

## EFFECTO DEL REMOJO, EL TIEMPO DE SEDIMENTACION Y EL NUMERO DE LAVADOS SOBRE LA RECUPERACION DE *Meloidogyne incognita* EN CUATRO TIPOS SUELOS<sup>1/</sup>\*

Hernán Vilchez \*\*  
Róger López \*\*

### ABSTRACT

Effect of soaking, sedimentation time and number of washings on the recovery efficiency of *Meloidogyne incognita* from four soils. The effects of soaking soil samples in water (12 or 24 h) or in a detergent suspension (2 h), sedimentation time (20, 40 or 60 seg), and number of sample washings (1, 2 or 3) on the recovery efficiency (RE) of secondstage juveniles (J2) of *Meloidogyne incognita* from Haplohumults (Ha), Melanudands (Me), Humitropepts (Hu), and Dystropepts (Dy) soils collected at different locations in Costa Rica, was studied. Soaking in water for 12 or 24 h significantly increased the RE on the Hu and Dy soils only. The number of washings affected the RE on the Hu soil, according to equation  $Y = 26.341.63X$ , while the sedimentation time affected the RE on the Me and Dy soils, according to equations  $Y = 14.8 + 0.084X$ , and  $Y = 19.0320.061X$ , respectively.

### INTRODUCCION

El método ideal de extracción de nematodos debería remover todos los estados de todas las especies con un 100% de eficiencia, prescindiendo de la estación del año, la temperatura y el tipo de suelo (Mc Sorley, 1987). Sin embargo, esto no sucede y la extracción se ve afectada por estos y otros factores. La metodología óptima debe ser enmarcada entonces dentro de otros criterios, tales como el funcional, el práctico y el económico; en este último caso se debe considerar además que los métodos de extracción deben estar orientados, preferentemente, a recuperar aquellas especies de nematodos que causan serias pérdidas económicas.

En Costa Rica los nematodos formadores de nódulos, *Meloidogyne* spp., tienen una amplia distribución geográfica y gama de huéspedes; además, interaccionan con otros patógenos y causan daños considerables en numerosos cultivos (López y Salazar, 1989; López *et al.*, 1991); la especie más frecuentemente encontrada es *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949 (López *et al.*, 1991). Lo anterior sirve de base para realzar la necesidad imperiosa de desarrollar métodos que permitan recuperar el mayor porcentaje de individuos presentes en una muestra, ya que existe una estrecha relación entre la densidad poblacional inicial de este nematodo y la cuantía del daño que causa en numerosos cultivos (Barker y Olthof, 1976).

La Eficiencia de Recuperación (ER) o porcentaje de nematodos presentes en una muestra que es extraído o recuperado por una determinada técnica, permite comparar métodos de extracción, así como cuantificar el efecto de diversas variables que afectan su eficacia; lo anterior facilita la cuantificación precisa de la densidad poblacional

1/ Recibido para publicación el 30 de noviembre de 1993.  
\* Parte de la tesis de Ing. Agr. presentada por Hernán Vilchez Rojas ante la Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica.  
\*\* Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

presente en una muestra y permite entonces, con una base más sólida, predecir la magnitud del daño que podrían causar y recomendar la aplicación de tácticas específicas para el manejo del problema.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del remojo previo de la muestra, el tiempo de sedimentación y el número de lavados de la muestra, así como la interacción de estos 2 últimos factores, sobre la ER de segundos estados juveniles (J2) de *M. incognita* en 4 tipos de suelo encontrados comúnmente en Costa Rica.

### MATERIALES Y METODOS

La presente investigación fue realizada durante 1990 en el Laboratorio de Nematología de la Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica. Una primera etapa consistió en preparar plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) para mantener y reproducir una población de *M. incognita* y asegurar así una fuente homogénea y abundante de J2 de este nematodo. Inicialmente los huevos de *M. incognita* fueron obtenidos al macerar raíces agalladas de tomate en una licuadora durante 20 seg; el material fragmenado fue posteriormente procesado por el método desarrollado por Hussey y Barker (1974), con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%. Los huevos fueron inoculados a un suelo tratado con vapor de agua a 100°C durante 3 días. Luego fue sembrada una plántula de tomate en macetas que contenían 3 L de este suelo.

Por otra parte, fueron colectados 4 suelos, cada uno en una localidad diferente, donde los problemas causados por este nematodo podrían ser importantes y los cultivos sembrados son de una rentabilidad tal que justificarían la eventual aplicación de tácticas para el manejo del nematodo, así como el costo de un muestreo previo a la siembra, que permita estimar la densidad poblacional inicial de *M. incognita*. Esto último es necesario para definir la necesidad de aplicar las tácticas de manejo. Estos suelos fueron colectados en Fraijanes de Alajuela, San Isidro de Pérez Zeledón, Pital de San Carlos y Ujarrás de Paraíso. Algunas características y la clasificación de estos suelos son presentados en el Cuadro 1.

Una vez en el laboratorio estos suelos fueron tratados con vapor de agua a 100°C durante al menos 3 días. Posteriormente fueron tomadas muestras de 100 ml y procesadas por el método de cernido y centrifugación en solución azucarada

Cuadro 1. Algunas características de 4 suelos tropicales utilizados para investigar la eficacia de recuperación de *Meloidogyne incognita*.

Característica	Tipo de suelo			
	San Isidro	Fraijanes	Pital	Ujarrás
Materia orgánica (%)	4,48	11,24	4,39	3,95
pH en agua	5,90	5,40	5,50	6,90
Arena (%)	26,00	61,00	44,25	46,00
Limo (%)	26,00	35,00	14,50	30,00
Arcilla (%)	46,00	4,00	41,25	24,00
Textura	Arcillosa	Franco-arenosa	Arcillosa	Franca
Gran Grupo	Haplo-humults	Melanudands	Humitropepts	Dystropepts

(CCSA) (Jenkins, 1964) para asegurarse que el tratamiento hubiera sido eficaz. Una vez que fue comprobado que no era posible recuperar nematodos de estos suelos, se consideró que los mismos estaban listos para la investigación.

Cuatro meses después de la inoculación de las plantas de tomate fueron extraídos los J2. Las raíces con agallas fueron lavadas con suficiente agua, cortadas en trozos de 5 cm y maceradas en una licuadora durante 20 seg. El material licuado fue vertido sobre una criba de 100 mallas colocada encima de una de 400. Los residuos retenidos en ambas cribas fueron pasados a un embudo de espiga larga que tenía una tela de lino y dos hojas de papel absorbente. Este material fue mantenido ahí durante 24 h; al cabo de este período los J2 suspendidos en el agua fueron recuperados de la parte inferior de la espiga y suspendidos nuevamente en 100 ml de agua; de este volumen fueron obtenidas 10 alícuotas de 1 ml y distribuidas individualmente en cámaras de plexiglas. Con la ayuda de un esteroscopio fue contado el número de J2 en cada alícuota. La suspensión madre fue mantenida en agitación constante con la ayuda de un burbujeador durante todo el proceso de inoculación de los suelos usados en la investigación. Las muestras de suelo fueron inoculadas con una suspensión que tenía 200 J2 y posteriormente mantenidas en reposo durante 12 h; este período de estabilización fue considerado necesario para que los J2 se distribuyeran en el suelo.

El método de extracción usado fue el CCSA, descrito inicialmente por Caveness y Jensen (1955)

y modificado por Miller (1957) y Jenkins (1964). Este método tiene 2 fases. En la primera la muestra, de 100 ml de suelo, es lavada a presión con 4 L de agua en un recipiente plástico de 5 L de capacidad. El suelo en suspensión se sedimenta durante 20 seg; al cabo de este período se pasa el supernadante a través de un juego de cribas de 100 y 400 mallas. El lavado de la muestra es repetido una vez más. En la segunda fase el residuo de suelo retenido en la criba de 400 mallas es pasado a un tubo de centrífuga de 50 ml y centrifugado por 3 min a 1560 gravedades. El líquido supernadante es descartado y posteriormente sustituido por una solución azucarada con una gravedad específica de 1,17 (471 g de sacarosa/L de solución). La muestra es nuevamente centrifugada; el supernadante es vertido a través de una criba de 400 mallas y lavado con abundante agua. Posteriormente la suspensión de nematodos es pasada, con ayuda de una piseta con agua, a un platillo siracusa. En algunos casos este siracusa es colocado sobre una plantilla cuadrículada para facilitar el conteo de los nematodos recuperados.

En primera instancia fue evaluado el efecto del remojo previo de la muestra (12 h en agua, 24 h en agua, 2 h en una suspensión del detergente Irex™ y un testigo sin remojo) sobre la ER de los J2 de *M. incognita*. En este caso los 4 tratamientos fueron repetidos 6 veces. Los tratamientos de remojo durante 12 y 24 h fueron aplicados luego de un período de estabilización de 12 h y con agitación de las muestras. En el caso del tratamiento con detergente, 10 g del producto comercial fueron suspendidos en 1 L de agua y la suspensión resultante fue añadida hasta saturar cada muestra de suelo; posteriormente la misma fue agitada. El tratamiento que tuvo la mayor ER fue incorporado en la siguiente prueba, que consistió en evaluar el efecto del número de lavados de la muestra (1, 2 ó 3 veces) y el tiempo de sedimentación (20, 40 ó 60 seg) sobre la ER. Para esto fue utilizado un arreglo factorial con 5 repeticiones.

## RESULTADOS

### Remojo de la muestra

Se encontró que, tanto en el suelo Haplohumults (Ha) como en el Melanudands (Me), no hubo diferencias significativas entre tratamientos; la ER fue mayor, eso sí, en el suelo Me que en el Ha (Cuadro 2). En contraste con lo anterior, en el caso de los suelos Humitropepts (Hu) y Dystropepts

(Dy), se encontró que los remojos a la muestra por 12 y 24 h tuvieron valores de ER significativamente mayores que el testigo sin remojo. Conviene anotar, sin embargo, que los valores de la ER en todos los suelos fueron inferiores al 25% (Cuadro 2); en este sentido también es interesante mencionar que los valores más altos de la ER fueron obtenidos en el suelo Me. En el suelo Dy el remojo en agua por 24 h tuvo una ER levemente superior a la obtenida en el suelo Me. Los valores de ER obtenidos con el tratamiento sin remojo (testigo) corresponden a los obtenidos con la metodología de uso corriente; estos valores variaron entre un 18% en el suelo Me y un 5% en el suelo Hu.

Cuadro 2. Eficiencia de recuperación (%) de segundos estados juveniles de *Meloidogyne incognita* en 4 suelos tropicales sometidos a diferentes tratamientos de remojo.

Horas en agua*	Tipo de suelo			
	Haplohumults	Melanudands	Humitropepts	Dystropepts
0	12 a**	18 a	5 b	7 b
12	12 a	24 a	20 a	14 ab
24	13 a	17 a	16 ab	17 a
24+D***	12 a	20 a	15 ab	12 ab

\* Horas de remojo en agua.

\*\* Promedio de 6 repeticiones.

Promedios en una misma columna seguidos por una misma letra no difieren significativamente entre sí (Duncan, P=0,05).

\*\*\* 24 h + detergente durante 2h.

### Tiempo de sedimentación y número de lavados

En los Cuadros 3 son presentados los valores promedio de la ER para los 4 suelos, en función del tiempo de sedimentación y el número de lavados. En el suelo Ha no hubo efectos significativos del tiempo de sedimentación y del número de lavados sobre la ER; la interacción tiempo de sedimentación X número de lavados tampoco fue significativa (Cuadro 3). En el suelo Me hubo un efecto significativo del tiempo de sedimentación sobre la ER, según una relación lineal definida por la ecuación  $Y = 14,8 + 0,084x$  y una  $r^2 = 0,627$ . El efecto del número de lavados y la interacción tiempo de sedimentación X número de lavados no fueron significativas en este suelo (Cuadro 3). En el caso del suelo Hu (Cuadro 3), el efecto del tiempo de sedimentación y la interacción tiempo

de sedimentación X número de lavados no fueron significativos. El efecto del número de lavados sobre la ER fue significativo y estuvo definido por una relación lineal negativa, de acuerdo con la ecuación  $Y = 26,341,63x$  y con una  $r^2=0,499$ . En el suelo Dy el efecto del tiempo de sedimentación fue significativo y estuvo definido por una relación lineal negativa, según la ecuación  $Y = 19,0320,061x$  y con un  $r^2=0,466$ . El efecto del número de lavados y la interacción tiempo de sedimentación X número de lavados no fueron significativos. Es interesante mencionar otros resultados; por ejemplo, en el suelo Hu la ER disminuyó al aumentar el tiempo de sedimentación, situación contraria a lo ocurrido en el suelo Ha. En los suelos Ha y Dy las mayores ER fueron obtenidas con sólo un lavado. En el suelo Ha los valores de la ER variaron entre 10 y 20%; este último fue obtenido con una combinación de 60 seg de sedimentación y 3 lavados. En el Me los valores variaron entre 17 y 23%; la mayor ER fue obtenida con una combinación de 60 seg de sedimentación y un solo lavado. En el Hu estos valores oscilaron entre 11 y 19%; este último fue obtenido al combinar 20 seg de sedimentación con un solo lavado. Finalmente, en el caso del suelo Dy la ER varió entre 6 y 10%; el mayor valor fue obtenido al combinar 40 seg de sedimentación con un solo lavado. En general, la ER fue mayor en el suelo Me, de textura franco arenosa, que en los otros, de textura arcillosa o franca.

## DISCUSION

El remojo de las muestras en agua, previo a su procesamiento, por 12 y 24 h, permitió obtener una mayor ER, tanto en el suelo Hu como en el Dy, lo que concuerda con hallazgos previos de varios autores (Wehunt, 1973; Escobar y Volcy, 1978), en el sentido de que el remojo por estos mismos períodos permitió obtener los mejores resultados en suelos de textura arcillosa y franca. En este caso particular, una posible explicación de los resultados obtenidos en estos 2 suelos es que el remojo saturó de agua los macroporos y dispersó las partículas, lo que podría haber favorecido la recuperación de los nematodos al ponerlos en suspensión. Otra posible explicación es que en estos suelos los remojos podrían afectar positivamente la recuperación de J2, al facilitar la suspensión de ciertas partículas de suelo que quedarían retenidas por las cribas y evitarían el paso rápido de un volumen considerable de agua a través de ellas; esta

Cuadro 3. Efecto del número de lavados y el tiempo de sedimentación sobre la eficiencia de recuperación (%) de segundos estados juveniles de *Meloidogyne incognita* en 4 suelos tropicales.

Número de lavados	Tiempo de sedimentación (seg)			
	20	40	60	Promedio*
Haplohumults				
1	16 a**	18 a	16 a	17 a
2	12 a	16 a	17 a	15 a
3	14 a	10 a	20 a	15 a
Promedio***	14 a	15 a	18 a	
Melanudands				
1	18 a	19 a	23 a	20 a
2	17 a	20 a	21 a	19 a
3	20 a	22 a	21 a	21 a
Promedio	18 b	20 ab	22 a	
Humitropepts				
1	19 a	17 a	16 a	17 a
2	18 a	18 a	13 a	16 a
3	14 a	12 a	14 a	13 b
Promedio	17 a	16 a	14 a	
Dystropepts				
1	9 a	10 a	9 a	9 a
2	10 a	7 a	6 a	8 a
3	10 a	8 a	7 a	8 a
Promedio	9 a	8 ab	7 b	

\* Promedio del número de lavados proveniente de 15 observaciones.

\*\* Promedio de 5 repeticiones.

\*\*\* Promedio de tiempo proveniente de 15 observaciones. Promedios seguidos por una misma letra no difieren significativamente entre sí (Duncan,  $P=0,05$ ).

agua podría arrastrar los J2 y hacer que se perdieran; por otra parte, también es posible que estas partículas retenidas obstruyan los poros de las cribas y atrasen la operación, tal y como ha sido señalado previamente por Wehunt (1973). Las anteriores explicaciones, sin embargo, pareciera que no son aplicables al suelo Ha, ya que el remojo no tuvo efecto significativo alguno en este suelo, a pesar de tener un mayor contenido de arcilla (46%) que los suelos Hu y Dy. Es posible que en el suelo

Ha factores diferentes a la textura influyan en la recuperación de J2, por lo que pareciera conveniente realizar una investigación en la que sean incluidos un mayor número de suelos representativos de cada Gran Grupo; lo anterior tal vez permita definir con claridad si la textura es, en realidad, el parámetro afectado por los tratamientos de remojo que permite una mayor recuperación de los J2 de *M. incognita*. En todo caso, estos resultados inducen a concluir que no se puede generalizar en el sentido de que en todos los suelos arcillosos o francos se incrementará la ER si los mismos son sometidos a algún tratamiento de remojo previo a su procesamiento para la extracción de J2 de *M. incognita*. En el caso del suelo Me, podría postularse que su alto contenido de arena (61%) podría haber favorecido su dispersión y evitar de esta forma que las partículas de este suelo se agrupen y atrapen los nematodos; lo anterior podría explicar el que, en este suelo, el remojo previo no tuvo efecto significativo alguno. También es posible que el remojo haya promovido una dispersión excesiva de las partículas del suelo, lo que facilitaría la pérdida de los nematodos en el agua de los lavados que pasa a través de las cribas; esta posibilidad también ha sido mencionada previamente por otros investigadores (Alvarado y López, 1985; Hernández y López, 1989).

Por otra parte, es interesante anotar que el remojo con una suspensión de detergente promovió la formación excesiva de espuma y dificultó la extracción, lo que incrementa el costo del análisis. Tal y como ha sido señalado anteriormente, la mayor ER en esta primera fase de la investigación fue obtenida en el suelo Me, de textura franco arenosa, en comparación con el suelo franco (Dy) y los arcillosos (Hu y Ha). Lo anterior concuerda plenamente con lo informado previamente por numerosos autores (Caveness y Jensen, 1955; Kimpinski y Welch, 1979; Spaul y Braithwaite, 1979; Volcy, 1978; Viglierchio y Schmitt, 1983; Hernández y López, 1989). Es posible que la ER en esta primera fase haya estado ligada, en cierto grado, al volumen de agua utilizada para lavar las muestras, así como al juego de cribas empleadas.

En lo concerniente al tiempo de sedimentación, los resultados obtenidos en los suelos Ha y Hu podrían en parte estar relacionados al contenido de arcilla de los mismos; estas partículas podrían mantenerse en suspensión aún después de 60 seg, el tiempo máximo de sedimentación

evaluado, por lo que no se produciría efecto significativo alguno sobre la ER. En el caso del suelo Me, el resultado obtenido es opuesto a lo informado por Hernández y López (1989) para un suelo franco arenoso, pero el resultado de estos autores concuerda con los obtenidos en esta investigación con el suelo Dy. Lo anterior podría estar relacionado con la textura de ambos suelos; sin embargo, cabe la posibilidad de que otros factores estén involucrados, ya que el mayor acúmulo de partículas en el suelo Me y el menor en el suelo Dy podrían permitir una buena separación y retención de los nematodos en pasos posteriores del proceso. El tiempo de sedimentación podría, como resultado final, permitir un mayor acúmulo de partículas en la criba. La acumulación de partículas probablemente dependa del tiempo y la velocidad de sedimentación de los diferentes contenidos texturales de cada suelo, así como de la forma de agregación de los mismos. Pareciera entonces conveniente procesar una mayor cantidad de suelos dentro de cada Gran Grupo para poder definir claramente como actúan los diferentes factores, ya que parece que, para algunos suelos y dependiendo de estos factores, la acumulación de partículas podría favorecer la recuperación, pero para otros resultaría todo lo contrario. Otra posibilidad podría ser que los tiempos de sedimentación no sean lo suficientemente separados entre sí como para ejercer efecto alguno sobre la eficiencia de recuperación tomando en cuenta los factores antes mencionados.

En el caso del número de lavados, su efecto sobre la ER sólo fue significativo en el suelo Hu. Este resultado podría estar relacionado con lo encontrado por Hernández y López (1989), en el sentido de que el mayor número de lavados incrementa el volumen de suelo residual, lo que a su vez dificulta la recuperación de J2 en los pasos posteriores del proceso; lo anterior podría agudizarse en la fase de centrifugación, debido a una posible compactación de las partículas finas de suelo. Un solo lavado podría ser suficiente para recuperar la mayor cantidad posible de J2 en los suelos evaluados, mientras que los lavados adicionales podrían contribuir únicamente a gastar más agua y aumentar el tiempo que toma el proceso, así como su costo. Es posible también que, tal y como ha sido señalado (McSorley y Parrado, 1981), conforme aumente el número de lavados se incremente la pérdida de J2 por arrastre en el agua.

## RESUMEN

El efecto del remojo de la muestra en agua (12 ó 24 h) o en una solución detergente (2h), del número de lavados de la muestra (1, 2 ó 3) y del tiempo de sedimentación (20, 40 ó 60 seg) sobre la eficacia de recuperación (ER) de segundos estados juveniles de *Meloidogyne incognita* en suelos Haplohumults (Ha), Melanudands (Me), Humitropepts (Hu) y Dystropepts (Dy), fue estudiado en condiciones de laboratorio. Se encontró que el remojo en agua durante 12 ó 24 h aumentó significativamente la ER en los suelos Hu y Dy. El número de lavados afectó la ER en el suelo Hu, de acuerdo con el modelo  $Y = 26,341,63X$ , mientras que el tiempo de sedimentación afectó la ER en los suelos Me y Dy, de acuerdo con los modelos  $Y = 14,8 + 0,084X$  y  $Y = 19,0320,061X$ , respectivamente.

## LITERATURA CITADA

- ALVARADO, M.; LOPEZ, R. 1985. Extracción de algunos nematodos fitoparásitos mediante modificaciones de las técnicas de centrifugación flotación y embudo de Baermann modificado. *Agronomía Costarricense* 9(2):175-180.
- BARKER, K.R.; OLTHOF, T.H.A. 1976. Relationships between nematode population densities and crop responses. *Annual Review of Phytopathology* 14: 327-353.
- CAVENESS, F.E.; JENSEN, H.J. 1955. Modification of the centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 22(2):87-89.
- ESCOBAR, R.; VOLCY, C. 1978. Evaluación de métodos de extracción de nematodos en suelos de textura fina. *Fitopatología Colombiana* 7(1):19-23.
- HERNANDEZ, O.; LOPEZ, R. 1989. Eficiencia de recuperación de *Meloidogyne incognita* (Nemata:Heteroderidae) en dos suelos tropicales. *Agronomía Costarricense* 13(2): 169-174.
- HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. 1974. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57:1025-1028.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48(9):692.
- KIMPINSKI, J.; WELCH, H.E. 1979. Comparison of Baermann funnel and sugar flotation extraction from compacted and non compacted soils. *Nematologica* 17:319-320.
- LOPEZ, R.; SALAZAR, L. 1989. Microscopía electrónica de rastreo de varias poblaciones del nematodo nodulador del café, *Meloidogyne exigua* (Nemata: Heteroderidae). *Turrialba* 34(3): 299-304.
- LOPEZ, R.; SALAZAR, L.; AZOFEIFA, J. 1991. Observaciones sobre la morfología de *Meloidogyne incognita* con el microscopio electrónico de rastreo. *Agronomía Costarricense* 15(1/2): 105-112.
- Mc SORLEY, R. 1987. Extraction of nematodes and sampling methods. In *Principles and practice of nematode control in crops*. Ed. by R.H Brown y B.R. Kerry. Orlando, Academic Press. p. 27-36.
- Mc SORLEY, R.; PARRADO, J.L. 1981. Effect of sieve size on nematode extraction efficiency. *Nematropica* 11(2):165-174.
- MILLER, P.M. 1957. A method for the quick separation of nematodes from soil samples. *Plant Disease Reporter* 41(3):194.
- SPAULL, V.W.; BRAITHWAITE, J.M. 1979. A comparison of methods for extracting nematodes from soil and roots of sugarcane. *Proceedings of the South African Sugar technologist's Associations* 53:103-107.
- VIGLIERCHIO, D.R.; SCHMITT, O. 1983. On the methodology of nematode extraction from field samples: comparison of methods for soils extraction. *Journal of Nematology* 15(3):450-454.
- VOLCY, C. 1978. Evaluación de métodos de extracción de nematodos en suelos de diferentes texturas. *Fitopatología Colombiana* 7:15-18.
- WEHUNT, E.J. 1973. Sodium-containing detergents enhance the extraction of nematodes. *Journal of Nematology* 5(1):79-80.