kg de follaje fue recolectado en bruto en un sitio cercano. Este material fue sometido a congelado normal, luego congelado en seco y molido para su posterior uso en un estudio de fraccionamiento químico. Una muestra obtenida al azar de este material fue incluida como testigo estandar.

Bioensayo: El bioensayo se realizó de acuerdo con el método descrito por Robin-

son y Saldaña (9), con algunas modificaciones. Una suspensión de juveniles de *D. phyllobius* altamente móviles fue obtenida al burbujear aire en forma continua por 6 hr a una suspensión de agallas secas empapadas en un volumen grande de agua (4 g/L). Nematodos y pequeñas partículas fueron separados por tamizado del material agallado y transferidos a una bandeja Baermann por 5-12 hr. Los juveniles que pasaron por el papel filtro formaron agregados compactos. Los agregados de nematodos fueron removidos y transferidos a agua continuamente aireada que contenía sales balanceadas diluídas (4.5 mM NaCl, 0.4 mM KCl, 0.05 mM KCl , 0.05 mM CaCl_2), para reducir la tensión de regulación iónica. Bacto-agar fue disuelto en agua destilada (1.5% p/p) conteniendo sales equivalentes a las de la suspensión de nematodos. Partes iguales de la suspensión de nematodos (22 C) y agar (41 C) fueron mezcladas y colocadas en placas de petri de 35 mm de diámetro (2 ml/placa) para lograr una capa de agar de 2 mm de profundidad con alrededor de 6 000 juveniles. Placas fueron expuestas a 4 C para inmovilizar los nematodos y mantenidas allí por 18-36 hr.

Para llevar a cabo un bioensayo, las placas refrigeradas fueron transferidas a 23 C por 30 min. Un disco de papel de filtro (Whatman No. 1) de 3 mm de diámetro, saturado con uno de los extractos y secado al aire libre, fue colocado al centro de la placa. Después de 90 min, se utilizó un sacabocado y una espátula pequeña para remover un cilindro de agar de 5 mm de diámetro conteniendo el disco. En bioensayos anteriores, cada cilindro de agar fue transferido a una placa de contaje donde los nematodos fueron dispersados en agua y contados. Sin embargo, en la mayoría de los bioensayos, los cilindros fueron transferidos individualmente a cavidades de placas de ELISA y sometido

a 100 C por 12 min para derretir el agar. Mientras el agar permanecía caliente, los contenidos fueron mezclados con una aguja de disección y el número de nematodos en cada cavidad fue estimado midiendo la absorción de luz de 530 nm con un lector de fibra óptica (10). Se incluyeron testigos para medir la absorción de luz causada por el agar y el color en cada extracto. Solamente los extractos de bayas tuvieron suficiente color para afectar las lecturas de manera significativa.

Experimentos: Se llevaron a cabo tres series de experimentos. En la primera serie, se compararon en cada experimento los niveles de actividad de todas las clases de tejido recolectadas en una fecha con una serie de diluciones estandar de extracto acuoso de rizomas de mayo. Se preparó un standard de cinco concentraciones entre 6% y 0.06% (p/p).

En la segunda serie, se compararon en cada experimento dos tipos de órganos de todas las fechas de muestreo con una serie de diluciones estandar de extracto acuoso del follaje recolectado en bruto en octubre. En uno de estos experimentos, se compararon los rizomas y los tallos más bajos de abril, mayo, junio, julio, agosto y septiembre; el experimento siguiente incluyó las secciones de tallos de altura intermedia y los más altos de los mismos meses. En otro experimento, se compararon los frutos y las bayas, y en otro, las hojas.

