

## Extracto etanólico de raíces de yuquilla (*Ruellia tuberosa* L.) para el control de *Sclerotium rolfsii* en pimentón (*Capsicum annuum* L.)

Ethanol extract of (*Ruellia tuberosa* L.) roots for the control of *Sclerotium rolfisii* in pepper (*Capsicum annuum* L.)

J. Riera<sup>1</sup>, M.E. Sanabria<sup>1</sup>, D. Rodríguez<sup>1</sup>, H. Esclante<sup>2</sup> y R. Valera<sup>1</sup>

Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Postgrado Agronomía. Programa Fitopatología. <sup>1</sup>Laboratorio de Microtecnia e Histopatología Vegetal, <sup>2</sup>Laboratorio de Micología. Barquisimeto, estado Lara.

### Resumen

Los metabolitos secundarios (MS) de las raíces de las plantas tienen efecto sobre los microorganismos del suelo. Se identificaron los compuestos secundarios presentes en los extractos etanólicos (EE) de las raíces de *Ruellia tuberosa* y se determinó el efecto sobre el control de la pudrición basal en pimentón (*Capsicum annuum*) ocasionada por *Sclerotium rolfisii*. La identificación de los grupos de MS se realizó por cromatografía de capa fina y el EE se aplicó a las plantas de pimentón, a las cuales se les indujo la pudrición basal. En el estudio fitoquímico del EE se identificaron aceites esenciales, fenoles totales y flavonoides. Se logro más del 60% de la inhibición del crecimiento micelial al 7,5 y 10,0%; al 20 y 30%, lo redujo totalmente, así como también la formación de esclerocios y la incidencia de la enfermedad, se redujeron considerablemente, más no de la severidad, que aunque fue alta, no indujo la muerte de las plantas cuando el EE se le aplicó al 30%.

**Palabras clave:** control biológico, pudrición basal, fenoles, flavonoides.

### Abstract

The secondary metabolites (MS) present in the roots of the plants have an effect on the soil microorganisms. The present research was conducted in order to identify the secondary compounds present in the ethanol extracts (EE) of *Ruellia tuberosa* roots and determining the effect on the control collar rot in paprika

---

Recibido el 22-11-2012 • Aceptado el 30-6-2014

Autor de correspondencia e-mail: mesanabria@ucla.edu.ve; rdorian@ucla.edu.ve; horciesclante@ucla.edu.ve; rosariovalera@ucla.edu.ve

(*Capsicum annuum*) caused by *Sclerotium rolfsii*. The identification of groups of MS was performed by thin layer chromatography and EE was applied to pepper plants, to which were induced basal rot. Phenols, essential oils and flavonoids were found in the EE. Was achieved over 60% inhibition of mycelial growth and 10.0 and 7.5 and 10%, at 20 and 30%, fully reduced. Thus the formation of sclerotia by the pathogen, and the disease incidence was significantly reduced but not in severity, though it was high, but did not induce death of pepper plants when EE was applied to 30%.

**Key words:** biological control, basal rot, phenols, flavonoids.

## Introducción

*Sclerotium rolfsii* es un hongo del suelo, que ataca más de 180 especies vegetales en la región tropical y subtropical (Aycok, 1961). En Venezuela, es común atacando plantas, incluyendo el cultivo de pimentón (*Capsicum annuum* L.), en diversas fases del desarrollo e inclusive en postcosecha. La enfermedad que produce éste patógeno es la pudrición basal del tallo, ocasionando pudrición radical y del cuello. Las medidas de control comúnmente utilizadas son aspersiones de agroquímicos dirigidas a la base del tallo, rotación de cultivos y encalamiento de suelos ácidos (Díaz y Castro, 1977).

En la búsqueda de estrategias para el control de hongos patógenos, las plantas representan una opción por contener sustancias tóxicas en sus raíces y hojas, conocidos como metabolitos secundarios, que inhiben el crecimiento de microorganismos y otros vegetales, como es el caso del diente de león (*Taraxacum officinale* L.) y el ajeno (*Artemisia absitium* L.) (Mejías, 1992). En este mismo sentido, Luque (2012) determinó el efecto *in vitro* de los extractos etanólicos (EE) foliares y de cormos de corocillo (*Cyperus rotundus* Linn.) en el con-

## Introduction

*Sclerotium rolfsii* is a soil fungus that attacks more than 180 vegetal species in the tropical and subtropical region (Aycok, 1961). In Venezuela, this fungus is known, because it attacks many plants, including the crop of pepper (*Capsicum annuum* L.) on its different development's phase, even during the post-harvest. The disease this pathogen produces is the basal rot of the stem, causing radical and neck rottenness. The common security measures used are agrochemical aspersions applied to the base of the stem, rotation of the crops and whitewashing of acid soils (Díaz and Castro, 1977).

The plants represent an option when looking for control strategies of pathogen fungi, since plants contain toxic substances on the roots and leaves, known as secondary metabolites, which inhibit the growth of micro-organisms and other vegetables, such as in dandelion (*Taraxacum officinale* L.) and wormwood (*Artemisia absitium* L.) (Mejías, 1992).

On this matter, Luque (2012) determined the *in vitro* effect of foliar ethanol extracts (EE) *Cyperus rotundus* Linn. corms, in the control

trol de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, reportando más del 60% de inhibición del crecimiento micelial del patógeno (ICM), cuando el EE se aplicó al 5% y 10%, respectivamente, la inhibición total de la esporulación, con el foliar al 5,5% y un incremento del porcentaje de germinación, en todos los tratamientos. Por su parte, Lozano *et al.* (2000) evaluaron el efecto de formulaciones de hidrolatos de ajo y cebolla en el desarrollo de *S. cepivorum*, demostrando que cuando se preparó el producto a dosis mayores al 20%, se presentó un efecto inhibitorio en la producción de esclerocios. El extracto de ajo, al 20% inhibió el crecimiento micelial y por debajo de esta misma concentración, estimuló la producción de esclerocios.

Los EE representan una alternativa más responsable para con el ambiente. Es por ello que en este trabajo, se planteó como objetivo identificar los metabolitos secundarios en el extracto obtenido a partir de raíces de yuquilla (*Ruellia tuberosa* L.) y determinar el efecto sobre el control de la pudrición basal en pimentón (*Capsicum annuum* L.) ocasionada por *Sclerotium rolfsii* Sacc.

## Materiales y métodos

**Obtención de los EE:** raíces frescas de plantas silvestres de yuquilla en estado reproductivo, fueron lavadas en agua corriente para remover las partículas de suelo, molidas en una licuadora convencional y maceradas en etanol (96%) por 12h. Con la ayuda de un rotavapor, se eliminó el solvente y se obtuvo el EE, el cual se preservó a 8°C, hasta su uso para la identificación de los grupos de MS y de las pruebas biológicas.

of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, reporting more than 60% of the pathogen growth inhibition (PGI), when EE was applied 5% and 10% respectively, the total inhibition of the sporulation with a foliar at 5.5% and a germination percentage increment, in all the treatments.

On the other hand, Lozano *et al.* (2000) evaluated the formulation effect of garlic and onion hidrolate in the development of *S. cepivorum*, showing that when the product was prepared at doses higher than 20%, an inhibitory effect was evidenced in the production of sclerotium. The garlic extract at 20% inhibited the mycelial growth, and under the same concentration, it stimulated the production of sclerotium.

EE represent the most responsible alternative with the environment. For this reason, the aim of this research is to identify the secondary metabolites in the extract obtained after *Ruellia tuberosa* L. roots, and to determine the effect on the control of the basal rot in pepper (*Capsicum annuum* L.) caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc.

## Materials and methods

**Obtaining the EE:** fresh wild plants of *Ruellia tuberosa* L. under reproductive phase were washed with tap water to remove the particles of the soil; later were ground in a conventional blender and macerated in ethanol (96%) for 12h. The solvent was eliminated using a rotavapor, and the EE was obtained, which was preserved at 8°C until its use for identifying the groups of DM and the biological tests.

La identificación y cuantificación de grupos de MS en los EE se realizó por cromatografía de capa fina siguiendo la metodología de Marcano y Hasegawa (2002) y Vásquez *et al.* (2008).

#### **Evaluación del efecto *in vitro* del EE de las raíces de yuca sobre *S. rolfsi***

El patógeno se obtuvo de la colección del Laboratorio de Micología (UCLA), se multiplicó en medio papa-dextrosa-agar (PDA) hasta la formación de los esclerocios, lo cual ocurrió entre los 5 y 10 días. El EE a las concentraciones de 0; 2,5; 5; 7,5; 10; 15; 20; 25 y 30%, se agregó al PDA, se dispuso en cápsulas Petri estériles, se colocó un esclerocio en el centro de cada una y se incubó a 26°C. El diámetro de la colonia se midió diariamente, hasta que en el testigo el crecimiento del micelio ocupó toda la cápsula. El ensayo se mantuvo hasta la formación de esclerocios. El diseño fue completamente al azar con cinco repeticiones. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM) aplicando la fórmula:

$$\text{ICM} = (\text{CTT}-\text{CTE}) \text{CTT}^{-1} 100$$

Donde, ICM: Inhibición del crecimiento micelial (%). CTT: Crecimiento micelial en el testigo (0%) y CTE: Crecimiento micelial en el tratamiento evaluado.

Con los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza y la comparación de medias, mediante la prueba de Tukey.

#### **Evaluación del efecto *in vivo* del EE de las raíces de yuca sobre *S. rolfsii***

La evaluación *in vivo* se realizó bajo las condiciones de Tarabana,

The identification and quantification of DM in EE was performed by fine layer chromatography, following the methodology proposed by Marcano and Hasegawa (2002) and Vásquez *et al.* (2008).

#### ***In vitro* evaluation effect of EE of *Ruellia tuberosa* L. roots on *S. rolfsi***

The pathogen was obtained from the collection of the Mycology Laboratory collection (UCLA), was multiplied in a potato-dextrose-agar media (PDA) until the formation of sclerotium, which occurred from day 5 to 10. PDA was added to EE at concentrations of 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25 and 30%, later put on sterile Petri plates, and sclerotio was added in the middle of each and incubated at 26°C.

The diameter of the colony was measured daily, until the mycelial growth in the witness occupied all the plate. The essay kept until the formation of sclerotium. A completely randomized design with five replications was used. The inhibition percentage of the mycelial growth was calculated (PGI) applying the formula:

$$\text{ICM} = (\text{CTT}-\text{CTE}) \text{CTT}^{-1} 100$$

Where, PGI: inhibition of the mycelial growth (%). Mycelial growth in the witness (0%) and MGE: Mycelial growth on the evaluated treatment.

With the data obtained, a variance analysis was carried out as well as the Tukey mean comparison test.

#### **Evaluation of the *in vivo* effect of EE of *Ruellia tuberosa* L roots on *S. rolfsii***

*In vivo* evaluation was carried out under the Tarabana conditions,

estado Lara, ubicada a 10°01' LN y 69°17' LO, a 510 msnm; con valores anuales de precipitación, evaporación y temperatura de 662 mm, 2385 mm y 24,9°C, respectivamente, bajo cubierta, con plántulas de pimentón de la variedad Cacique, de 45 d de edad, trasplantadas a bolsas negras con un sustrato estéril de tierra negra y cáscara de arroz (1:1), el riego cada 2 d y fertilización semanal, 12-24-12 a razón de 1 g.bolsa<sup>-1</sup>. Se usó un diseño completamente al azar, con 15 plantas por cada tratamiento y éstos consistieron en: T1: inoculación y EE (10%); T2: inoculación y EE (20%); T3: inoculación y EE (30%); T4: Testigo absoluto, sin inocular, sin EE y T5: Testigo inoculado, sin EE. La inoculación se realizó colocando tres esclerocios enterados a 1 cm del cuello de la planta. Al octavo día, de la aplicación de los tratamientos, a razón de 3 mL.planta<sup>-1</sup> y se continuó cada 8 d, por 6 semanas. Se evaluó del número de plantas enfermas (incidencia) y el tamaño de la lesión a nivel de cuello de la planta (severidad), durante seis semanas. Con los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza y la comparación de medias, mediante la prueba de Tukey.

## Resultados y discusión

### Identificación y cuantificación de los grupos de metabolitos secundarios en extracto etanólico de raíces de *R. tuberosa*

Se detectaron fenoles totales, flavonoides y aceites esenciales obteniéndose de los dos primeros

Lara state, located at 10°01' NL and 69°17' WL at 510 masl; with annual values of rainfall, evaporation and temperature of 662 mm, 2385 mm and 24.9°C respectively, under shed with 45-year old pepper seedlings of the Cacique variety, transplanted to black bags with a black-land sterile substrate and rice peels (1:1), irrigation every 2 d and weekly fertilization, 12-24-12 at a reason of 1g.bag<sup>-1</sup>. A randomized design with 15 plants per treatments was used, consisting on: T1: inoculation and EE (10%); T2: inoculation and EE (20%); T3: inoculation and EE (30%); T4: absolute witness without inoculation and without Ee, T5: inoculated witness without EE. The inoculation was done putting three sclerotium 1 cm from the neck of the plant. On the eighth day of the application 3 mL.plant<sup>-1</sup>, and continued until 8 d, for 6 weeks. The number of sick plants was evaluated (incidence) and the size of the lesion on the neck of the plant (severity) for six weeks. With the data obtained, a variance analysis was done and the mean Tukey test.

## Results and discussion

### Identification and quantification of the secondary metabolite groups in the ethanol extract of *R. tuberosa* roots

Total phenols, flavonoids and essential oils were detected, obtained from the first two 112.25 and 28.36 mg.mL<sup>-1</sup>, respectively. These MS have also been detected on radical exudates of numerous of plants, with relevant biological activities (Oliveros *et al.*, 2009). The same groups were reported

112,25 y 28,36 mg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Estos MS han sido detectados también en exudados radicales de numerosas plantas, encontrándose, además, con actividades biológicas relevantes (Oliveros *et al.*, 2009). Los mismos grupos fueron reportados por Fortul *et al.* (2009) en los clones de bananos 'Grand Nain' (*Musa* AAA) y 'Manzano' (*Musa* AAB).

**Efecto *in vitro* del extracto etanólico de raíces de *R. tuberosa* sobre el crecimiento micelial y la formación de esclerocios por *S. rolfssii***

Todos los tratamientos con EE provocaron una reducción del crecimiento micelial del hongo, éste efecto fue directamente proporcional a las concentraciones utilizadas. Se presentaron diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) en el ICM al 7,5 y 10,0%, dosis éstas que resultaron ser las más efectivas, con valores superiores al 60% (cuadro 1). Al 20 y 30%, redujo totalmente el crecimiento del hongo. El efecto inhibitorio pudo ser responsabilidad de los MS detectados, juntos o de manera individual, ya que tanto a fenoles como flavonoides, se les han atribuido funciones relacionadas con la defensa contra patógenos (Marcano y Hasegawa, 2002) y entre las actividades biológicas atribuidas a la yuquilla, se ha señalado la antimicrobiana (Guevara *et al.*, 2000; Chothani *et al.*, 2010).

En cuanto a producción de esclerocios de *S. rolfssii in vitro*, se presentaron diferencias significativas, con una reducción en el número de estas estructuras, a medida que se incrementó la concentración del EE (cuadro 1). Los EE no inhibieron si no que retrasaron la formación de

for Fortul *et al.* (2009) in banana clones "Grand Nain" (*Musa* AAA) and Manzano (*Musa* AAB).

***In vitro* effect of the ethanol extract of *R. tuberosa* roots on the mycelia growth and the formation of sclerotium of *S. rolfssii***

All treatments with EE provoked a reduction of the mycelial growth of this fungus; this effect was directly proportional to the concentrations used. Significant differences ( $P < 0.01$ ) were presented in PGI at 7.5 and 10.0%, doses that resulted to be the most effective, with values superior to 60% (table 1). At 20 and 30%, the growth of the fungus reduced totally.

The inhibitor effect might be the responsible of the detected MS, together or individually, since for both phenols and flavonoids, functions related to the defense against pathogens have been attributed (Marcano and Hasegawa, 2002), and among the activities attributed to *Ruellia tuberosa* L, is the anti-microbial (Guevara *et al.*, 2000; Chothani *et al.*, 2010).

Regarding the sclerotium production of *in vitro S. rolfssii* presented significant differences, with a reduction in the number of these structures at the time that increased the concentration of EE (table 1). EE did not inhibit, but instead, delayed the sclerotium formation for three days, compared to the witness (data not shown).

The EE effect on fungi has been proved by Lozano *et al.* (2000) for the conidials produced by *Botrytis allium* Munn and sclerotium of *S. cepivorum* Berk, with the concentration increment of EE in onion; as well as by Alvarado

**Cuadro 1. Efecto del extracto etanólico de raíces de yuquilla (*Ruellia tuberosa*) sobre el número de esclerocios producidos por *S. rolfsii* Sacc.**

**Table 1. Effect of the ethanol extract of *Ruellia tuberosa* roots on the number of sclerotium produced by *S. rolfsii* Sacc.**

Concentración de <i>R. tuberosa</i> (%)	Inhibición de crecimiento micelial(%)	Disminución de número de esclerocios (%)
2,5	26 <sup>d</sup>	33,3 <sup>ab</sup>
5	43,8 <sup>c</sup>	30,8 <sup>ab</sup>
7,5	60,53 <sup>b</sup>	25,8 <sup>b</sup>
10	67,87 <sup>a</sup>	40,6 <sup>a</sup>
SIGNIFIC		**
CV		8,21

esclerocios por tres días, en comparación con el testigo (datos no mostrados). El efecto de los EE sobre hongos ya había sido demostrado por Lozano *et al.* (2000) para conidios producidos por *Botrytis allium* Munn y esclerocios de *S. cepivorum* Berk, con el incremento de la concentración del EE de cebolla; así mismo, por Alvarado *et al.* (2011), utilizando EE de orégano (*Lippia origanoides* K) y neem (*Azadirachta indica* A. Juss), solos o combinados sobre el crecimiento micelial y la formación de esclerocios de *S. rolfsii* y *S. cepivorum*, donde ambos EE suprimieron totalmente.

**Efecto del extracto etanólico de raíces de *R. tuberosa* sobre la incidencia y severidad de la pudrición basal en pimentón**

Las concentraciones aplicadas tuvieron efecto sobre la incidencia de la enfermedad (número de plantas muertas/número de plantas totales), pero no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (cuadro 2). El porcentaje más alto de incidencia,

*et al.* (2011), using EE of oregano *Lippia origanoides* K) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss), alone or combined on the mycelia growth, and the formation of sclerotium of *S. rolfsii* and *S. cepivorum*, where both EE suppressed totally.

**Ethanol extract effect of *R. tuberosa* roots on the incidence and severity of the basal rot in pepper**

The concentrations applied had an effect on the incidence of the disease (number of dead plants/number of total plants), but none significant differences were presented among the treatments (table 2). The highest incidence percentage (40%) was observed when EE was applied at 20%, and in the inoculated witness 10% of incidence, at 30% was obtained 33.3% of incidence. These results suggest that applying EE at 10% required less quantity of the product.

Regarding the severity of the disease, a progressive increment of it was observed during the time, without statistical differences among the

**Cuadro 2. Efecto de los tratamientos con extractos etanólicos de raíces de yuquilla (*Ruellia tuberosa*) sobre la severidad ocasionada por *S. rolfsii* Sacc. en plantas de pimentón (*Capsicum annum*).**

**Table 2. Effect of the treatments with ethanolic extracts of *Ruellia tuberosa* roots on the severity caused by *S. rolfsii* Sacc. in pepper plants (*Capsicum annum*).**

Tratamiento	Incidencia (%)	Severidad (%) <sup>1</sup>			
		15 DDI	22 DDI	29 DDI	36 DDI
10%EE+Hongo	33,33	60,00	76,07	85,87	98,95
20%EE+Hongo	40,00	71,25	85,71	79,37	87,72
30%EE+Hongo	33,33	63,75	82,71	79,37	91,23
Sin EE, sin H	0,00	0,00	0,00	0,00	0
Sin EE, con H	40,00				
CV		21,1	23,64	18,05	14,94

<sup>1</sup>Severidad calculada en base al valor del testigo (sin EE, con H). EE= extracto etanólico; -EE= Sin extracto etanólico; +EE= Con extracto etanólico; DDI= días después de inoculación.

(40%) se observó cuando se aplicó el EE al 20% y en el testigo inoculado; 10% de incidencia y al 30%, se obtuvo un 33,3% de incidencia. Estos resultados sugieren que aplicar el EE al 10% requiere menor cantidad del producto.

En cuanto a la severidad de la enfermedad, se observó un aumento progresivo de la misma en el tiempo, sin diferencias estadísticas entre los tratamientos y con valores muy altos. Sin embargo, aunque la severidad fue alta, no se presentaron plantas muertas en el tratamiento con EE al 30% (cuadro 3), lo cual permitió inferir que la pudrición basal no alcanzó los haces vasculares y la planta fue capaz de continuar con su desarrollo.

## Conclusiones

En el extracto etanólico de las raíces de yuquilla se identificaron

treatments and with very high values. However, though the severity was high, none dead plants were presented with the treatment with EE at 30% (table 3), which allows inferring that the basal rot did not reach the vascular axes and the plant was able to continue with its development.

## Conclusions

In the ethanol extract of *Ruellia tuberosa* L. roots were identified total phenols, flavonoids and essential oils.

The EE of *Ruellia tuberosa* L. roots was effective against *Sclerotium rolfsii* and when was applied to the plant it presented a limited preventive effect on the witness of the basal rot in pepper.

*End of english version*

**Cuadro 3. Número de plantas de pimentón (*Capsicum annum*) muertas después de la inoculación con *S. rolfsii* Sacc. y con aplicación de extracto etanólico de raíces de yuquilla (*Ruellia tuberosa*).**

**Table 3. Number of dead pepper plants (*Capsicum annum*) after the inoculation with *S. rolfsii* Sacc. and with the application of ethanol extract of *Ruellia tuberosa* roots.**

Tratamientos con EE (%)	Plantas muertas				
	15DDI	22DDI	29DDI	36DDI	Total
10	0	0	1	2	3
20	0	0	4	0	4
30	0	0	0	0	0
Testigo	0	3	3	0	6

DDI = días después de inoculadas

fenoles totales, flavonoides y aceites esenciales.

El EE de raíces de yuquilla fue efectivo contra *Sclerotium rolfsii* y cuando fue aplicado en la planta presentó un efecto preventivo limitado sobre el testigo de la pudrición basal en pimentón.

### Literatura citada

Alvarado, S., D. Ulacio, M.E. Sanabria y J. Pineda. 2011. Compatibilidad *in vitro* de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* y su efecto en el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Sclerotium cepivorum* Berk. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas. 45(3):217-236.

Aycock, R. 1961. Simposium on *Sclerotium rolfsii*. Phytopatology. 51:107-127.

Chothani D., M. Patel, S. Mishra y H. Vaghasiya. 2010. Review on *Ruellia tuberosa* (Cracker plant). Phcog J. 2(12):506-512.

Díaz, P. y J.L. Castro. 1977. Estudio sobre el control biológico de *Sclerotium rolfsii*. Agronomía Tropical 29:539-547.

Fortoul, G., D. Rodríguez, M.E. Sanabria y R. Valera. 2009. Comparación de caracteres anatómicos y morfológicos de raíces de cambur Manzano (*Musa AAB*) y Gran Enano (*Musa AAA*). UDO AGRICOLA 9(2):376-382.

Guevara, Y., A. Maselli y M. del C, Sánchez. 2000. Los extractos acuosos vegetales en el control de bacterias fitopatógenas. FONAIAP DIVULGA No. 66.

Lozano, T., S. Córdova, S. Avila y R. Velosa. 2000. Evaluación del efecto de hidrolatos de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla junca (*Allium fistulosum*), en el desarrollo de dos hongos fitopatógenos *Botrytis allium* y *Sclerotium cepivorum*. Fitopatología Colombiana 24(1):29-32.

Luque, Y. 2012. Determinación del efecto de extractos acuosos y etanólicos de corocillo (*Cyperus rotundus* Linn.) en el control de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de la antracnosis en fresa (*Fragaria* sp.). Trabajo de grado presentado como requisito parcia Para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). 56p.

- Marcano, D. y M. Hasegawa. 2002. Fitoquímica Orgánica. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas, Venezuela. Editorial Torino. 588 p.
- Mejías, J. 1992. La alelopatía o las afinidades y rechazos de las plantas. Carta Ganadera. 29(2):11-13.
- Oliveros, A., F. Macías, C. Carrera, D. Marín, J. Molinillo. 2009. Exudados de la raíz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas. Quím. Nova 32(1):198-213.
- Vásquez, C., O. Aponte, J. Morales, M. E. Sanabria y G. García. 2008. Biological studies of *Oligonychus punicae* (Acari: Tetranychidae) on grapevine cultivars. Exp. Appl. Acarol. 45:59-69.