EL ORUJO DE ACEITUNA PARA EL CONTROL DE NEMATODOS FITOPARASITOS

R. Rodríguez-Kábana, J. Pinochet² y C. Calvet²

Department of Plant Pathology, Auburn University, Auburn, AL 36849, EE.UU.; y Departamento de Patología Vegetal, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries (IRTA), Ctra. de Cabrils s/n, 08348 Cabrils, Barcelona, España.²

RESUMEN

Rodríguez-Kábana, R., J. Pinochet y C. Calvet. 1992. El orujo de aceituna para el control de nematodos fitoparásitos. Nematrópica 22:149–158.

Se estudió la efectividad de orujo seco de pulpa de aceituna (Olea europaea) como enmienda para el control del nematodo de las agallas bajo condiciones de invernadero en tomate (Lycopersicon esculentum) en un suelo naturalmente infestado por Meloidogyne arenaria. El orujo de aceituna (OA) fue añadido al suelo en dosis de 0, 2, 4, 6, 10, 16 y 20 g/kg de suelo. Cada tratamiento con OA fue combinado con 0.1 y 0.2 g de urea/kg de suelo. Doce días después de la adición de enmienda al suelo, plántulas de tomate fueron transplantadas en macetas con suelo tratado. Las plantas se dejaron crecer durante 45 días. OA sin urea fue fitotóxico para las plantas y no tuvo efectos sobre el agallamiento causado por M. arenaria. OA + tratamientos de urea resultó en un incremento de los pesos de las plantas. OA en dosis de 4-6 g/kg de suelo en combinación con 0.2 g de urea tuvo un efecto supresor sobre el agallamiento y causó un incremento en crecimiento de la planta. En otro estudio, la actividad nematicida de los destilados de OA fue evaluada en condiciones de laboratorio e invernadero. OA dispersado en soluciones de H₂SO₄ fue sometido a reflujo durante 4 hr a 120 C. La concentración de ácido en la mezcla OA-H₂SO₄ varió entre 12.5-75% (v/v) de la concentración estandarizada de H₂SO₄ (gravedad específica = 1.84). La digestión fue destilada en vacío (-1/3 bar). Los destilados fueron evaluados in vitro frente a Pratylenchus vulnus. Todos los destilados resultaron tóxicos para el nematodo. En un ensayo de invernadero los destilados añadidos al suelo (5-20 ml/kg suelo) redujeron significativamente las poblaciones de M. arenaria y H. glycines en dosis superiores a 10 ml/kg de suelo. Estos resultados indican que el OA puede servir como materia prima para preparar enmiendas con propiedades nematicidas.

Palabras clave: desechos agrícolas, enmiendas, control biológico, compost, prácticas culturales, furanos, furfural, Heterodera glycines, Meloidogyne arenaria, nematicidas, olivo, Olea europaea, manejo de desechos.

ABSTRACT

Rodríguez-Kábana, R., J. Pinochet, and C. Calvet. 1992. Olive pomace for control of plant-parasitic nematodes. Nematropica 22:149–158.

The efficacy of dry olive (Olea europaea) pomace as a soil amendment for control of root-knot nematodes was studied in a greenhouse experiment with 'Rutgers' tomato (Lycopersicon esculentum) on a sandy soil naturally infested with Meloidogyne arenaria. Olive pomace (OP) was added to the soil at rates of 0, 2, 4, 6, 10, 16, and 20 g/kg soil. OP was applied alone or in combination with 0.1 and 0.2 g urea/kg soil. Twelve days after addition of the amendments, tomato seedlings were transplanted to pots containing treated soil and were allowed to grow for 45 days. OP without urea was toxic to the seedlings and had no effect on root galling caused by M. arenaria. The OP + urea treatments resulted in increased size and weight of the seedlings. OP at 4-6 g/kg soil in combination with the 0.2 g rate of urea suppressed root galling and resulted in the heaviest and healthiest looking seedlings. In other studies, the nematicidal activity of OP distillates was assessed in the laboratory and greenhouse. Fresh OP dispersed in aqueous H₂SO₄ solutions was refluxed for 4 hr at 120 C. The concentration of acid in the OP-H₂SO₄ mixture was varied from 12.5-75% (v/v) of standard concentrated H₂SO₄ (sp. gravity = 1.84). The digests were distilled under vacuum (-1/3 bar). The distillates were tested in vitro for activity against Pratylenchus vulnus. All distillates were toxic to the nematode. When the distillate obtained from refluxing a mixture of OP with 12.5% H₂SO₄ was added to soil (5-20 ml distillate/kg soil) in a greenhouse experiment, it significantly reduced populations of M. arenaria and Heterodera glycines at dosages > 10 ml/kg soil. Results indicate that OP can serve as raw material for preparation of soil amendments with nematicidal properties.