La tercera serie incluyó experimentos misceláneos en que se compararon bayas agrupadas en cuatro categorías de madurez de acuerdo al color (verde a amarillo); la corteza, el xilema secundario y la médula de los tallos recolectados en julio; y enjuagues acuosos y metanólicos obtenidos de la superficie de follaje recolectado en abril. Los enjuagues se obtuvieron sumergiendo el follaje de plantas enteras de peso conocido en el solvente apropiado dentro de un cilindro

graduado de 1 000 ml. Después de agitar el contenido del cilindro ligeramente por 2 min, se removieron las plantas y el solvente fue evaporado con un evaporador rotativo (45 C). El residuo fue redisoluto en un volumen de agua equivalente a lo que sería requerido para preparar un extracto de 6% de tejido del mismo peso seco al de las plantas sumergidas. Cada uno de estos ensayos también incluyó una serie de diluciones estandar de extracto de rizomas de mayo o de follaje de octubre.

La mayoría de los ensayos tuvieron 10 repeticiones para la evaluación de cada muestra en polvo. Las primeras comparaciones de tejidos recolectados en abril-julio fueron las únicas que incluyeron cinco, ocho o nueve repeticiones. Los tratamientos fueron colocados al azar en relación al orden de preparación de las placas. Todos los pasos del ensayo, desde la remoción de placas de 4 C hasta la remoción final de cilindros de agar de las placas, fueron planificados de modo que todas las placas de cualquier experimento fueran expuestas a condiciones experimentales de una misma duración (90 ± 5 min).

Datos estadísticos de los recuentos de nematodos y las medidas de absorción fueron distribuidas exponencialmente. En consecuencia, los datos fueron transformados a \log_{10} previo al análisis de varianza.

RESULTADOS

Los extractos acuosos de rizomas de mayo y follaje de abril, usados como standards experimentales, siempre causaron fuertes acumulaciones de juveniles infectivos alrededor de los discos de papel. En la mayoría de los casos, el cilindro de agar de 5 mm de diámetro abajo del disco tuvo más que 1 000 nematodos. Los nematodos atraídos siempre tuvieron un alto nivel de movimiento, mostrando una migración ác-

tiva y rápida en agar. Normalmente, las diluciones de extracto estandar al 1% no produjeron acumulaciones medibles y fueron iguales a los testigos de agua destilada.

Comparaciones entre todos los órganos recolectados en abril y junio indicaron que los niveles de actividad más altos se encontraron en las partes más bajas de la planta (Cuadro 1). La actividad atractiva medida en ápices del follaje en junio, por ejemplo, fue no más del 3% de la actividad

en los standards concentrados (rizomas de mayo). En la medida que progresó la temporada, el nivel de actividad más alta se encontró en partes aéreas de mayor altura de la planta. En varios casos, se encontraron estadísticamente menos nematodos alrededor de discos tratados con extracto de bayas que en los alrededores de discos tratados con agua, lo cual indica una actividad repelente. Los resultados de los experimentos que compararon tejidos de todas las fechas de recolección (Cuadro 2)

Cuadro 1. Resultados de la primera serie de experimentos, los cuales compararon actividad atrayente a *Ditylenchus phyllobius* en todas las clases de tejidos de *Solanum elaeagnifolium* para cada mes de recolección.

Clase de tejido*	Número de experimento y mes de recolección ^w			
	1 Junio	2 Julio	3 Agosto	4 Septiembre
Bayas	-47	4	21	5
Flores	2	51	— ^y	—
Apices	3	61	68	77
Hojas pequeñas	102	106	112	85
Hojas grandes	116	95	107	83
Tallos altos	58	97	114	99
Tallos intermedios	102	124	145	100
Tallos bajos	111	116	117	77
Rizomas	128	109	113	70
DS ($P = 0.05$) ^z	48	44	39	22
Standard (Rizomas de mayo)				
X	100	100	100	100
X/3	59	87	48	64
X/10	14	30	33	41
X/30	1	3	11	44
X/100	0	0	0	0
DS ($P = 0.05$)	31	22	30	21

Cada valor a la derecha de la lista de tejidos es el promedio de los índices de actividad (IA) de tres plantas (o dos plantas en junio), con ocho (junio), nueve (julio) o diez (agosto y septiembre) repeticiones por planta. El IA en junio y julio es el número de nematodos en un cilindro de agar removido del lugar donde fue puesto previamente el extracto evaluado. En agosto y septiembre, el IA es la absorción de luz del mismo cilindro. Los IA son expresados como porcentaje de la respuesta al extracto estandar (X), después que substraer la respuesta al extracto estandar diluido al 1% (X/100). Recuentos de nematodos y lecturas de absorción fueron transformados al Log_{10} antes del análisis.

