

Extração dos Espécimens de *Meloidogyne* das Raízes de Tomateiros pela Técnica do Liquidificador

JOÃO M. CHARCHAR¹, VALTER R. OLIVEIRA¹ & FERNANDO A.S. ARAGÃO¹

¹Embrapa Hortaliças, C.P. 0218, CEP 70359-970, Brasília, DF. E-mail: charchar@cnph.embrapa.br

Recebido para publicação em 30/07/2005. Aceito em 30/11/2006.

Resumo – Charchar, J.M.; V.R. Oliveira & F.A.S. Aragão. 2006. Extração dos espécimens de *Meloidogyne* das raízes de tomateiros pela técnica do liquidificador.

A extração e quantificação dos espécimens de *Meloidogyne* das raízes são indispensáveis para a determinação do fator de reprodução (FR) dos nematóides nos ambientes cultivados. Vários métodos foram propostos para a extração dos espécimens das raízes, sendo que nenhum extrai os diferentes estádios em único processamento. Neste trabalho avaliou-se, em único processamento, a técnica do liquidificador para extração e quantificação dos diferentes espécimens de *Meloidogyne* spp. das raízes de duas cultivares de tomate. Raízes de tomateiro ‘Rutgers’ infectadas com as espécies *M. incognita* raça 1, *M. javanica* e *M. petuniae* coletadas na casa de vegetação e de ‘TSW-10’ infectadas com *M. brasiliensis* coletadas no campo foram processadas pela técnica do liquidificador em baixa velocidade (± 1.000 rpm), com hipoclorito de sódio a 0,5% nos tempos de 10, 20, 30 e 40 segundos. O processamento por 30 segundos extraiu o maior número dos espécimens intactos de *Meloidogyne* spp. das raízes de tomateiros que nos tempos de 10, 20 e 40 segundos. O número total dos espécimens extraídos nos tempos de 10, 20 e 40 segundos foi 71,6, 51,2 e 3,3% menor, respectivamente, em relação ao tempo de 30 segundos.

Palavras-chave: nematóides de galhas, processamento de raiz, estádios, quantificação, fator de reprodução.

Summary – Charchar, J.M.; V.R. Oliveira & F.A.S. Aragão. 2006. Extraction of *Meloidogyne* specimens from tomato roots using the liquidizer technique.

The extraction and quantification of *Meloidogyne* specimens from roots is important for determining the nematode reproduction factor in cultivated systems. Many methods have been proposed for extracting *Meloidogyne* specimens from roots, but none of them extracts all life stages in only one processing. This paper reports the use of liquidizer technique for extraction and quantification of *Meloidogyne* spp. stages from roots of two tomato cultivars, using a single procedure. Roots of ‘Rutgers’ infected with *M. incognita* race 1, *M. javanica* and *M. petuniae* from greenhouse, and of ‘TSW-10’ infected with *M. brasiliensis* from field, were processed by using the blender technique at low speed (± 1.000 rpm) with sodium hypochlorite 0.5% for times of 10, 20, 30, and 40 seconds. Blending the roots for 30 seconds extracted most entire specimens of all life stages, compared to procedures of 10, 20, and 40 seconds. The total number of specimens extracted at times of 10, 20, and 40 seconds was 71.6, 51.2 and 3.3% lower, respectively, in relation to procedure of 30 seconds.

Keywords: root-knot nematodes, root processing, life stages, quantification, reproduction factor.

Introdução

Os nematóides do gênero *Meloidogyne*, também conhecidos como nematóides de galhas, estão entre os parasitas de plantas que mais causam danos econômicos

às culturas, principalmente às hortaliças (Taylor & Sasser, 1978). Na região de cerrados do Centro-Oeste do Brasil, as hortaliças afetadas por nematóides de galhas apresentam grandes perdas na época de verão, quando as temperaturas são elevadas e os solos mais infestados (Charchar, 1995).

A quantificação dos estádios de nematóides do gênero *Meloidogyne* que infectam raízes é muito difícil, pois os juvenis de terceiro (J3) e quarto (J4) estádios e de fêmeas adultas são endoparasitas sedentários. Portanto, quanto maior a precisão na extração e quantificação dos espécimens internos às raízes e no solo, mais preciso é o valor do fator de reprodução (FR) dos nematóides nos ambientes cultivados (Oostenbrink, 1966; Charchar & Aragão, 2003).

Vários métodos foram utilizados para extração e quantificação dos espécimens de *Meloidogyne* nas raízes de plantas. Hussey & Barker (1973) quantificaram ovos e juvenis de segundo estágio (J2) recém eclodidos de *Meloidogyne* spp. por forte agitação das raízes com hipoclorito de sódio. Os estádios de J3, J4 e fêmeas foram quantificados por clareamento e coloração da raiz, respectivamente, com hipoclorito de sódio e ácido de fucsina (Byrd et al., 1983). Diversas enzimas fúngicas ou sintéticas foram utilizadas na extração de fêmeas intactas de raízes infectadas por *Meloidogyne*, no entanto esses métodos, além de demorados e dispendiosos, são específicos para extração de fêmeas adultas (Dropkin et al., 1960; Hussey, 1971; Carneiro et al., 1999; Júlio et al., 2003).

Os processos citados extraem um ou outro estágio isoladamente, necessitando-se, em certos casos, o uso de dois ou mais processos distintos para extração dos diferentes estádios de *Meloidogyne* das raízes. Charchar & Lopes (1991) extraíram com sucesso ovos, J2 e fêmeas de *M. incognita* raça 1 das raízes de chuchuzeiro (*Sechium edule* Sw.), pela técnica do liquidificador na velocidade baixa (± 1.000 rpm), no tempo de 30 segundos de processamento com hipoclorito de sódio a 1%.

O objetivo deste trabalho foi estabelecer um processamento simples, rápido e abrangente para extração dos diferentes estádios de *Meloidogyne* spp. das raízes de duas cultivares de tomate, pelo uso da técnica do liquidificador.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na casa de vegetação, campo experimental e laboratório de Nematologia da Embrapa Hortaliças, Brasília-DF. Para a multiplicação de *Meloidogyne* spp., vasos de plástico preto com capacidade para 3 kg foram preenchidos com substrato padronizado da Embrapa Hortaliças, composto de solo de cerrado, areia lavada e palha de arroz parcialmente queimada na proporção de 1:1:1 em peso. Mudas de tomateiro 'Rutgers' com 20 dias

de idade foram transplantadas para 90 vasos, uma muda por vaso, contendo o substrato adubado com 10 g da formulação 4-14-8 por vaso e mantidas na casa de vegetação.

Sete dias após o transplante, 30 mudas de tomate foram inoculadas com 6.000 ovos e J2 recém eclodidos das espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, 1949, raça 1; *M. javanica* (Treub) Chitwood, 1949 e *M. petuniae* Charchar et al., 1999, isoladamente. As mudas de tomate na casa de vegetação foram irrigadas quando necessário.

Simultaneamente ao transplante das mudas de 'Rutgers', na casa de vegetação, procedeu-se ao transplante no campo de mudas de tomateiro 'TSW-10' com 20 dias de idade, inoculadas com 6.000 ovos e J2 de *M. brasiliensis* (Charchar & Eisenback, 2003). As mudas de tomate foram espaçadas de 0,50 m entre plantas na linha e 0,80 m entre linhas.

A adubação, irrigação e tratos culturais adotados para o tomate no campo foram os sugeridos por Silva & Giordano (2000). As temperaturas do substrato nos vasos na casa de vegetação e no solo do campo foram monitoradas com termômetro automático, com dois sensores instalados à 20 cm de profundidade, distanciados 3 m na casa de vegetação e 10 m no campo.

Noventa dias após o transplante das mudas de tomateiros, coletaram-se as 90 plantas de 'Rutgers' inoculadas com *M. incognita* raça 1, *M. javanica* e *M. petuniae* na casa de vegetação e 30 plantas de 'TSW-10' do campo infectadas por *M. brasiliensis*.

Após a coleta das plantas, às raízes foram cortadas na região do colo e lavadas com jato de água leve. Em seguida, selecionaram-se cinco raízes altamente infectadas com cada espécie de nematóide dos lotes de 30 plantas, com índice de galhas máximo (nota 5). As raízes foram cortadas uma de cada vez em pedaços de 1,0 a 1,5 cm de comprimento e colocadas no recipiente do liquidificador, adicionando-se seguidamente solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5%, o suficiente para cobrir toda quantidade de raízes (Charchar et al., 2003b). Neste trabalho, utilizou-se a água sanitária Q-Boa a 20% que contém 2,5% de hipoclorito de sódio.

Processaram-se as raízes de tomateiros no liquidificador na velocidade mais baixa, considerado um liquidificador com 3 velocidades (velocidade 1 com ± 1.000 rpm), nos tempos de 10, 20, 30 e 40 segundos. Os extratos de raízes foram derramados em duas peneiras acopladas, uma superior com porosidade de 250 μ m (60 mesh) e outra inferior com 38 μ m (400 mesh), para retenção de espécimens dos nematóides (ovos, J2, J3, J4, fêmeas e machos) de acordo com o método proposto por Charchar & Lopes (1991).

O extrato de raízes, contendo os espécimens dos nematóides, foi centrifugado pelo método de Jenkins (1964), coletado em volume final de 50 ml de água e quantificados em placa de vidro sob microscópio. Os espécimens J3 e J4 foram quantificados em conjunto, pela dificuldade de separação dos dois estádios no momento da contagem.

Os tratamentos em esquema fatorial 4 x 4 (tempos de processamento *versus* populações de nematóides) foram avaliados no delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Cada raiz de tomateiro com nota máxima de 5 no índice de galhas foi considerada como repetição.

Resultados e Discussão

As temperaturas flutuaram de 19,5 a 32,5°C na casa de vegetação e de 18,5 a 31,0°C no campo. Com base nas análises de variância, houve diferenças significativas entre tempos de processamento para todas as variáveis analisadas, bem como entre populações de nematóides para todas as variáveis, com exceção do número de J2. A interação tempos de processamento *versus* populações de nematóides foi significativa somente para número de J3+J4 (Tabela 1).

A extração dos espécimens de *Meloidogyne brasiliensis* das raízes de tomateiro 'TSW-10', coletadas no campo, foram incluídas no experimento para comparação com os procedimentos efetuados para *M. incognita* raça 1, *M. javanica* e *M. petuniae* das raízes de tomateiro 'Rutgers',

coletadas na casa de vegetação, considerando que raízes de algumas espécies de plantas apresentam maior potencial para produção de inóculo dos nematóides nas condições de campo que no ambiente de casa de vegetação (Charchar, 1995).

As raízes selecionadas de 'Rutgers' e 'TSW-10' com índice de galhas nota 5, na escala de infecção utilizada para o gênero *Meloidogyne*, apresentaram homogeneidade de infecção pelas quatro espécies dos nematóides, considerando que não houve diferença significativa (Tukey, $P \leq 0,05$) entre médias das diferentes espécies para os vários espécimens, com exceção apenas do número de J3+J4. A diferença obtida nos números totais de estádios das diferentes espécies de nematóides deveu-se exclusivamente ao tempo de processamento das raízes no liquidificador (Tabela 2).

Nos processamentos das raízes de tomateiros por 30 e 40 segundos, no liquidificador em baixa velocidade (± 1.000 rpm) com hipoclorito de sódio a 0,5%, foram extraídos os maiores números de ovos e total dos espécimens de *Meloidogyne* spp. (Tabela 2). O processamento por 30 segundos foi o que extraiu os maiores números de J2, fêmeas e de machos. Para a extração de juvenis de terceiro e quarto estádios (J3+J4), mesmo havendo interação significativa para tempo de processamento *versus* população de nematóides, o processamento por 30 segundos foi também no geral, o que extraiu maiores números desses espécimens (Tabela 2).

Tabela 1. Análise de variância e estimativas dos coeficientes de variação das variáveis número de ovos, juvenis de segundo (J2), terceiro (J3) e quarto (J4) estádios, fêmeas, machos e total de espécimens de *Meloidogyne* spp. extraídos das raízes de tomateiros pela técnica do liquidificador.

Fontes de Variação	Variáveis*											
	Ovos		J2		J3+J4		Fêmeas		Machos		Total	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
¹ TP	65,60	0,000**	56,84	0,000**	65,11	0,000**	95,51	0,000**	36,37	0,000**	132,40	0,000**
² PN	5,10	0,003**	2,95	0,394ns	5,80	0,001**	5,71	0,002**	7,94	0,000**	8,03	0,000**
³ TP x PN	0,40	-	0,37	-	3,31	0,002**	1,52	0,16ns	0,84	-	0,54	-
C.V. (%)	16,06		16,08		15,89		18,33		22,25		10,81	

*Os dados foram submetidos à análise de variância após transformação para raiz quadrada.

¹TP. Tempos de processamento; ²PN. Populações de nematóides; ³TPxPN. Interação tempos de processamento *versus* populações de nematóides.

(**) Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; (ns) Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 2. Números médios dos espécimens de *Meloidogyne* spp. extraídos das raízes de tomateiros 'Rutgers' e 'TSW-10' no liquidificador em diferentes tempos de processamento.

Espécies de <i>Meloidogyne</i> **	Números de espécimens de <i>Meloidogyne</i> extraídos de raízes* (Tempos de processamento em segundos)				Média
	10	20	30	40	
Número de ovos					
<i>M. incognita</i> raça 1	275.000	580.000	1.209.600	1.185.000	812.400 A
<i>M. javanica</i>	330.000	610.000	1.080.000	1.065.000	771.250 A
<i>M. petuniae</i>	260.000	495.000	965.000	975.000	673.750 A
<i>M. brasiliensis</i>	395.000	655.000	1.445.000	1.435.000	982.500 A
Média	315.000 b	585.000 ab	1.174.900 a	1.165.000 a	809.975
Número de juvenis do segundo estágio (J2)					
<i>M. incognita</i> raça 1	225.000	360.000	685.000	655.000	481.250 A
<i>M. javanica</i>	280.000	420.000	865.000	850.000	603.750 A
<i>M. petuniae</i>	180.000	395.000	765.000	755.000	523.750 A
<i>M. brasiliensis</i>	305.000	390.000	930.000	905.000	632.500 A
Média	247.500 b	391.250 ab	811.250 a	791.250 ab	560.313
Número de juvenis do terceiro e quarto estádios (J3+J4)					
<i>M. incognita</i> raça 1	10.500A ab	18.000A ab	21.500B a	6.000A b	14.000
<i>M. javanica</i>	10.000A a	14.500A a	18.500B a	7.000A a	12.500
<i>M. petuniae</i>	10.500A b	15.500A ab	25.500B a	9.500A b	15.250
<i>M. brasiliensis</i>	13.000A bc	20.500A b	41.500A a	5.500A c	20.125
Média	11.000	17.125	26.750	7.000	15.469
Número de fêmeas					
<i>M. incognita</i> raça 1	3.400	5.500	16.000	3.500	7.100 A
<i>M. javanica</i>	3.650	5.600	17.000	4.300	7.638 A
<i>M. petuniae</i>	2.800	9.850	14.500	3.250	7.600 A
<i>M. brasiliensis</i>	4.300	10.900	22.000	5.000	10.550 A
Média	3.538 b	7.963 b	17.375 a	4.013 b	8.222
Número de machos					
<i>M. incognita</i> raça 1	2.350	2.850	6.500	2.950	3.663 A
<i>M. javanica</i>	1.900	2.350	6.000	2.350	3.150 A
<i>M. petuniae</i>	1.450	4.100	8.000	2.000	3.888 A
<i>M. brasiliensis</i>	3.150	5.450	10.500	3.750	5.713 A
Média	2.213 b	3.688 ab	7.750 a	2.763 ab	4.103
Número total de espécimens dos nematóides					
<i>M. incognita</i> raça 1	516.250	1.006.350	1.939.000	1.852.450	1.328.513 A
<i>M. javanica</i>	625.550	1.052.450	1.986.500	1.928.650	1.398.288 A
<i>M. petuniae</i>	454.750	919.450	1.778.000	1.744.750	1.224.238 A
<i>M. brasiliensis</i>	720.450	1.081.830	2.449.000	2.354.250	1.651.383 A
Média Geral	579.250 b	1.015.020 b	2.038.125 a	1.970.025 a	1.400.605

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**As espécies *Meloidogyne incognita* raça 1, *M. javanica* e *M. petuniae* foram coletadas das raízes de 'Rutgers' mantidas na casa de vegetação. *M. brasiliensis* foi coletada das raízes de 'TSW-10' cultivada no campo.

O tempo de processamento das raízes por 10 segundos foi insuficiente para dissolução das massas de ovos dos nematóides, dificultando a liberação de maiores números de ovos e de J2, com perdas médias respectivas de 73,2 e 69,5%, em relação ao tempo de 30 segundos (Tabela 2). O tempo de 10 segundos foi também insuficiente para “quebrar” adequadamente os tecidos das raízes, liberando apenas 20,4 e 28,6% do total de fêmeas e machos intactos comparado ao processamento por 30 segundos. Os tempos de 20 e 40 segundos de processamento também mostraram-se inadequados para liberação de fêmeas intactas do interior das raízes, resultando na extração de apenas 45,8 e 23,1%, respectivamente, do total de fêmeas extraídas em 30 segundos (Tabela 2).

A diminuição em 3,3% no número de J3+J4, fêmeas e machos no processamento de 40 segundos em relação ao de 30 segundos, pode ter ocorrido em consequência da danificação desses espécimens no processamento mais prolongado das raízes em liquidificador. Os estádios J3, J4 e fêmeas por serem mais volumosos e os machos extremamente alongados foram mais sujeitos aos danos físicos do liquidificador, já que encontraram-se fragmentos destes espécimens nos extratos analisados (Tabela 2).

Considerando que houve reduções de 71,6, 50,2 e 3,3% no total de espécimens extraídos nos processamentos de 10, 20 e 30 segundos, respectivamente, em relação ao tempo de 30 segundos, sugere-se que para extração dos espécimens de *Meloidogyne* pela técnica do liquidificador, as raízes infectadas não sejam processadas em tempo menor ou maior que 30 segundos, pois tempos diferentes de 30 segundos implicaram em perdas dos espécimens. Oostenbrink (1966), relata que quanto maior o número de espécimens extraídos das raízes, maior a precisão na estimativa de valor do FR das espécies de nematóides.

O FR é determinado pela razão entre população final (Pf) e população inicial (Pi) dos nematóides, nos diversos sistemas de produção. A Pi é determinada no solo antes do estabelecimento da cultura e a Pf no solo da rizosfera e nas raízes de plantas, na colheita (Oostenbrink, 1966; Charchar & Lopes, 1991; Charchar & Aragão, 2003). O número de espécimens extraído das raízes é adicionado ao da rizosfera no cálculo da Pf e do FR dos nematóides (Charchar & Vieira, 1994; Charchar & Aragão, 2003; Charchar et al., 2003a).

A técnica do liquidificador é essencialmente utilizada para extrair, em água, nematóides filiformes curtos de raízes (endoparasitas migratórios: gêneros *Pratylenchus* e *Radopholus*). A extração dos diferentes estádios de *Meloidogyne* é feita tradicionalmente por forte agitação de

pedaços pequenos de raízes em solução de hipoclorito de sódio, de forma a se evitar danificação dos espécimens (Hussey & Barker, 1973). No entanto, Charchar & Lopes (1991) usaram a técnica do liquidificador com sucesso para extração de ovos, J2 e fêmeas inteiras de *M. incognita* raça 1 das raízes de chuchuzeiro.

Portanto, neste trabalho conclui-se que a extração dos espécimens de *Meloidogyne* das raízes de tomateiros em único processo, usando solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, no liquidificador em baixa velocidade (± 1.000 rpm) e no tempo de 30 segundos, é um método eficiente, simplificado, de baixo custo e com abrangência para extração em maior número os diferentes estádios (ovos, J2, J3, J4, fêmeas e machos) das espécies de *Meloidogyne* das raízes.

Esta técnica pode ser usada com dupla finalidade, no cálculo de valor mais preciso do FR dos nematóides e para fins didáticos, envolvendo, inclusive, espécies vegetais que apresentam raízes fibrosas como quiabeiro e algodoeiro.

O FR é fundamentalmente utilizado nos diferentes sistemas de produção agrícolas como fator indicador do nível de infestação do ambiente, com efeito na reação de plantas (resistente ou suscetível) à infecção pelas diferentes espécies de nematóides (Charchar, 1995). Essa técnica é amplamente utilizada na seleção plantas com resistência à *Meloidogyne* spp., no programa de melhoramento genético da Embrapa Hortaliças.

A técnica do liquidificador pode não ser indicada para trabalhos que necessitem da extração de fêmeas de *Meloidogyne* com completo fluido pseudocelômico do corpo (conteúdo interno). Fêmea com frágil cutícula pode sofrer parcial esvaziamento do conteúdo interno, embora aparentemente permaneça na forma intacta.

Literatura Citada

- BYRD, D.W.J., T. KIRKPATRICK & K.R. BARKER. 1983. An improved technique for cleaning and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology*, 15:142-143.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; O. RAND; L.G. FREITAS & D.W. DICKSON. 1999. Attachment of endospore of *Pasteuria penetrans* to males and juveniles of *Meloidogyne* spp. *Nematology*, 1(3):267-271.
- CHARCHAR, J.M. 1995. *Meloidogyne* em hortaliças. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, XXVII, Rio Quente. Resumos, p.149-153.

- CHARCHAR, J.M. & F.A.S. ARAGÃO. 2005. Variação anual da população mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em cultivos de batata 'Bintje' no campo. *Nematologia Brasileira*, 20(2):225-231.
- CHARCHAR, J.M. & J.F. LOPES. 1991. Consorciação do chuchuzeiro com plantas antagônicas visando a interrupção do ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* raça 1. *Fitopatologia Brasileira*, 16(4):263-267.
- CHARCHAR, J.M. & J.V. VIEIRA. 1994. Seleção de cenoura com resistência a nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.). *Horticultura Brasileira*, 12(2):144-148.
- CHARCHAR, J.M.; R.C.V. TENENTE & F.A.S. ARAGÃO. 2003a. Resistência de cultivares de alho a *Ditylenchus dipsaci*. *Nematologia Brasileira*, 27(2):179-184.
- CHARCHAR, J.M.; V. GONZAGA; L.B. GIORDANO; L.S. BOITEUX; N.V.B. REIS & F.A.S. ARAGÃO. 2003b. Reação de cultivares de tomateiro à infecção por população mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em estufa plástica e campo. *Nematologia Brasileira*, 27(1):49-54.
- DROPKIN, V.H.; W.L. SMITH Jr. & R.F. MYERS. 1960. Recovery of nematodes from infected roots by maceration. *Nematologia*, 5:285-288.
- HUSSEY, R.S. 1971. A technique for obtaining quantities of living *Meloidogyne* females. *Journal of Nematology*, 3(1):99-100.
- HUSSEY, R.S. & K.R. BARKER. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57(12):1025-1028.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48:62.
- JÚLIO, V.A.; L.G. FREITAS; J.L.C. COELHO, D.C. MUSCARDI & S. FERRAZ. 2003. Extração de fêmeas de *Meloidogyne javanica* de raízes de tomateiro pela maceração com enzimas fúngicas. *Nematologia Brasileira*, 27(1):75-78.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematode and plants. *Mededelingen Landbouwhogeschool*, 66:3-46.
- SAS Institute. SAS/STAT user's guide. Release 6.03 ed. Cary, 1988.
- SILVA, J.B.C. & L.B. GIORDANO, 2000. Tomate para processamento industrial. EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia, EMBRAPA-CNPq, Brasília, DF. 168 p.
- TAYLOR, A.L. & J.N. SASSER. 1978. Identification of *Meloidogyne* species. In: *Biology, identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. Raleigh: North Carolina State University, p.101-105.