Key words: agricultural wastes, amendments, biological control, composts, cultural practices, furans, furfural, Heterodera glycines, Meloidogyne arenaria, nematicides, olive, Olea europaea, waste management.

INTRODUCCION

El orujo de aceituna (Olea europaea) es un compuesto residual del prensado en el proceso de extracción del aceite de oliva. En España es abundante y de bajo costo, especialmente en las áreas mediterráneas y región sur de España (4). Este desecho industrial tiene aplicaciones de interés entre las cuales está su utilización como sustrato orgánico para cultivar plantas. Además de tener cualidades nutricionales, recientemente se ha demostrado que el orujo de aceituna compostado posée efectos supresivos sobre Fusarium oxysporum f. sp. dianthi (7). Estos antecedentes junto con la composición, rica en metabolitos intermedios, del orujo fresco (1,6), hacen sospechar que este material pueda tener una acción biocida de mayor espectro. El uso potencial del orujo agregado al suelo sin compostaje podría ser de interés para explotaciones hortícolas intensivas, tanto por sus características nutricionales como por su actividad supresiva frente a patógenos del suelo. En la actualidad se desconoce el efecto de este material sobre nematodos fitoparásitos cuando se le utiliza como mejorador orgánico (enmienda) en el suelo. La eficacia de mejoradores orgánicos en el suelo para controlar nematodos esta comprobada (5,9,10,11, 14). Son eficaces los mejoradores con alto contenido en aminas o nitrógeno amoniacal, que al incorporarse al suelo, pueden generar amoníaco en cantidades nematotóxicas (9,10,11). También, los materiales con alto contenido en quitina, que además de generar nitrógeno amoniacal, estimulan las actividades de la microflora quitinolítica del suelo (2,12). La actividad nematicida de los mejoradores orgánicos se debe principalmente a la acción estimulante que estos ejercen sobre la microflora del suelo (11,12). Debido a la abundancia del orujo de aceituna en regiones productoras de aceite de oliva y a su disponibilidad a bajo precio, se inició un estudio para determinar las posibilidades de su utilización añadiéndolo directamente al suelo, y también como materia prima para la preparación de compuestos con acción nematicida. En este trabajo se presentan algunos de los resultados preliminares de estas investigaciones.

MATERIALES Y METODOS

Orujo como Mejorador Orgánico

Se realizó un experimento bajo condiciones de invernadero en el Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries (IRTA), Cabrils, Barcelona, España. Se utilizó un suelo de un campo en el que previamente se había cultivado con tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) de textura franco arenosa, pH 8.1, porcentaje de materia orgánica < 1% y con una capacidad de intercambio catiónico de 10 meg/100 g de suelo. El suelo estaba altamente infestado por el nematodo agallador, Meloidogyne arenaria (Neal) Chitwood, cuya población después de la recolección y una vez homogenizada, era de 6 000 larvas/250 cm³ de suelo. El suelo se pasó por un cedazo (grosor 5 mm) y luego se dividió en porciones de 0.5 kg en bolsas de polietileno. Se obtuvo pulpa de orujo seco de aceituna de la empresa COREYSA de Osuna, Sevilla. La composición química se adjunta en el Cuadro 1. Los tratamientos fueron los siguientes: 0, 2, 4, 6, 10, 16 y 20 g de orujo/kg de

0.23

0.11

Elementos	Porcentaje (p/p)	Acidos orgánicos y grasos	Porcentaje (p/p)		
Nitrógeno	2.35	Acético	2.93		
Fósforo	0.13	Propiónico	5.62		
Potasio	0.96	Butírico	0.70		

Oléico

Otros

1.08

0.28

0.24

Cuadro 1. Composición del orujo de pulpa de aceituna (*Olea europaea*) utilizado en los experimentos de Auburn e IRTA, Cabrils.