^wNo son válidas comparaciones entre valores de experimentos diferentes.

*Polvo de cada tejido fue evaluado como un extracto acuoso de 6% (p/p).

^yTejido no recolectado en cantidad suficiente para evaluar.

^zLa Diferencia Significativa (DS) de tejidos evaluados proviene del error experimental de las tres (o dos) plantas incluídas por mes, mientras que la DS del standard proviene del error experimental de las ocho, nueve o diez placas evaluadas para cada concentración.

Cuadro 2. Resultados de la segunda serie de experimentos, los cuales compararon actividad atrayente a *Ditylenchus phyllobius* en cada clase de tejido de *Solanum elaeagnifolium*, entre todas las fechas de recolección en el mismo experimento.

Mes	Número de experimento ^w y clase de tejido evaluado ^x							
	5		6		7		8	
	Bayas	Flores	Hojas pequeñas	Hojas grandes	Tallos altos	Tallos intermedios	Tallos bajos	Rizomas
Abril	— ^y	—	20	42	—	—	47	71
Mayo	—	—	—	—	—	—	57	83
Junio	-11	34	51	60	59	81	67	71
Julio	23	58	67	57	91	107	85	88
Agosto	-2	—	93	93	90	115	78	88
Septiembre	5	—	94	115	86	99	77	88
DS(P = 0.05) ^z		29		40		20		23
Standard (Follaje de octubre)								
X		100		100		100		100
X/3		80		75		69		42
X/10		46		26		24		20
X/30		31		3		13		27
X/100		0		0		0		0
DS(P = 0.05)		28		20		21		25

Cada valor a la derecha de los meses es el promedio de los índices de actividad (IA) de tres plantas, con diez repeticiones por planta. El IA es la absorción de luz de un cilindro de agar y nematodos alrededor del lugar donde fue puesto el extracto evaluado. Los IA son expresados como porcentaje de la respuesta al extracto estandar (X), después que substraer la respuesta al extracto estandar diluido al 1% (X/100). Lecturas de absorción fueron transformadas al Log₁₀ antes del analisis.

^wNo son válidas comparaciones entre valores de experimentos diferentes.

^xPolvo de cada tejido fue evaluado como un extracto acuoso de 6% (p/p).

^yTejido no recolectado en cantidad suficiente para evaluar.

^zLa Diferencia Significativa (DS) de tejidos evaluados proviene del error experimental de las tres plantas incluídas por mes mientras que la DS del standard proviene del error experimental de las diez placas evaluadas para cada concentración.

indicaron que la actividad en toda la planta, excepto en bayas y flores, incrementó durante el desarrollo de la planta. La tasa de incremento fue mayor en las hojas y tallos que en los rizomas. La presencia de una mayor actividad en las hojas recolectadas en septiembre que en las de abril fue nuevamente comprobada en comparaciones directas entre recolecciones de abril de 1990, septiembre de 1990 y abril de 1991.

En los tallos, el nivel de mayor actividad se encontró en la corteza, aunque la médula en el centro del tallo también fue altamente atrayente (Cuadro 3). El tejido leñoso entre la corteza y la médula, que es principalmente xilema secundario, tuvo una actividad relativamente baja. Este resultado fue consistente con el incremento relativamente bajo en la actividad, en relación al peso seco de los tallos más bajos, los cuales lignificaron durante la estación.

Cuadro 3. Resultados de comparaciones de actividad atrayente en el tallo (diferentes tejidos) y en bayas (diferentes fases de maduración).

Tallo		Bayas	
Tejido	Indice de actividad	Fase de maduración	Indice de actividad
Corteza	127	Verde	50
Xilema	67	Verde amarillento	30
Médula	96	Amarillo verdoso	25
		Amarillo	15
Standard			
(Rizomas de mayo)		(Follaje de octubre)	
X	100	X	100
X/3	89	X/3	75
X/10	31	X/10	55
X/30	0	X/30	20
X/100	0	X/100	0
DS ($P = 0.05$)	23		20

Cada valor es el promedio de 10 repeticiones. Los índices de actividad son expresados como porcentaje de la respuesta al extracto estandar (X), después que substraer la respuesta al extracto estandar diluido al 1% (X/100). No son válidas comparaciones entre valores de bayas y los de los tejidos del tallo.

Las bayas verdes e inmaduras recolectadas en octubre alcanzaron un 10% de la actividad del follaje de las mismas plantas y no hubo actividad detectable en las bayas más maduras (Cuadro 3). Es de interés destacar que muchas de las bayas recolectadas en octubre tuvieron los cálices pegados. No se sabe si la débil actividad detectada provino de las mismas bayas o de cantidades relativamente pequeñas de tejido verde de cáliz asociado con ellas.

Los enjuagues de agua y metanol fueron atrayentes, pero el nivel de actividad, después de concentrados, fue menor al 10% del de los estandares concentrados.

DISCUSION

Aparentemente, la manera más eficiente para obtener cantidades suficientes del atrayente de *S. elaeagnifolium* para uso en estudios de fraccionamiento químico es recolectando el follaje completo tarde en la época de crecimiento. Aunque los ápices del follaje y las flores son relativamente

inactivos, comprenden una porción muy pequeña de la parte aérea de la planta y su remoción de las plantas recolectadas no es necesaria. Debido a que las bayas algunas veces son repelentes, deben ser removidas.

Enjuagues acuosos y metanólicos de la planta solamente proveen una película fina de residuo y ésta probablemente no sería fuente de material suficiente para la determinación de la estructura del compuesto. Sin embargo, es posible que tales enjuagues podrían ser útiles para cromatografía porque probablemente no tienen muchas sustancias presentes en los extractos de tejidos. La gran diferencia entre la actividad medida en abril y septiembre también podría ser una manera para identificar lecturas máximas cromatográficas asociadas con el atrayente.

La presencia del atrayente en los rizomas, como en todos los tallos y hojas desarrollados, es consistente con la distribución de los glicoalcaloides, saponinas y sapogeninas de *Solanum* spp. (11,14). Entre los más estudiados en *S. elaeagnifolium* se encuentran la solasodina, sola-

sodieno, solasurina, solamargina y diosgenina (1,2,5,6). Si el atrayente es un miembro de esta clase de compuestos, es probable que sea una de las formas glicósidas, debido a su alta solubilidad en agua.

El resultado más sorprendente con relación a la biología de *D. phyllobius* fue el bajo nivel de actividad en los ápices del follaje. Estudios de la histopatología de las agallas inducidas en *S. elaeagnifolium* por *D. phyllobius* revelaron que los juveniles infectivos no invaden las hojas extendidas ni los tallos diferenciados (12). Por lo contrario, agallas grandes encontradas en las hojas y tallos que muchas veces pesan más que 5 g, provienen del desarrollo de hojas embrionarias que son infectadas mientras aún están en el verticilo apical. Un alto nivel de actividad en los tallos, y en particular en la corteza, sugiere que el atrayente sirve principalmente para atraer nematodos que se encuentran en el suelo, mientras que otros factores inducen al reconocimiento de sitios de invasión del tejido. Aunque extractos de los rizomas fueron atrayentes, comparaciones directas hechas previamente entre las respuestas de *D. phyllobius* a pedazos de tallos y rizomas en el mismo envase no produjeron atracción hacia los rizomas (8). Esto sugiere que el atrayente dentro de los rizomas no se difunde en el suelo en concentraciones suficientes para afectar el comportamiento de los nematodos en el suelo.

Se necesitan métodos analíticos para medir el atrayente. Hasta que el atrayente pueda ser aislado, no será posible saber si los compuestos repelentes contribuyen a las diferencias en actividad medidas por bioensayo. También debe ser considerado que las gradientes químicas que los juveniles infectivos encuentran corresponden a una película de agua depositada por la lluvia y el rocío, no proveniente desde el interior de los tejidos. Para un conocimiento más claro de la importancia

biológica del atrayente habrá que esperar un mayor desarrollo de métodos analíticos utilizados para medir gradientes de concentración en cantidades ínfimas de agua en el suelo y sobre la superficie del follaje.

AGRADECIMIENTO

Agradezco al Sr. Alan Bridges por su ayuda técnica en todos los aspectos de esta investigación.

LITERATURA CITADA

1. AGUERO, M. S. y R. L. BOLAND. 1985. Effects of saponin extracts from *Solanum elaeagnifolium* fruits on ion uptake by clover seedlings. *Physiologia Plantarum* 63:235-239.
2. APPEL, H. H. y J. WILDGRUBER. 1969. Diosgenina en *Solanum elaeagnifolium* Gay ("tomatillo"). *Scientia* (Valparaiso, Chile) 36:112-114.
3. CANTO-SAENZ, M. y M. MAYER de SCURRAH. 1977. Races of the potato cyst nematode in the Andean region and a new system of classification. *Nematologica* 23:340-349.
4. DUSENBERY, D. B. 1983. Chemotactic behavior of nematodes. *Journal of Nematology* 15:168-173.
5. GUERREIRO, E., O. S. GIORDANA, J. KAVKA y A. T. d'ARCANGELO. 1971. Aislamiento de compuestos esteroidales del *Solanum elaeagnifolium* Cav. *Anales de Química* 67:789-794.
6. NIGRA, H. M., O. H. CASO y A. M. GIULIETTI. 1987. Production of solasodine by calli from different parts of *Solanum elaeagnifolium* Cav. plants. *Plant Cell Reports* 6:135-137.
7. PROT, J. C. 1980. Migration of plant parasitic nematodes towards plant roots. *Revue de Nématologie* 3:305-318.
8. ROBINSON, A. F., C. C. ORR y J. R. ABERNATHY. 1979. Behavioral response of *Nothanguina phyllobia* to selected plant species. *Journal of Nematology* 11:73-77.
9. ROBINSON, A. F. y G. SALDANA. 1989. Characterization and partial purification of attractants for nematode *Orrina phyllobia* from foliage of *Solanum elaeagnifolium*. *Journal of Chemical Ecology* 15:481-495.
10. ROBINSON, A. F., J. A. VEECH y C. M. HEALD. 1992. Counting nematodes with a

- microplate reader. *Journal of Nematology* 24:92-95.
11. SCHREIBER, K. 1968. Steroid alkaloids: the *Solanum* group. Pp. 1-192 in R. H. F. Manske, ed. *The Alkaloids, Chemistry and Physiology*. Academic Press: New York.
 12. SKINNER, J. A., C. C. ORR y A. F. ROBINSON. 1980. Histopathogenesis of the galls induced by *Nothanguina phyllobia* in *Solanum elaeagnifolium*. *Journal of Nematology* 12:141-150.
 13. THORNE, G. 1961. *Principles of Nematology*. McGraw-Hill Book Company: New York. 553 pp.
 14. WALLER, G. R. y E. K. NOWACKI. 1978. *Alkaloid Biology and Metabolism in Plants*. Plenum Press: New York. 294 pp.
 15. ZUCKERMAN, B. M. y H.-B. JANNSON. 1984. Nematode chemotaxis and possible mechanisms of host/prey recognition. *Annual Review of Phytopathology* 22:95-113.
-

Recibido:

1.XI.1991

Received:

Aceptado para publicar:

15.I.1992

Accepted for publication: