

## EXTRACCION DE NEMATODOS FITOPARASITOS ASOCIADOS AL ARROZ, cv. C.R. 1113, MEDIANTE MODIFICACIONES DE LAS TECNICAS DE CENTRIFUGACION-FLOTACION Y EMBUDO DE BAERMANN MODIFICADO<sup>1</sup> \*

Melvyn Alvarado\*\*  
y Róger López Ch.\*\*

### ABSTRACT

Extraction of plant-parasitic nematodes associated with rice, cv. C.R. 1113, by modifications of the centrifugation-flotation and the modified Baermann funnel techniques. The centrifugation-flotation (CF) and the modified Baermann funnel (MBF) techniques, as well as some modifications, were evaluated for the extraction of plant-parasitic nematodes associated with rice in two Aquept soils located at La Cuesta and Río Claro in southwestern Costa Rica. Modifications for both methods included sample size (50, 100 or 150 ml), numbers of washings of each sample (1, 2 or 3), time of suspension before washings (20, 40 or 60 sec) and sieve arrangement (A: one 50 and two 325 mesh; B: one 100 and two 325 mesh; C: one 100 and one 325 mesh sieves). Centrifugation time (3, 4 or 5 min at 3000 rpm) and specific gravity of the sugar solution (1.12, 1.15 or 1.18) were also evaluated with the CF technique. More *Tylenchorhynchus annulatus* from La Cuesta were extracted by MBF using 20 sec of suspension time, although only 20 sec were necessary for those coming from Río Claro. Higher densities of *Macroposthonia* sp. were recovered from the latter with 40 sec of suspension. Using the CF technique, more *Macroposthonia* sp. and *T. annulatus* were extracted with 60 sec of suspension, while 3 min of centrifugation were necessary to recover the highest densities of *Helicotylenchus* sp. At both localities, higher numbers of *Macroposthonia* sp. and *Helicotylenchus* sp. were extracted with a sugar solution having a specific gravity of 1.18. More *Macroposthonia* sp. and *T. annulatus* from La Cuesta were recovered using 50 ml soil samples. The CF technique was more efficient than the MBF for the extraction of all of the nematode species tested.

### INTRODUCCION

El arroz constituye uno de los principales cultivos de la Zona Sur del país. Dentro de los patógenos que pueden afectar o limitar su producción, se mencionan los nematodos fitoparásitos (6, 8, 10).

Uno de los principales factores que determina la cuantía del daño que un nematodo fitoparásito puede causar en una planta susceptible, es su densidad inicial, dada la baja movilidad y tasa de reproducción de los nematodos en comparación con otros patógenos como bacterias, hongos y virus (3, 4, 9).

Entre los aspectos más importantes de la fitonematología se encuentra la determinación de la densidad económicamente crítica. Esta es la densidad inicial de una especie de nematodo que causa un porcentaje de daño cuyo valor es equivalente al costo de las medidas de combate que es necesario aplicar para evitar este daño (4, 9). La metodolo-

<sup>1</sup> Recibido para su publicación el 10 de Octubre de 1980.

\* Parte de la tesis de grado presentada por el primer autor ante la Escuela de Fitotecnia de la Universidad de Costa Rica.

\*\* Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica.

gía de extracción de nematodos desempeña un papel preponderante en la determinación de la densidad económicamente crítica, por lo que se requiere contar con técnicas confiables y precisas que permitan recuperar nematodos en una cantidad tal, que realmente se obtengan resultados que sean representativos, cualitativa y cuantitativamente, de la población existente en el campo. Esto permitiría aplicar medidas de combate, con una sólida base científica, especialmente mediante el uso de productos químicos.

Dada la carencia de información en nuestro país acerca de la eficacia de los métodos comúnmente usados para la extracción de nematodos fitoparásitos, se realizó la presente investigación. El principal objetivo fue comparar estos métodos y cuantificar el efecto de una serie de variantes sobre la recuperación de varios nematodos asociados al arroz en dos localidades de la Zona Sur de Costa Rica. Un resumen parcial de este trabajo ya ha sido publicado previamente (1).

## MATERIALES Y METODOS

Se colectaron muestras de suelo en dos plantaciones de arroz en las localidades de Río Claro de Golfito y La Cuesta de Corredores. Estas fueron trasladadas al laboratorio, donde fueron homogeneizadas y cuarteadas hasta obtener las submuestras correspondientes. En el Cuadro 1 se presentan algunas características físicas y químicas de los suelos utilizados en este estudio.

Cuadro 1. Características físicas y químicas de los suelos en que se evaluó algunas modificaciones de dos técnicas de extracción de nematodos fitoparásitos asociados al arroz.

Característica	Localidad	
	La Cuesta de Corredores	Río Claro de Golfito
Nombre textural	Franco limoso	Franco arcillo-limoso
Arena (%)	23,0	18,95
Limo (%)	52,3	45,85
Arcilla (%)	24,7	35,2
Materia orgánica (%)	3,0	2,1
H <sub>2</sub> O	6,0	6,3
pH		
KCl	4,95	5,1
Sub-orden	Aquept	Aquept

Las especies de nematodos con las que se trabajó y los sitios donde se colectaron fueron las siguientes: *Macroposthonia* sp., *Meloidogyne* sp., *Tylenchorhynchus annulatus* (Cassidy) Golden en La Cuesta de Corredores (M-LC, Me-LC, Ta-LC, respectivamente); *Macroposthonia* sp., *Helicotylenchus* sp. y *T. annulatus* en Río Claro de Golfito (M-RC, H-RC, y Ta-RC, respectivamente).

Se comparó la eficacia de dos técnicas de extracción de nematodos del suelo para cada una de las especies mencionadas. Estas técnicas fueron: la de Centrifugación-flotación en solución azucarada descrita por Caveness y Jensen (5), y la del Embudo de Baermann modificado por Christie y Perry, citada por Thome (11).

### Embudo de Baermann modificado por Christie y Perry (EBM)

Cada submuestra de suelo se pasó a un balde de plástico de 5 l de capacidad y se agitó con 4 l de agua potable; se dejó sedimentar la suspensión durante 20 s y luego se pasó a través de un arreglo de cribas de 100, 200 y 325 mesh, superpuestas de arriba hacia abajo. Esta operación se repitió dos veces. El material retenido en las cribas de 200 y 325 mesh fue pasado a un cilindro de fondo de tela, el que posteriormente se dispuso en un embudo de vidrio parcialmente lleno de agua, de tal manera que apenas tocara el fondo del cilindro. Después de 18 horas se recogió la suspensión a través de una criba de 325 mesh, la que se lavó con agua. Luego se pasaron los nematodos en suspensión a un platillo de siracusa de 20 ml. Los nematodos fueron identificados y contados bajo un microscopio estereoscópico a 45 X.

### Centrifugación-flotación en solución azucarada (CF)

Cada submuestra de suelo se transfirió a un balde de plástico de 5 l de capacidad y se agitó con 4 l de agua potable; se dejó sedimentar la suspensión durante 20 s y luego se pasó a través de un arreglo de cribas de 100, 200 y 325 mesh, superpuestas de arriba hacia abajo. Esta operación se repitió dos veces. El material retenido en las cribas de 200 y 325 mesh fue pasado a un tubo de centrifuga de 20 ml. Posteriormente, se procedió a su centrifugación a 2800-3000 rpm durante 3 min, al

cabo de los cuales se descartó el supernatante y se sustituyó por una solución azucarada (460 g de sacarosa en 1 l de agua); nuevamente se centrifugó a 2500–3000 rpm durante 3 min y luego se pasó el supernatante a través de una criba de 325 mesh; posteriormente se lavó con agua potable y se pasaron los nematodos en suspensión a un platillo de siracusa de 20 ml. Los nematodos fueron identificados y contados bajo un microscopio estereoscópico a 45 X.

En ambos métodos se evaluó la influencia del volumen de la muestra (50, 100 ó 150 ml), del número de lavados de la muestra (1, 2 ó 3), del tiempo de suspensión antes de los lavados (20, 40 ó 60 s) y del arreglo de cribas (A: una de 50 y dos de 325 mesh; B: una de 100 y dos de 325 mesh; C: una de 100 y una de 325 mesh). Además, en la técnica de centrifugación-flotación se evaluó el tiempo de centrifugación (3, 4 ó 5 min a 3000 rpm) y la gravedad específica de la solución azucarada (1,12; 1,15 ó 1,18), sobre la extracción de nematodos asociados al arroz.

La eficacia de ambos métodos en la recuperación de las especies de nematodos fue comparada en el caso de la primera variante evaluada (tamaño de la muestra). Para esto, se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas con cinco repeticiones, donde las parcelas grandes fueron los métodos de extracción y las parcelas pequeñas el tamaño de muestra. Con las otras variantes evaluadas sólo se comparó independientemente para cada método de extracción el efecto de cada una; en este caso se usó un diseño irrestrictamente al azar en que cada tratamiento se repitió cinco veces.

En cada una de las evaluaciones hechas, y con el fin de homogeneizar el criterio a seguir dentro de cada metodología de extracción convencional, conforme se fue evaluando el efecto de cada variante, el tratamiento que dio la mayor recuperación de nematodos, ya fuera estadísticamente significativa o no, fue incorporado en la evaluación de la siguiente variable y así sucesivamente.

#### Análisis estadístico

Todas las variables fueron analizadas estadísticamente, y los valores promedio se compararon entre sí mediante la prueba de amplitud múltiple de Duncan. Todos los datos fueron transformados

sistemáticamente en  $(X + 1/2)^{1/2}$  para su correspondiente análisis estadístico.

## RESULTADOS

### Embudo de Baermann modificado

En el Cuadro 2 se presenta el efecto del tamaño de la muestra, del número de lavados de la muestra, del tiempo de suspensión antes de los lavados y del arreglo de cribas sobre el número promedio de cada una de las especies extraídas por la técnica del EBM.

Se encontró que con un volumen de 50 ml se recuperaron significativamente más M-LC y Ta-LC que con volúmenes de 100 ó 150 ml. En la recuperación de M-LC y Ta-LC se obtuvo un efecto lineal negativo, definido respectivamente por las ecuaciones  $\hat{Y} = 1,96 - 1,53 X$  (a) y  $\hat{Y} = 2,07 - 3 X$  (b).

En cuanto a las otras comparaciones del tamaño de la muestra en las especies restantes, no hubo diferencias significativas; sin embargo, conviene señalar que se obtuvo una mayor recuperación en la mayoría de estas especies con un tamaño de muestra de 50 ml.

Se recuperó una densidad significativamente mayor de Ta-RC con un tiempo de suspensión antes de los lavados de 20 s que con uno de 60 s; en este caso se obtuvo un efecto lineal negativo, definido por la ecuación  $\hat{Y} = 3,33 - 4,64 X$  (c). En el caso de Ta-LC se extrajo una cantidad significativamente mayor con un tiempo de suspensión antes de los lavados de 60 s que con 20 ó 40. Hubo un efecto lineal positivo, definido por la ecuación  $\hat{Y} = 2,06 + 1,75 X$  (d), en cuanto a la extracción de esta especie. Además, se obtuvo una cantidad significativamente mayor de M-RC con un tiempo de 40 s que con 60 s, encontrándose en este caso un efecto cuadrático, definido por la ecuación  $\hat{Y} = 2,03 - 1,49 X - 1,28 X^2$  (e).

En cuanto a las otras comparaciones concernientes al tiempo de suspensión antes de los lavados, en las especies restantes no hubo diferencias significativas.

Cuadro 2. Influencia de algunas modificaciones sobre el número promedio de nematodos asociados al arroz, cv. C.R. 1113, recuperados por la técnica del Embudo de Baermann modificado.

Especie de* nematodo	Tamaño de muestra (ml)			Número de lavados			Tiempo de suspensión (s)			Arreglo de Cribas***		
	50	100	150	1	2	3	20''	40''	60''	A	B	C
M-LC	6a**	3 b	3 b	4a	6a	7a	6a	6a	6a	5a	6a	6a
Me-LC	14a	11a	8a	98a	94a	115a	139a	165a	134a	223a	201a	234a
Ta-LC	7a	4 b	2 b	7a	8a	15a	6 b	9 b	11a	7a	6a	9a
M-RC	8a	5a	4a	8a	13a	6a	9ab	13a	4 b	8a	7a	2a
H-RC	31a	32a	25a	44a	51a	45a	32a	40a	27a	25a	39a	31a
Ta-RC	13a	11a	6a	34a	34a	31a	33a	27ab	10 b	14a	16a	8a

\* M-LC (*Macroposthonia* sp. de La Cuesta); Me-LC (*Meloidogyne* sp. de La Cuesta); Ta-LC (*Tylenchorhynchus annulatus* de La Cuesta); M-RC (*Macroposthonia* sp. de Río Claro); H-RC (*Helicotylenchus* sp. de Río Claro); Ta-RC (*Tylenchorhynchus annulatus* de Río Claro).

\*\* Promedio de cinco repeticiones. Promedios de una misma columna para una misma variable y seguidos por una misma letra, no difieren significativamente entre sí de acuerdo con los resultados de la prueba de amplitud múltiple de Duncan ( $P = 0,05$ ). Densidades promedio expresadas en número de nematodos/100 ml de suelo.

\*\*\* A: 50-325-325 mesh; B: 100-325-325 mesh; C: 100-325 mesh.

### Centrifugación-flotación en solución azucarada

La influencia del tamaño de la muestra, del número de los lavados, del arreglo de cribas, del tiempo de centrifugación y la gravedad específica de la solución azucarada sobre la densidad promedio de cada una de las especies extraídas por el método CF se presenta en el Cuadro 3.

Se recuperó significativamente más M-LC y Ta-LC con un volumen de muestra de 50 ml que con 100 ó 150 ml. Al hacer el desglose de los grados de libertad se encontró para estas especies un efecto lineal negativo, definido por las ecuaciones  $\hat{Y} = 6,52 - 5,31 X$  (f) y  $\hat{Y} = 4,48 - 4,95 X$  (g).

En cuanto a las otras comparaciones del tamaño de la muestra en las especies restantes no hubo diferencias significativas.

Se encontró que con un tiempo de 60 s de suspensión antes de los lavados de recuperaron significativamente más Ta-LC que con 20 s. Al estudiar su comportamiento en la recuperación se observó un efecto lineal positivo, definido por la ecuación  $\hat{Y} = 3,44 + 4,15 X$  (h). Por otra parte, se

obtuvo una cantidad significativamente mayor de M-LC con un tiempo de suspensión de 60 s que con 20 ó 40 s. Al estudiar la tendencia de recuperación se encontró un efecto lineal positivo, definido por la ecuación  $\hat{Y} = 6,08 + 4,21 X$  (i).

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a las otras comparaciones de tiempo de suspensión, para las especies restantes.

Se recuperó significativamente más H-RC con un tiempo de centrifugación de 3 min que con 5 min; el tiempo de centrifugación tuvo un efecto lineal negativo sobre su recuperación, definido por la ecuación  $\hat{Y} = 8,01 - 4,84 X$  (j). En cuanto a la gravedad específica de la solución azucarada, con una de 1,18 se recuperó significativamente más M-LC y H-RC que con una de 1,12. Se encontró un efecto lineal positivo de esta variable en la recuperación de M-LC y H-RC, definido respectivamente por las ecuaciones  $\hat{Y} = 5,96 - 3,28 X$  (k) y  $\hat{Y} = 7,97 - 7,26 X$  (l).

Para las otras comparaciones del tiempo de centrifugación y gravedad específica, no se encontró diferencia significativa alguna en las restantes especies.

Cuadro 3. Efecto de algunas modificaciones sobre el número promedio de nematodos asociados al arroz, cv. C.R. 1113, recuperados por la técnica Centrifugación-flotación.

Especie de* nematodo	Tamaño de muestra (ml)			No. de lavados			Tiempo de suspensión (s)			Arreglo de Cribas**			Tiempo de Centrifug. (min)			Gravedad específica de la sol. azuc.		
	50	100	150	1	2	3	20"	40"	60"	A	B	C	3'	4'	5'	1,12	1,15	1,18
M-LC	64a**	32 b	35 b	95a	107a	65a	59 b	65 b	101a	104a	73a	96a	118a	123a	119a	55ab	37 b	86a
Me-LC	32a	25a	15a	199a	233a	211a	462a	516a	455a	812a	1028a	1093a	703a	836a	680a	621a	629a	617a
Ta-LC	34a	14 b	15 b	30a	27a	24a	12 b	28a	34a	35a	30a	39a	40a	60a	38a	19a	23a	26a
M-RC	17a	33a	29a	27a	26a	34a	29a	24a	27a	42a	27a	30a	27a	27a	27a	20a	21a	27a
H-RC	62a	83a	60a	85a	95a	70a	83a	90a	99a	56a	83a	101a	80a	66ab	49 b	41 b	67a	87a
Ta-RC	61a	49a	42a	78a	93a	92a	85a	70a	58a	93a	77a	76a	70a	56a	52a	63a	60a	62a

\* M-LC (*Macroposthonia* sp. de La Cuesta); Me-LC (*Meloidogyne* sp. de La Cuesta); Ta-LC (*Tylenchorhynchus annulatus* de La Cuesta); M-RC (*Macroposthonia* sp. de Río Claro); H-RC (*Helicotylenchus* sp. de Río Claro); Ta-RC (*Tylenchorhynchus annulatus* de Río Claro).

\*\* Promedio de cinco repeticiones. Promedios en una misma columna para una misma variable y seguidos por una misma letra, no difieren significativamente entre sí de acuerdo con los resultados de la prueba de amplitud múltiple de Duncan ( $P = 0,05$ ). Densidades promedio expresadas en número de nematodos/100 ml de suelo.

\*\*\* A: 50-325-325 mesh; B: 100-325-325 mesh; C: 100-325 mesh.

No se encontraron diferencias significativas en la extracción de los nematodos al evaluar los diferentes tratamientos de arreglo de cribas y número de lavados de la muestra con ambas técnicas de extracción (EBM y CF).

En la comparación de la eficacia de extracción de los métodos EBM y CF, se recuperaron densidades significativamente mayores de todas las especies estudiadas con la técnica de extracción CF que con la del EBM (Cuadro 4).

Cuadro 4. Eficacia comparativa de los métodos Centrifugación-flotación (CF) y Embudo de Baermann modificado (EBM) en la recuperación de nematodos asociados al arroz, cv. CR. 1113.

Especie de* nematodo	Métodos de extracción	
	Número de nematodos/ 100 ml de suelo	
	EBM	CF
M-LC	4b**	42a
Me-LC	11b	24a
Ta-LC	5b	20a
M-RC	5b	26a
H-RC	30b	68a
Ta-RC	10b	51a

\* M-LC (*Macroposthonia* sp. de La Cuesta); Me-LC (*Meloidogyne* sp. de La Cuesta); Ta-LC (*Tylenchorhynchus annulatus* de La Cuesta); M-RC (*Macroposthonia* sp. de Río Claro); H-RC (*Helicotylenchus* sp. de Río Claro); Ta-RC (*Tylenchorhynchus annulatus* de Río Claro).

\*\* Promedio de cinco repeticiones. Promedios en una misma línea, para una misma especie y seguidos por una misma letra, no difieren significativamente entre sí de acuerdo con los resultados de la prueba de amplitud múltiple de Duncan ( $P = 0,05$ ).

## DISCUSION

En el caso de M-LC y Ta-LC, en que hubo un efecto estadísticamente significativo del tamaño de la muestra sobre la densidad recuperada, los resultados coincidieron en el sentido de que con muestras de 50 ml se recuperaron densidades relativamente mayores que con muestras de 100 ó 150 ml. Estos resultados sugieren que al usar un volumen de suelo relativamente pequeño es más fácil dispersar las partículas mediante los lavados, lo que le permitiría a los nematodos liberarse con mayor facilidad. También se observó que el volumen del residuo del suelo recogido en las cribas fue menor cuando se utilizó un volumen de 50 ml, lo que también podría incrementar o facilitar la recuperación de nematodos. Esta situación se presentó con los dos métodos de extracción evaluados. En el caso de la técnica EBM, el espesor que se acumuló en la parte inferior del cilindro con fondo de tela fue menor con muestras de 50 ml, lo que podría facilitar o acelerar el paso de los nematodos a través del filtro de tela. En relación a la técnica CF, es posible que al recoger menor cantidad de residuos en los tubos de centrífuga al procesar muestras de 50 ml sea más fácil el resuspender los nematodos en la solución azucarada después de la primera centrifugación, lo que pondría a un mayor número de especímenes en contacto con esta solución.

En relación al tiempo de suspensión antes de los lavados por la técnica de extracción CF, en la mayoría de los casos en que hubo diferencias significativas entre tratamientos, se observó, que conforme aumentaba el tiempo de suspensión se incrementaba la recuperación de los nematodos, debido

posiblemente a que la cantidad de partículas de suelo en suspensión disminuye conforme pasa el tiempo, por lo que el volumen de residuos retenidos en las cribas también disminuye. Esto posiblemente facilite e incremente la recuperación de los nematodos. Debido a que por la técnica de extracción EBM se obtuvo un comportamiento errático, se dificultó encontrar una explicación satisfactoria para cada uno de los casos en que hubo diferencias significativas al evaluar el tiempo de suspensión.

El tiempo de centrifugación afectó la recuperación de H-RC, ya que se encontró que con 3 min se recuperó la mayor densidad. Aparentemente, este resultado puede estar directamente relacionado al género de nematodo involucrado, dado que se han obtenido resultados similares con otras especies del mismo género (M. Alvarado, datos sin publicar). En este caso, podría ser que para este género, al aumentar el tiempo de centrifugación a 5 min se compacten más los residuos de suelo en el fondo del tubo de centrifugación, lo que dificulta su suspensión en la solución azucarada, reduce el número de especímenes que flotan en ella y que eventualmente son extraídos de la muestra.

Con respecto a la gravedad específica de la solución azucarada, los especímenes del género *Helicotylenchus* se vieron afectados tal vez debido a que su gravedad específica es más alta que la de los otros nematodos estudiados, por lo que al aumentar la gravedad de la solución azucarada se pudo recuperar un mayor número de individuos. Por otra parte, no se encontró una explicación satisfactoria para el comportamiento de M-LC, al reducirse su recuperación con una solución de 1,15 de gravedad específica en comparación con las soluciones de 1,12 y 1,18.

Al comparar entre sí las dos técnicas de extracción de nematodos que se evaluaron, se encontró que la técnica CF fue la más eficaz de las dos en la extracción de todas las especies evaluadas. Varios autores (2, 6) han obtenido resultados similares a los obtenidos en esta investigación, al comparar la eficacia de CF y EBM. Este último procedimiento para la extracción de nematodos depende de su movilidad, y ésta, a su vez, puede ser influida por factores tales como la temperatura, falta de oxígeno en el embudo, obstrucción de las aberturas del filtro de tela del cilindro, etc. Todas estas variables pueden disminuir la densidad de nematodos recuperados de una muestra de suelo.

En cuanto a la técnica CF, el principio básico en que se apoya es la gravedad específica de los nematodos, que permite separarlos y de otras partículas más densas mediante la flotación en una solución azucarada. En este caso, los nematodos pueden ser recuperados aún cuando estén inactivos o muertos.

## RESUMEN

Se evaluó la influencia de los métodos Embudo de Baermann modificado (EBM) y Centrifugación-flotación (CF), así como variantes de los mismos, sobre la extracción de nematodos fitoparásitos asociados al arroz en suelos Aquept en La Cuesta y Río Claro de los cantones de Corredores y Golfito, respectivamente. Con ambos métodos se evaluó la influencia del volumen de la muestra (50, 100 ó 150 ml), del número de lavados de la muestra (1, 2 ó 3), del tiempo de suspensión antes de los lavados (20, 40 ó 60 s) y del arreglo de cribas (A: una de 50 y dos de 325 mesh; B: una de 100 y dos de 325 mesh; C: una de 100 y una de 325 mesh). Con la técnica CF se evaluó además el tiempo de centrifugación (3, 4 ó 5 min a 3000 rpm) y la gravedad específica de la solución azucarada (1,12; 1,15 ó 1,18).

Con la técnica EBM se recuperaron más *Tylenchorhynchus annulatus* de La Cuesta con 60 s de suspensión, aunque de Río Claro la mayor extracción se obtuvo con sólo 20 s. De este último lugar se recuperaron mayores densidades de *Macroposthonia* sp. con 40 s de suspensión. Con la técnica CF se recuperaron más *Macroposthonia* sp. y *T. annulatus* de La Cuesta con 60 s de suspensión; mientras que 3 min de centrifugación extrajeron las mayores densidades de *Helicotylenchus* sp. La utilización de una solución azucarada con 1,18 de gravedad específica permitió recuperar mayores densidades de *Macroposthonia* sp. y *Helicotylenchus* sp. de ambas localidades. Con muestras de 50 ml se extrajeron mayores densidades de *Macroposthonia* sp. y *T. annulatus* de La Cuesta. La técnica CF extrajo mayores densidades de todas las especies de nematodos que la EBM.

## LITERATURA CITADA

1. ALVARADO, M. y LOPEZ CH, R. Extracción de nematodos asociados al arroz, cv. C.R. 1113, mediante modificaciones de la técnica Centrifugación-flotación. In Resúmenes IV Con-

- greso Agronómico Nacional y VII Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo. Colegio de Ingenieros Agrónomos y Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. Heredia, Costa Rica, 1980. p. 45.
2. AYALA, A., ROMAN, J. y TARJAN, A.C. Comparison of four methods for isolating nematodes from soils samples. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 47(4): 219-225. 1963.
  3. BARKER, K.R. y NUSBAUM, C.J. Diagnostic and advisory programs. In Zuckerman, B.M., Mai, W.F. y Rohde, R.A., eds. *Plant Parasitic Nematodes*. Volume I. New York, Academic Press, 1971. pp. 281-288.
  4. BARKER, K.R. y OLTHOF, T.H.A. Relationships between nematode population densities and crop responses. *Annual Review of Phytopathology* 14: 327-353. 1966.
  5. CAVENESS, F.E. y JENSEN, H.J. Modification of the centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissues. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 22:87-89. 1955.
  6. FIELDING, M.J. y MARTIN, N.J. Response of corn and rice to soil fumigation for control of parasitic nematodes. *Annual Report. Louisiana Agricultural Experiment Station* 55: 155. 1955.
  7. HARRIS, R.H.G. y BRAITHWAITE, J.M.C. Evaluation of methods for separating nematodes from soil. *Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association* 50: 23-28. 1976.
  8. ICHONOHE, M. Nematode diseases of rice. In Webster, J.M., ed. *Economic Nematology*. London, Academic Press, 1972. pp. 127-143.
  9. OLTHOF, T.H.A. y POTTER, J.W. The relationship between population densities of *Pratylenchus penetrans* and crop losses in summer-maturing vegetables in Ontario. *Phytopathology* 63: 577-582. 1973.
  10. MUNDO, M. y MONTES, R. Nematodos asociados con el cultivo del arroz en el Plan de Chontalpa, Tabasco, México. *Nematropica* 7(1): 13 (Abstr.) 1977.
  11. THORNE, G. *Principles of Nematology*. New York, Mc Graw Hill, 1961. 553 p.