Análisis efectuado por el Laboratori Agrari de la Direcció General de Poducció i Industries Agroalimentaries, Cabrils, Barcelona, España.

suelo infestado; los mismos tratamientos se repitieron en combinación con 0.1 g y 0.2 g de urea/kg de suelo. Los tratamientos se efectuaron añadiendo el orujo y la urea correspondientes a cada bolsa con suelo. Después de mezclar bien el suelo tratado, se traspasó a macetas que se colocaron en una banqueta en el invernadero. Cada tratamiento estuvo compuesto por ocho repeticiones (macetas). Doce días después de establecer los distintos tratamientos, plántulas de tomate cv. 'Rutgers Marglobe' fueron transplantadas, una por maceta. A los 45 días después del trasplante se determinó el número de agallas/planta, agallas por g de raíz, altura de la planta, peso de los tallos y hojas, peso radicular, y pérdidas de plántulas ocurridas durante el estudio. El ensayo se realizó bajo condiciones de invernadero con temperatura controlada (20 a 28 C) y luz artificial (lámparas de sodio). Las plantas se regaron diariamente.

Destilados de Orujo

Calcio

Sodio

Magnesio

El efecto nematicida de los destilados ácidos del orujo se estudió mediante ensayos *in vitro* y de invernadero en el IRTA y en Auburn University. Con ese objetivo el orujo de pulpa fue sometido a una digestión (reflujo) destructiva con ácido sul-

fúrico. Se prepararon varios destilados a partir de mezclas de orujo con varias concentraciones de H₂SO₄. Se partió de cuatro mezclas, que se sometieron a reflujo durante 4 hr a 120 C. Estas fueron: I. 200 ml de H_2SO_4 al 75% (v/v) + 200 g de orujo; II. 200 ml de H₂SO₄ al 50% (v/v) + 200 g de orujo; III. 150 ml de H₂SO₄ al 25% + 200 g de orujo; IV. 200 ml de H₂SO₄ al 12.5% (v/v) + 200 g de orujo. Una vez concluído el tratamiento térmico, las mezclas se dejaron enfriar y luego se destilaron a baja presión (-1/3 atmósfera) con roto evaporador, manteniéndose siempre el matraz con la mezcla en movimiento e inmerso en un baño de agua a 90 C. El período de destilación fue de una hora para cada preparación, recogiéndose el destilado sin fraccionar. Todos los destilados eran cristalinos con un ligero tinte amarillento y tenían los siguientes valores de pH: I = 2.01; II = 2.28; III = 2.82; IV = 2.85. El valor pH del agua destilada utilizada fue 6.85.

Pruebas in vitro: La actividad nematicida de los destilados en condiciones in vitro se estudió con el nematodo lesionador, Pratylenchus vulnus Allen y Jensen, como bioindicador. Las pruebas in vitro se efectuaron en placas petri de 5 cm de diámetro en cada una

de las cuales se colocaron 2 ml del destilado a probar junto con 1 ml de suspensión acuosa de P. vulnus que contenía aproximadamente 1 000 especímenes. Las placas se mantuvieron a temperatura amperiódicamente biente observándose (cada 10 min durante 2 hr). En cada observación que se hizo bajo lupa de disección, se contaron los números de nematodos vivos y muertos determinándose los porcentajes de mortalidad. Cada ensayo constó de cuatro placas por tratamiento, que se mantuvieron en cámara húmeda entre observaciones para evitar su desecación.

A fin de verificar que la acción nematicida no dependía de la acidez se escogió el destilado IV para efectuar unas pruebas adicionales, para lo cual se diluyó este destilado en agua al 10% (solución patrón) y luego, a continuación, se prepararon las siguientes concentraciones a partir de la solución patrón, en volumen: 0, 33, 50, 75 y 100%. También se prepararon las mismas diluciones con el destilado IV después de haberle adicionado CaCO₃ para obtener una solución con pH 5.4. Esta última serie de diluciones se designó como destilado neutralizado. Cada una de estas diluciones se probó de la misma manera descrita para los destilados. La determinación del grado de mortalidad se realizó a las 2 hr del inicio de la prueba.

Ensayo de invernadero: Se efectuó un experimento de invernadero en el Department of Plant Pathology, Auburn University, Auburn, Alabama, EE.UU., con el fín de determinar si el poder nematicida del destilado IV se mantenía cuando era adicionado a una mezcla de suelo con arena. El suelo para el ensayo de textura limo arenoso, se obtuvo de un campo de soya (Glycines max) infestado con el nematodo agallador, M. arenaria y el nematodo quiste de la soya, Heterodera glycines Ichinohe. El suelo tenía un pH =

6.2, un contenido de materia orgánica < 1.0% y una capacidad de intercambio catiónico < 10 meq/100 g de suelo. El suelo se mezcló a partes iguales en volumen con arena fina (grosor < 1 mm). El término suelo designará la mezcla sueloarena en este trabajo. El suelo se dividió en proporciones de 1 kg a las que luego se añadieron las siguientes concentraciones de destilado IV: 0, 5, 10, y 20 ml/kg suelo. El suelo ya tratado con el destilado se traspasó a macetas cilíndricas de 10 cm de diámetro y 1 L de capacidad, con ocho por cada tratamiento. También se incluyó en este experimento un tratamiento con el nematicida aldicarb 15 G (60 mg i.a./maceta) como testigo positivo. Las macetas se colocaron en una banqueta de invernadero en un diseño experimental de bloques completos suelo se mantuvo aleatorizados. \mathbf{El} húmedo (60% capacidad de campo) durante una semana. Previo a la siembra con soya (cv. Davis, 5 semillas/maceta), se tomaron muestras de suelo (100 cm³/ maceta). Las muestras de suelo se procesaron por el método de incubación de Rodríguez-Kábana y Pope (13) para efectuar el análisis nematológico. Después de seis semanas de crecimiento, las plantas de soya se cosecharon y se determinó la altura, peso de tallos y hojas, peso de las raíces, y condición de las mismas. Para esto último se utilizó una escala subjetiva de valores donde 1 = las de mejor aspecto y 5 = las peores. Los parámetros nematológicos medidos fueron el número de quistes (H. glycines) por planta, el número de agallas (M. arenaria) por planta, el índice de agallamiento usando la escala recomendada por Zeck (17) y el número de larvas en 100 cm³ de suelo por el método de incubación ya mencionado.

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante los análisis de varianza apropiados (3,15). Las diferen-

cias mínimas significativas de Fisher se calcularon siguiendo procedimientos usuales (15) cuando los valores F resultaron significativos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Orujo como Mejorador Orgánico

La adición del orujo sin compostar directamente al suelo, tuvo un efecto tóxico sobre las plantas de tomate, que se reflejó claramente en disminuciones en los pesos de los tallos y raíces y en la altura de las plantas (Fig. 1 A–C). La mezcla de urea con orujo aumentó para casi todos los niveles de orujo el peso y el tamaño de

las plantas proporcionalmente a la cantidad de urea utilizada. Los resultados muestran que el efecto fitotóxico del orujo puede ser eliminado con la adición de urea. También se observa que existe una relación entre la cantidad de urea y la dosis de orujo compatibles con el desarrollo de la planta. Es decir, que el efecto detoxificante de la urea se puede ver disminuído si se aumentan las dosis de orujo más alla de un óptimo compatible con el crecimiento de tomate.

El orujo contiene entre otros ácidos orgánicos (Cuadro 1), cantidades relativamente elevadas de ácido propiónico (5.62%), cuyas sales son fungicidas y fitotóxicas (16). La adición de orujo +

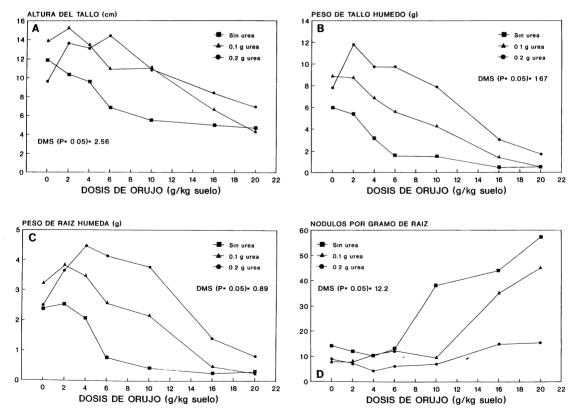


Fig. 1. Efecto del orujo de pulpa de aceituna con y sin urea sobre el desarrollo y agallamiento de plantas de tomate en suelo infestado de *Meloidogyne arenaria* 5 semanas después del transplante. A: Efectos sobre la altura del tallo. B: Peso húmedo del tallo. C: Peso húmedo de la raíz. D: Nódulos por gramo de raíz.

urea al suelo en tratamientos de presiembra permite la rápida descomposición y consecuentemente, la detoxificación del material añadido. La descomposición del orujo en el suelo depende de la actividad microbiana que a la vez está ligada directamente con la relación carbono-nitrógeno (C:N). El orujo sólo contiene 2.35% N, o sea que es deficitario en este elemento, mientras que tiene exceso de carbono (6). La adición de urea disminuye la relación C:N que debe mantenerse entre 12-20 para permitir una rápida descomposición del orujo en el suelo (10,11). El aumento de la actividad microbiana en el suelo está también íntimamente ligado al efecto nematodo-supresor de los mejoradores orgánicos: a mayor actividad microbiana más supresión en el desarrollo poblacional del nematodo (11). Los resultados obtenidos se ajustan perfectamente a este modelo (Fig. 1 D). Así, la incidencia de M. arenaria en las raíces de tomate fue más alta en las macetas con orujo sólo v siempre más baja en las macetas con orujo y urea a las dosis de 0.2 g/kg de suelo. Es evidente que mezclas de orujo a

razón de 4 a 12 g/kg suelo con urea a 0.2 g/kg suelo resultan en un efecto supresor sobre *M. arenaria* que es compatible con el buen crecimiento de las plantas.

La adición de urea sola para combatir *Meloidogyne* spp. no es factible, ya que en la mayoría de los casos y dadas las altas dosis de urea necesarias para obtener efectos nematicidas (10), se produce un aumento en la marchitez y muerte de plántulas a causa de hongos fitopatógenos (e.g., *Pythium* spp. y *Rhizoctonia* spp.).

Destilados de Orujo

Los resultados de la primera prueba in vitro demostraron que los cuatro destilados de orujo fueron nematotóxicos. Todos los nematodos en presencia de los destilados estaban muertos a las dos horas de iniciar la prueba y mostraban síntomas de mortalidad a los 15 min del inicio del experimento. En la segunda prueba, la mortalidad de nematodos con el destilado IV al 10% (solución patrón) en cinco diluciones con y sin neutralizar, fue similar

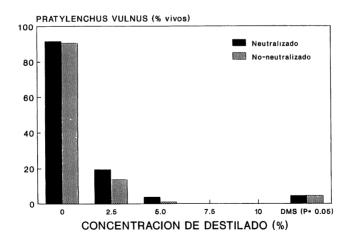


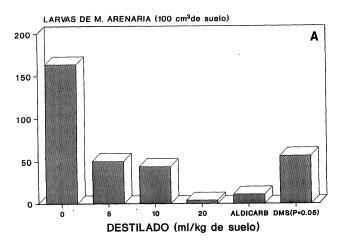
Fig. 2. Relación entre el porcentaje de *Pratylenchus vulnus* vivos después de 2 hr de contacto y la concentración de destilado IV de orujo de aceituna.

(Fig. 2) demostrando claramente que el destilado IV tenía un poder nematicida intrínseco independiente del pH.

En los resultados del ensayo de invernadero se encontró una relación inversa entre el número de estadíos juveniles de *M. arenaria* y de *H. glycines* y la dosis de destilado IV añadida al suelo en las muestras de pre-siembra (Fig. 3 A–B). Las relaciones son hiperbólicas o quasi-hiperbólicas, ya que la mayor parte de la reducción en las poblaciones de ambas especies

se observó con la aplicación de la dosis más pequeña (5 ml/kg de suelo) y que las dosis más altas aumentaron en poco la reducción poblacional obtenida con la dosis de 5 ml. La relación entre las poblaciones de nematodos no parásitos (Rhabditidos y Dorylaimidos) y la dosis de destilado IV (Fig. 4 A–B) fue análoga a las descritas para M. arenaria y H. glycines.

En cuanto a los efectos del destilado IV sobre el crecimiento de la soya 'Davis' y las poblaciones de *M. arenaria* y *H.*



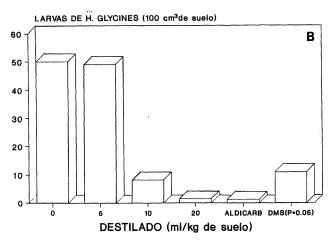
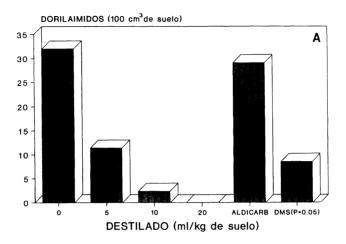


Fig. 3. Efecto del destilado IV de orujo de aceituna sobre nematodos fitoparásitos a los 7 días después de la aplicación a diferentes dosis. A: Poblaciones de juveniles de *Meloidogyne arenaria*. B: Poblaciones de juveniles de *Heterodera glycines*.



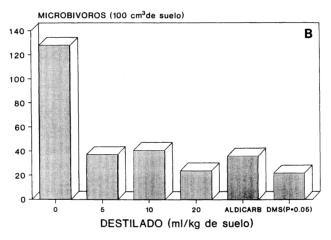


Fig. 4. Efecto del destilado IV de orujo de aceituna sobre poblaciones nematodos saprofitos del suelo a los 7 días después de la aplicación a diferentes dosis. A: Dorylaimidos; B: Microbivoros.

glycines 40 días después de la siembra (Cuadro 2), no se encontraron diferencias entre tratamientos en el peso de tallos y el aspecto de las raíces. La altura de la planta fue significativamente mayor en las dosis de 10 y 20 ml/kg suelo con respecto al testigo. Las dosis de 5 y 10 ml fueron las óptimas para el peso radicular, detectándose un menor desarrollo en la dosis más alta y el nematicida aldicarb lo que podría deberse a una cierta inhibición fitotóxica causada por esos compues-

tos. Sin embargo, hubo diferencias en el menor número de quistes y larvas de *H. glycines* con la dosis de 20 ml y aldicarb, así como un menor número de larvas en la raíz en estos mismos tratamientos con respecto a las dosis de 5 y 10 ml aunque no en relación al testigo. En cuanto al índice de agallas causadas por *M. arenaria*, sólo el tratamiento con aldicarb presentó un agallamiento significativamente inferior a los correspondientes a los otros tratamientos. Los resultados de este en-

Cuadro 2. Efecto de los destilados de pulpa de orujo de aceituna (OA) sobre el crecimiento de soya Davis y poblaciones de *Meloidogyne arenaria* y *Heterodera glycines* 40 días después de la siembra bajo condiciones de invernadero.

Destilado OA aplicado (ml/kg suelo)	Altura planta (cm)	Peso aéreo (g)	Peso raíces (g)	Condición raíz ^x	Quistes (Hg) ^y en 10 g raíz	Larvas (Hg) en 100 cm³ suelo	Larvas (Hg)/g raíz	Indice agallas (0–10)²	Larvas (Ma) en 100 cm³ suelo
0	19.1	2.50	1.53	2.7	9.2	62	24	3.7	1
5	20.9	2.82	1.62	2.4	5.3	66	50	3.0	1
10	21.1	2.69	1.87	2.9	13.4	55	47	4.0	0
20	20.9	2.77	1.27	2.7	0.7	23	23	2.8	2
Temik 15G (60 mg/kg suelo)	20.3	2.89	1.27	3.0	0.0	25	6	0.4	0
LSD. $(P = 0.05)$	0.93	0.65	0.24	0.37	11.8	24	18	1.0	2

Promedio de 8 repeticiones.

sayo indican una mayor efectividad a largo plazo del destilado IV en *H. glycines* que en *M. arenaria*.

La reacción del ácido sulfúrico con pentosanos produce una degradación de estos polisacáridos que mediante una condensación posterior dan lugar a la formación de furanos, e.g., furfural (16). Algunos de estos compuestos volátiles son fuertemente nematicidas (8). El orujo de pulpa de aceituna tiene un alto contenido en xilano por lo que es de esperar que en el proceso de reflujo haya habido formación de furanos, lo que explicaría en parte la actividad nematicida de los destilados. Dada la manera en que se obtuvieron los destilados, también es de esperar que la mayor parte de la composición de los mismos sea agua. Queda aún por determinar la identidad de los compuestos formados de la digestión del orujo + H₂SO₄. Esta determinación se necesitará como un primer paso para realizar una destilación fraccionada que nos permita separar el agua de los demás compuestos.

Este estudio, aunque limitado, indica claramente que se pueden desarrollar productos útiles a partir de materiales de desecho de la agricultura mediante tecnologías sencillas. Durante el estudio, se utilizó la reacción con ácido sulfúrico. Se podría explorar también, dado el alto contenido de xilosa en el orujo, la reacción de Maillard (16), para determinar el grado nematicida de compuestos formados en la reacción entre pentosanes y compuestos aminados.

LITERATURA CITADA

- ESTAUN, V., C. CALVET y J. M. GRASSES. 1985. Chemical determination of fatty acids, organic acids and phenols during olive marc composting process. Acta Horticulturae 172:263–270.
- GODOY, G., R. RODRIGUEZ-KABANA, R. A. SHELBY y G. MORGAN-JONES. 1983. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. II. Effects on microbial population. Nematropica 13:63–74.
- LITTLE, T. M. y F. H. HILLS. 1978. Agricultural Experimentation. John Wiley and Sons: New York.

 $^{^{}x}1 = mejor; 5 = peor.$

^yHg = Heterodera glycines; Ma = Meloidogyne arenaria.

^zEscala de agallamiento de Zeck (0-10).

- MARTI, J. T. 1990. El Olivo. Situación y Perspectivas en Tarragona. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentáries, IRTA, Tarragona, España. 376 pp.
- MULLER, R. y P. S. GOOCH. 1982. Organic amendments in nematode control. An examination of the literature. Nematropica 12:319– 326.
- PAGES, M., V. ESTAUN y C. CALVET. 1985. Physical and chemical properties of olive marc compost. Acta Horticulturae 172:271– 276.
- PERA, J. y C. CALVET. 1989. Suppression of Fusarium wilt of carnation in a composted pine bark and a composted olive pomace. Plant Disease 73:699–700.
- 8. RODRIGUEZ-KABANA, R. y G. WALTERS. 1992. Method for treatment of nematodes in soil using furfural. U.S. Pat. No. 5084477.
- 9. RODRIGUEZ-KABANA, R. 1991. Control biológico de nematodes parásitos de plantas. Nematropica 21:111–122.
- RODRIGUEZ-KABANA, R. 1986. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. Journal of Nematology 18:129–135.

- RODRIGUEZ-KABANA, R., G. MORGAN-JONES y I. CHET. 1987. Biological control of nematodes: soil amendments and microbial antagonists. Plant and Soil 100:237–247.
- RODRIGUEZ-KABANA, R., G. MORGAN-JONES y B. OWNLEY-GINTIS. 1984. Effects of chitin amendments to soil on *Heterodera* glycines, microbial populations, and colonization of cysts by fungi. Nematropica 14:10–25.
- RODRIGUEZ-KABANA, R. y M. H. POPE. 1981. A simple incubation method for the extraction of nematodes from soil. Nematropica 11:175–186.
- SINGH, R. S. y Y. K. SITARAMAIAH. 1970. Control of plant parasitic nematodes with organic soil amendments. PANS 16:287–297.
- STEEL, R. G. D. y J. H. TORRIE. 1960. Principles and Procedures of Statistics. McGraw Hill Book Co., Inc.: New York.
- WINDHOLZ, M. 1976. The Merck Index. 9th ed. Merck & Co., Inc.: Rahway, New Jersey, EE.UU.
- 17. ZECK, W. M. 1971. A rating scheme for field evaluation of root-knot nematode infestations. Pflanzenschutz-Nachrichten 24:141–144.

Recibido:

14.IV.1992

Aceptado para publicación:

20.VII.1992

Received:

Accepted for publication: