

Janeiro e Fevereiro de 1988

VOL. XXXV

N.º 197

Viçosa — Minas Gerais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**EFEITO DE TEMPERATURA, LUZ E INTERVALO
DE COLETA NA EXTRAÇÃO DE NEMATÓIDES
DO SOLO PELO MÉTODO DO FUNIL
DE BAERMANN^{1/}**

Maria de Lourdes Mendes ^{2/}
Silamar Ferraz ^{2/}
Adair José Regazzi ^{3/}

1. INTRODUÇÃO

Dentre as técnicas de extração mais comuns, o método do funil de Baermann e suas modificações assumem papel relevante na fitonematologia, por serem simples e de fácil execução e não dependerem de equipamentos caros e sofisticados. Desde sua introdução, por Baermann, em 1917, o princípio da técnica do funil tem sofrido inúmeras modificações, tornando-se parte de muitos processos de extração (6). São muitos os princípios mecânicos e biofísicos envolvidos, que dependem da habilidade dos nematóides para se moverem entre as partículas do solo ou através de filtros apropriados e das propriedades físicas, tanto do solo como dos nematóides (10, 12, 19).

A quantidade de nematóides extraídos de uma amostra de solo depende de vários fatores como temperatura, condições de armazenamento, espécies presentes na

^{1/} Parte da tese de mestrado apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Viçosa.

Aceito para publicação em 25-08-1987.

^{2/} Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. CEP 36570 Viçosa, MG.

^{3/} Departamento de Matemática da Universidade Federal de Viçosa. CEP 36570, Viçosa, MG.

amostra (1, 3, 4, 7, 8, 9, 17), qualidade da água (17, 21), luz (5) e textura do solo (14, 18, 23).

A influência da temperatura na recuperação de diferentes gêneros de fitonematóides foi investigada por vários pesquisadores (3, 4, 9). ADAMS (1) verificou que temperaturas entre 15 e 25°C proporcionaram os melhores resultados; fora desses limites, o número de nematóides extraídos era reduzido. Este trabalho mostra que a temperatura altera a tendência da população de nematóides durante o processo de extração.

Com relação à influência da água na extração de nematóides, THORNE (21) chamou a atenção para a ocorrência de cloro, normalmente presente na água de torneira, o qual pode ser prejudicial aos nematóides. Entretanto, KERR e VYTHILINGAM (17), tendo testado água de diferentes origens, não conseguiram detectar efeito algum sobre a quantidade de nematóides extraídos.

A influência da luz sobre os nematóides também não tem sido muito estudada. Contudo, o interesse tem-se voltado, principalmente, para o estudo do efeito do fototropismo sobre diferentes nematóides fitoparasitas, e algumas referências foram dadas por CAIRNS (6). Mais recentemente, BOUCHÉ e BONNEL (5) verificaram que a luz fluorescente estimulava a extração de nematóides do solo.

Em virtude de seu aspecto prático, o método do funil de Baermann pode ser empregado em qualquer laboratório. Entretanto, a perda de nematóides inativos ou pouco ativos, retidos no solo, aderidos às paredes do funil ou mortos por falta de oxigênio, constitui uma das desvantagens desse método, segundo vários pesquisadores (2, 6, 12, 15).

Conduziu-se o presente trabalho com o objetivo de estudar a influência da temperatura, da luz e do intervalo de coleta na extração de nematóides pelo funil de Baermann e determinar as perdas que ocorrem durante a execução do método.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em solo naturalmente infestado com *Tylenchorhynchus* sp., *Paratylenchus* sp., *Scutellonema* sp., *Xiphinema* sp. e nematóides de vida livre. As amostras de solo foram coletadas em área cultivada com rami (*Boehmeria nivea*). A coleta foi realizada aleatoriamente, à profundidade de até 20cm, e o solo acondicionado em sacos de polietileno. O material foi homogeneizado, passado através de peneira de malha grossa e dividido em subamostras de 50g. Foram realizadas as análises química e granulométrica, e a classe textural foi identificada como franco-argilo-arenoso (Quadros 1 e 2). Todas as subamostras foram processadas mediante o emprego do método do funil de Baermann, como descrito por FLEGG e HOOPER (12). Para tal, empregaram-se funis de plástico (8,0 cm de diâmetro), com um tubinho de borracha preso à extremidade da haste e fechado com uma presilha. Cada subamostra de solo foi distribuída sobre camada dupla de lenço de papel («Scottys»), disposta sobre tela de náilon. O conjunto foi, então, colocado no funil com água, ajustando-se o volume com o auxílio de piseta, de modo que a água ficasse em contato com o solo. Para reduzir a evaporação, os funis foram cobertos com tampa de placa de Petri (FIGURA 1).

2.1. Efeito da Temperatura na Extração de Nematóides

O ensaio foi conduzido em câmaras de temperatura controlada, nos níveis de 17, 20, 24 e 26 ± 1°C. O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado e constou de duas repetições, cada uma delas com oito determinações. Foi conduzido também um tratamento adicional, à temperatura ambiente, que osci-

QUADRO 1 - Análise química do solo utilizado como substrato na extração de nematóides. UFV, Viçosa, MG, 1986¹

Classe textural	pH em Água (1:2,5)	ppm		eq.mg/100g de solo		
		P	K	C ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Al ⁺⁺⁺
Franco-argilo-arenoso	6,6	360,0	148,0	6,0	1,8	0,0

1/ Análises efetuadas pelo Laboratório de Fertilidade de Solos da Universidade Federal de Viçosa.

QUADRO 2 - Análise granulométrica do solo utilizado como substrato na extração de nematóides. UFV, Viçosa, MG, 1986¹

Classe textural	Areia (%)	Silte (%)	Argila (%)
Franco-argilo-arenoso	59,00	15,00	26,00

1/ Análise efetuada pelo Laboratório de Fertilidade de Solos da Universidade Federal de Viçosa.

lou de 23 a 26°C. Para evitar qualquer efeito de luz e uniformizar os tratamentos, os suportes que continham os funis foram cobertos com plástico preto. Após 24h, coletou-se uma amostra de 10 ml da suspensão de nematóides de cada funil. O volume dos funis foi reconstituído com o auxílio de piseta. Completadas 48h, nova amostragem foi realizada. O somatório do número de nematóides obtidos nas duas amostragens foi considerado o número total de nematóides recolhidos de cada subamostra.

2.2. Efeito da Luz ou de Escuro Contínuos na Extração de Nematóides

O estudo foi realizado em câmara com temperatura regulada para 20±1°C. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos, presença contínua de luz ou ausência contínua de luz, e três repetições. Para cada repetição fizeram-se oito determinações. No tratamento com presença de luz, os funis que continham as subamostras de solo foram expostos à luz (intensidade de 12.750 lux) fornecida por seis lâmpadas fluorescentes GE/F 96 T 12 CW, à distância de 20 cm. No tratamento com ausência de luz, os funis foram completamente cobertos com plástico preto, para formar uma câmara escura. Completadas 24h, coletou-se uma amostra de 10ml de suspensão de nematóides por funil e procedeu-se à contagem.

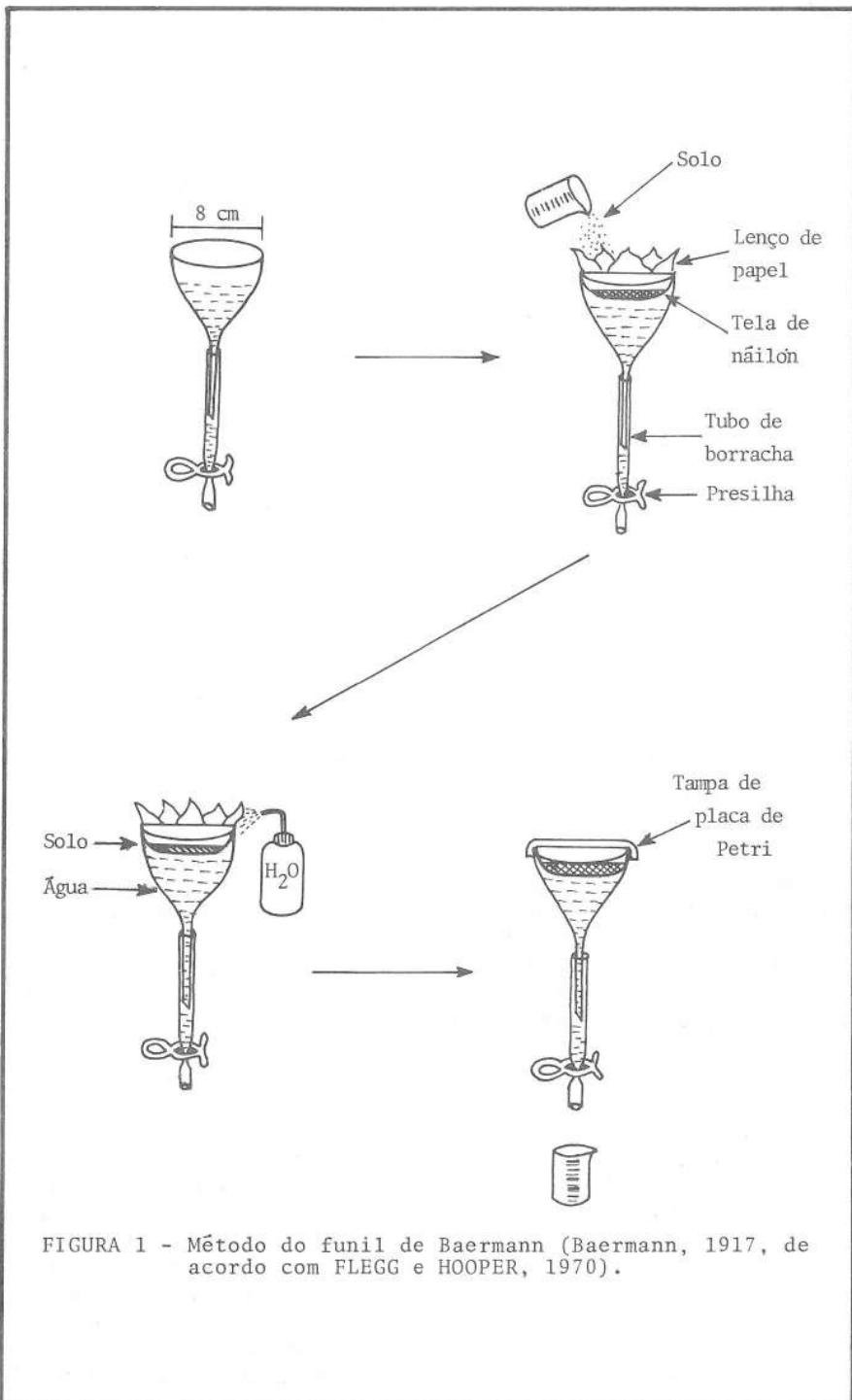


FIGURA 1 - Método do funil de Baermann (Baermann, 1917, de acordo com FLEGG e HOOPER, 1970).

2.3. Avaliação do Intervalo de Coleta e Perdas de Nematóides durante a Extração pelo Método do Funil de Baermann

O ensaio foi conduzido em câmara com temperatura controlada: $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Neste ensaio, estudaram-se diferentes intervalos de coleta. Os intervalos de coleta, 12, 24, 48 e 72h, representaram os tratamentos, constituídos de três repetições, cada uma delas com oito determinações, no delineamento inteiramente ao acaso. Avaliaram-se também as perdas durante a extração. Para tanto, coletou-se o restante da suspensão do funil, lavaram-se a tela de náilon e o funil com forte jato de água de uma piseta e extraíram-se os nematóides retidos no lenço de papel e no solo remanescente no funil pelo método da flutuação centrifuga de JENKINS (16).

Na análise dos dados utilizou-se a estatística descritiva, uma vez que os referidos resultados não atenderam às pressuposições de uma análise, do ponto de vista da estatística indutiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito da Temperatura na Extração de Nematóides

Os resultados obtidos neste experimento estão expressos em percentagem relativa do total de nematóides extraídos por gênero.

A maior percentagem relativa de recuperação dos nematóides estudados foi obtida com a técnica executada a 20°C , verificando-se tendência de decréscimo com o aumento da temperatura (Quadro 3, Figura 2). Os nematóides do gênero *Tylenchorhynchus* foram os únicos cujo máximo de extração ocorreu na temperatura ambiente. Provavelmente, nematóides desse gênero não são afetados pela variação de temperatura, na faixa testada (17 a 26°C), durante o processo de extração.

A pequena variação no número de nematóides extraídos nas diferentes temperaturas sugere que o intervalo testado (17 a 26°C) localiza-se na faixa de temperatura ótima para muitos gêneros, como relatado por vários pesquisadores (1, 7, 8, 11, 17, 20). CHAWLA e SHARMA (7), estudando o efeito da temperatura na extração de larvas do nematóide dos citros (*Tylenchulus semipenetrans*), verificaram que a temperatura ótima está situada no intervalo de 17 a 27°C e admitiram uma correlação entre redução na extração e aumento da temperatura acima de 20°C , como demonstrado no presente trabalho. Tendência semelhante foi observada, para o nematóide cavernícola (*Radopholus similis*) por TARJAN (20), que obteve maior quantidade de nematóides dessa espécie quando raízes de citros foram incubadas entre $20,6$ e $21,7^{\circ}\text{C}$. Os resultados também coincidem com os de KERR e VYTHILINGAN (17), que relataram que temperatura igual ou superior a 27°C , durante o processo de extração, reduz acentuadamente o número de *Pratylenchus loosi* e formas saprofíticas do solo. Entretanto, FLEGG (11) advertiu que a temperatura ótima para a extração de duas espécies congêneres pode ser bem diferente. Assim, observou que maior quantidade de *Xiphinema diversicaudatum* foi obtida na faixa de 14 a 20°C , enquanto para *X. vittnezi* o máximo foi extraído com 25°C . Essa diferença foi relacionada pelo autor (11) com a distribuição geográfica das duas espécies: *X. diversicaudatum* é predominante no norte da Europa, ao passo que *X. vittnezi* é abundante na região do Mediterrâneo.

3.2. Efeito da Luz ou Escuro Contínuos na Extração de Nematóides

A presença de luz contínua no ambiente de extração, aparentemente, não afeta a extração de *Tylenchorhynchus* sp. e *Scutellonema* sp. (Quadro 4, Figura 3).

QUADRO 3 - Efeito da temperatura na extração de nematóides pelo método do funil de Baerman. UFV, Viçosa, MG, 1986

Temperaturas (°C)	Média do número de nematóides extraídos/50g de solo												Total S (m̂)	
	<i>Tylenchorhynchus</i>			<i>Paratylenchus</i>			<i>Scutellonema</i>			<i>Xiphinema</i>				
	$\bar{m}^1/$	S (m̂)	m̂	S (m̂)	m̂	S (m̂)	m̂	S (m̂)	m̂	S (m̂)	m̂	S (m̂)		
17	117,50	10,82	28,34	18,34	5,84	2,49	4,16	2,49	784,14	183,30	188,00	150,47		
20	147,50	25,85	30,00	26,69	7,50	0,83	9,15	2,50	917,92	327,33	222,41	175,79		
24	120,00	31,83	15,00	6,68	2,50	0,83	7,50	5,84	705,00	208,34	170,00	135,50		
26	110,00	35,00	19,15	5,84	2,50	0,83	6,65	3,34	603,00	319,58	148,26	115,37		
Ambiente ^{2/}	165,00	18,36	24,16	2,50	3,32	0,00	5,00	3,34	802,45	162,46	200,00	153,58		
Total	132,00	10,41	23,33	2,51	4,33	1,00	6,49	0,89	762,50	52,42				

1/ Média de duas repetições. Cada repetição é baseada na média de oito determinações.

2/ Oscilou entre 23 e 26°C.

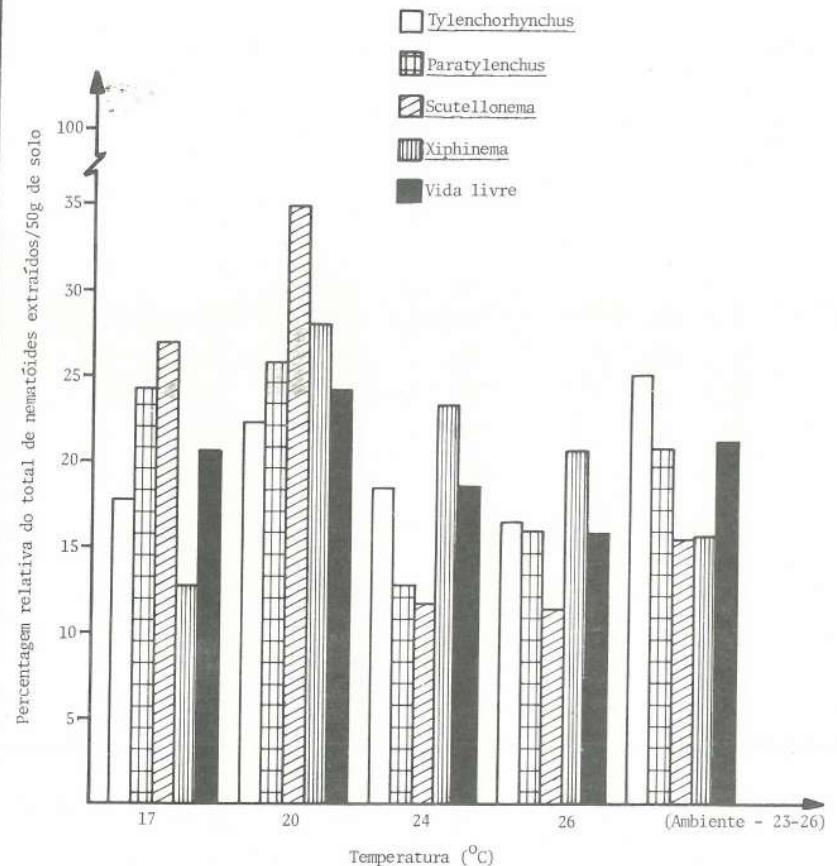


FIGURA 2 - Influência da temperatura na extração de nematóides pelo método do漏il de Baermann.

QUADRO 4 - Efeito da luz ou escuro contínuo na extração de nematóides pelo método do funil de Baermann. UFV, Viçosa, MG, 1986.

Tratamentos	Média do número de nematóides extraídos/50g de solo							
	<i>Tylenchonychus</i>		<i>Paratylenchus</i>		<i>Scutellonema</i>		<i>Xiphinema</i>	
	\bar{m} ^{1/}	S(\bar{m})	\bar{m}	S(\bar{m})	\bar{m}	S(\bar{m})	\bar{m}	S(\bar{m})
Luz contínua ^{2/}	317,45	59,35	17,09	11,13	29,05	13,11	12,25	8,06
Escuro contínuo	302,14	74,57	15,02	11,14	27,98	11,89	9,44	2,42
Total	309,80	7,65	16,05	1,40	28,52	0,54	10,85	1,41
							651,45	63,94

1/ Média de três repetições. Cada repetição é baseada na média de oito determinações.

2/ Lâmpadas fluorescentes (12750 lux).

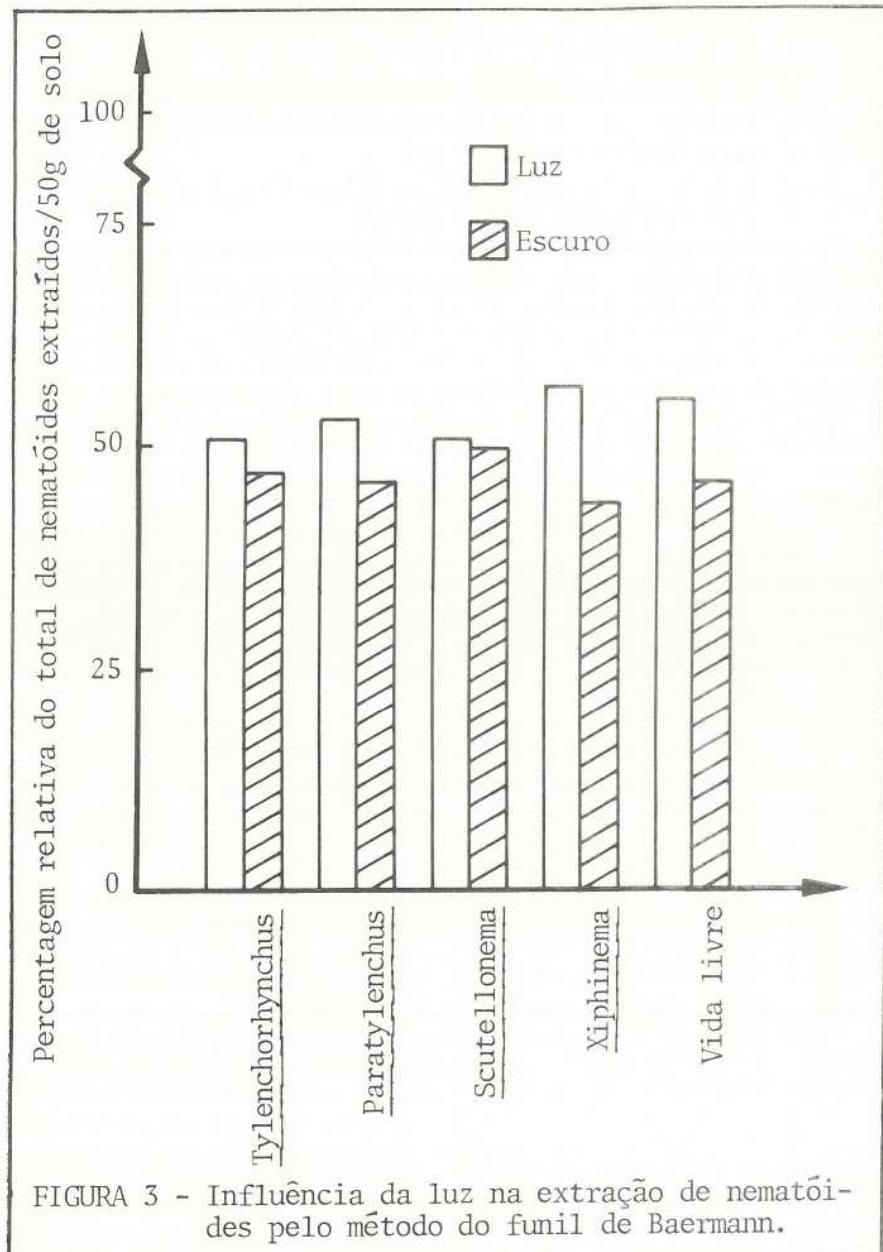


FIGURA 3 - Influência da luz na extração de nematóides pelo método do funil de Baermann.

Porém, para *Xiphinema* sp., *Paratylenchus* sp. e nematóides de vida livre, a extração aumentou com a luz contínua. A percentagem relativa de *Xiphinema* sp. extraída aumentou de 13% com a presença contínua de luz fluorescente, ao passo que para nematóides de vida livre e *Paratylenchus* sp. o aumento foi de 7 e 11%, respectivamente. Essa tendência já havia sido observada por BOUCHE e BONNEL (5), que verificaram que a luz fluorescente propiciava maior extração de

nematóides e Enchytridae do solo. Provavelmente, a luz exerce fototropismo negativo sobre os organismos do solo, talvez excitando-os e, consequentemente, estimulando sua motilidade.

O efeito da luz sobre a tendência de nematóides é pouco estudado. Assim, sugerem-se estudos mais aprofundados, que envolvam diferentes gêneros de nematóides e regimes de luz, para elucidar esse efeito.

3.3. Avaliação do Intervalo de Coleta e Perdas de Nematóides durante a Extração pelo Método do Funil de Baermann

A quantidade de nematóides extraídos em todos os intervalos de coleta foi muito baixa. Para nenhum gênero testado a percentagem relativa do total extraído atingiu 20%. Entretanto, observou-se variação entre os intervalos que propiciaram maior extração de cada gênero. O número de *Tylenchorhynchus* sp. e *Scutellonema* sp. extraídos em todos os intervalos testados foi praticamente o mesmo. Extraiu-se maior número de *Paratylenchus* sp. e de nematóides de vida livre após 24 e 72h, respectivamente. *Scutellonema* e *Xiphinema* foram os gêneros extraídos em menor quantidade em todos os intervalos estudados, menos de 6% (Quadro 5, Figura 4). Esse pequeno número, possivelmente, resultou do grande tamanho desses nematóides e da sua baixa motilidade, em especial *Xiphinema* sp.

Resultados semelhantes foram obtidos por alguns pesquisadores com certos gêneros de fitonematóides. Utilizando a técnica do funil de Baermann, HARRIS e BRAITHWATTE (13) obtiveram praticamente o mesmo número de larvas de *Meloidogyne* sp. nos intervalos de 48 e 72h. Já *Pratylenchus* sp., *Rotylenchus* sp. e Hoplolaiminae tiveram aumento considerável com 72h. CHAWLA e SHARMA (7) verificaram que o máximo de extração de larvas de *Tylenchulus semipenetrans* ocorreu nas primeiras 24h.

Observou-se que a maior fração de nematóides não extraídos por meio do método do funil de Baermann foi detectada no menor intervalo de coleta (Figura 4). Praticamente, a percentagem de nematóides não-extraídos foi sempre superior à extraída, em todos os intervalos de coleta, exceto *Paratylenchus* sp. e nematóides de vida livre. O número de *Paratylenchus* sp. e nematóides de vida livre extraídos foi superior às perdas nos intervalos de 24 a 72h.

Avaliando três tipos de perdas, (i) nematóides retidos no solo e no lenço de papel, (ii) contidos no resto de suspensão e (iii) aderidos às paredes do funil e à tela de náilon, verificou-se que, para os cinco gêneros estudados, a maior fração perdida deveu-se à retenção no solo e no lenço de papel, em todos os intervalos testados, atingindo até 100% em alguns casos (Quadro 6).

Perdas de nematóides durante o processo de extração também foram identificadas por alguns pesquisadores. FLEGG (11), utilizando a técnica de decantação e peneiramento de Cobb, com separação final no funil de Baermann, verificou que, para *Xiphinema diversicaudatum*, 7 a 11% do total ficaram retidos nos resíduos ou nas paredes do funil, enquanto, para *Longidorus macrosoma*, alta percentagem de adultos ($50 \pm 13\%$) ficou retida entre os poros da peneira. VIGLIERCHIO e SCHMITT (22), utilizando o método do funil de Baermann, registraram perdas, atribuídas à retenção no papel utilizado no funil, de 5 a 10%, para larvas de *Meloidogyne incognita*, e de 5 a 35%, para *Ditylenchus dipsaci*, no intervalo de 24h.

Em razão de sua baixa eficiência, o funil de Baermann não é uma boa técnica para a extração de nematóides. Na ausência de técnicas mais precisas, se for empregado em determinações quantitativas ou qualitativas, o período de 24 horas é suficiente, pois o aumento da quantidade extraída é consideravelmente pequeno em períodos maiores.

QUADRO 5 - Influência do intervalo de coleta na extração de nematóides pelo método do funil de Baermann. UFV, Viçosa, MG, 1986

Intervalos de Coleta (h)	Média do número de nematóides extraídos/50g de solo										
	<i>Tylenchomorphus</i>			<i>Paratylenchus</i>			<i>Scutellonema</i>			<i>Xiphinema</i>	
	$\bar{m}^1/$	$S(\bar{m})$	\bar{m}	$S(\bar{m})$	\bar{m}	$S(\bar{m})$	\bar{m}	$S(\bar{m})$	\bar{m}	$S(\bar{m})$	
1,2	291,40	33,02	8,44	4,08	72,58	31,36	16,63	6,64	531,50	132,75	184,11
24	298,45	91,12	15,20	11,03	66,27	25,23	11,70	0,96	571,34	72,22	192,59
48	342,00	71,00	8,20	4,66	84,40	32,78	26,83	7,34	741,22	117,19	240,53
72	338,60	75,59	10,17	6,17	88,06	51,28	20,36	5,31	787,61	60,09	248,96
Total	317,61	13,20	10,50	1,63	77,83	5,07	18,88	3,19	657,92	62,74	147,20

1/ Média de três repetições. Cada repetição é baseada na média de oito determinações.

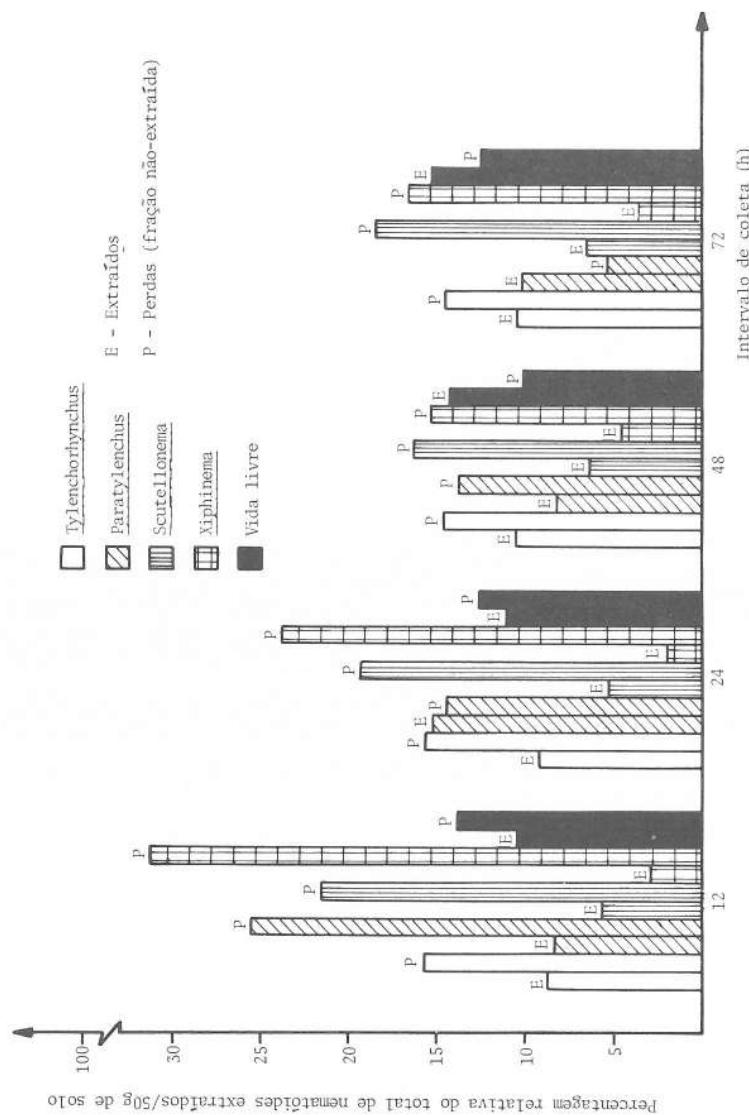


FIGURA 4 - Influência do intervalo de coleta e perdas de nematóides durante a extração pelo método do funil de Baermann.

QUADRO 6 - Nematóides encontrados (três tipos de perdas) no funil de Baermann em diferentes intervalos de coleta.
Dados expressos em percentagem relativa do total. UFV, Viçosa, MG, 1986

Intervalos de coleta (h)	<i>Tylenchorhynchus</i>			<i>Paratylenchus</i>			<i>Scutellonema</i>			<i>Xiphinema</i>			Vida livre		
	RS/1	OS	TF	RS	CS	TF	RS	CS	TF	RS	CS	TF	RS	CS	TF
12	88,04	11,96	0,00	78,83	13,35	7,82	93,34	6,66	0,00	92,54	7,46	0,00	70,36	28,34	1,30
24	89,37	9,99	0,64	100,00	0,00	0,00	94,38	5,62	0,00	88,04	10,80	1,16	81,61	16,00	2,39
48	89,80	10,20	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	92,84	5,80	1,36
72	92,86	7,14	0,00	100,00	0,00	0,00	97,23	2,77	0,00	93,09	6,91	0,00	86,73	11,51	1,76

1/ RS - retidos no solo; CS - contidos no resto da suspensão; TF - aderidos à tela de náilon e às paredes do funil.

4. RESUMO

A pequena variação na percentagem de nematóides extraídos nas diferentes temperaturas permite concluir que variação na faixa de 17 a 26°C não afeta, significativamente, a extração, verificando-se tendência de maior extração, para todos os gêneros, com 20°C. De modo geral, a quantidade de nematóides extraídos não aumentou com o aumento do intervalo da coleta. O período de 24h mostrou-se suficiente para a extração dos nematóides estudados. Exetuando *Paratylenchus* sp. e nematóides de vida livre, em todos os casos, a percentagem de perdas foi sempre maior que a percentagem de nematóides extraídos. As perdas mais representativas foram devidas a nematóides retidos no solo e no lenço de papel. A luz fluorescente, aparentemente, exerce fototropismo negativo sobre alguns gêneros de nematóides. As quantidades extraídas, tanto na presença de luz como no escuro contínuo, foram praticamente iguais, embora tenha sido observado um aumento de 7, 11 e 13% na extração de *Paratylenchus* sp., nematóides de vida livre e *Xiphinema* sp., respectivamente, com luz contínua. Para todos os gêneros testados e nas diversas condições estudadas, a quantidade de nematóides extraída mediante a técnica do funil de Baermann foi relativamente muito pequena.

5. SUMMARY

(EFFECT OF TEMPERATURE, LIGHT AND DURATION ON THE RECOVERY OF PLANT PARASITIC NEMATODES BY THE BAERMANN'S FUNNEL TECHNIQUE)

The efficiency of the Baermann funnel technique on the recovery of *Tylenchorhynchus* sp., *Paratylenchus* sp., *Scutellonema* sp., *Xiphinema* sp., from soil samples was similar at temperatures ranging from 17 to 26°C. Slightly better recovery occurred at 20°C, for these nematodes.

The number of nematodes recovered after 12, 24, 48 and 72 hours in the funnel were not significantly different. A high percentage of the nematodes was retained in the soil or in the paper tissue, and these were mainly the larger ones, such as in *Scutellonema* and *Xiphinema*. Maintaining the funnels in continuous light or continuous dark did not substantially effect the number of nematodes recovered. It was verified in all assays that the efficiency of the Baermann funnel technique is quite low.

6. LITERATURA CITADA

1. ADAMS, R.E. Temperature and the quantitative recovery of nematodes with a modified Baermann funnel. *Plant Disease Reporter* 49(8):662-664. 1966.
2. AYOUB, S.M. *Plant nematology, an agricultural training aid*. Sacramento, State of California, Dept. of Food and Agric., 1977. 157 p.
3. BARKER, K.R. & NUSBAUM, C.J. Diagnostic and advisory programs. In: ZUKCKERMAN, B.B.; MAI, W.F. & RHODE, R.A. (eds.). *Plant Parasitic Nematodes*. vol. 1. New York, Academic Press, 1971. p. 281-301.
4. BARKER, K.R.; NUSBAUM, C.J. & NELSON, L.A. Effects of storage temperature and extraction procedure on recovery of plant-parasitic nematodes from field soils. *Journal of Nematology* 1(3):240-247. 1969.

5. BOUCHÉ, M.B. & BONNEL, L. L'extraction éthométrique de la faune hydrocinétique endogée. III. Premiers résultats relatifs aux Enchytraeidae et aux Nématodes. *Pedobiologia* 13(4):292-300. 1973.
6. CAIRNS, E.J. Methods in nematology: A review. In: SASSER, J.N. & JENKINS, W.R. (eds.). *Nematology-Fundamentals and Recent Advances with Emphasis on Plant Parasitic and Soil Forms*. Chapel Hill, University of North Carolina Press, 1960. p. 33-84.
7. CHAWLA, M.L. & SHARMA, S.B. Effect of temperature on recovery of *Tylenchulus semipenetrans* through modified Baermann funnel technique. *Indian Journal of Nematology* 14(1):64-65. 1984.
8. CHAWLA, M.L.; HAQUE, M.M. & PRASSAD, S.R. Techniques in nematology. I. Effect of temperature on nematode extraction. *Indian Journal of Nematology* 3(1):1-7. 1974. In: *Helminthological Abstract Serie B* 44:896. 1975.
9. ELMILIGY, I.A. Recovery and survival of some plant-parasitic nematodes as influenced by temperature, storage time and extraction technique. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent* 36(4): 1333-1339. 1971. In: *Helminthological Abstract Serie B* 42:374. 1973.
10. ESCOBAR, R. & VOLCY, C. Evaluación de métodos de extracción de nemátodos em suelos de textura fina. *Fitopatología Colombiana* 7(1):19-23. 1978.
11. FLEGG, J.J.M. Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by modification of Cobb's decanting and sieving technique. *Annual of Applied Biology* 60(2):429-437. 1967.
12. FLEGG, J.J.M. & HOPPER, D. J. Extraction of free-living stages from soil. In: SOUTHEY, J.F. (ed.). *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*. London, Min. Agric., Fish. and Food, Her Majesty's Stationery Office, 1970. p. 5-22. (Tech. Bull. no. 2).
13. HARRIS, R.H.G. & BRAITHWATTE, J.M.C. Evaluation of methods for separating nematodes from soil. *Proceedings of the South African Sugar Technologists Association* 50(6):1-5. 1976.
14. HARRISON, J.M. & GRENN, C.D. Comparison of centrifugal and other methods for standardization of extraction of nematodes from soil. *Annual of Applied Biology* 82(2):299-308. 1976.
15. HOOPER, D.J. Extraction and handling of plant and soil nematods. In: PEACHEY, J.E. (ed.). *Nematodes of Tropical Crops*. London, Commonwealth Agric. Bureaux, 1969. p. 20-36 (Tech. Communication no. 40).
16. JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48(9):692. 1964.
17. KERR, A. & VYTHILINGAM, M.K. Factores influenciant la extraction de nematodes from soil. *Nematologica* 12(2):511-517. 1966.

18. KIMPINSKI, J. & WELCH, H.E. Comparison of Baermann funnel and sugar flotation extraction from compacted and non-compacted soils. *Nematologica* 17(2):319-320. 1971.
19. OOSTENBRINK, M. Comparison of techniques for population estimation of soil and plant nematodes. In: PHILLIPSON, J. (ed.). *Methods of Study in Soil Ecology*. Paris, UNESCO, 1970. p. 249-255.
20. TARJAN, A.C. Observations on extracting citrus nematodes, *Tylenchulus semipenetrans*, from citrus roots. *Plant Disease Reporter* 56(2):186-188. 1972.
21. THORNE, G. *Principles of Nematology*. New York, McGraw-Hill, 1961. 533 p.
22. VIGLIERCHIO, D.R. & SCHMITT, R.V. On the methodology of nematode extraction from field samples: Baermann funnel modifications. *Journal of Nematology* 15(3):438-444. 1983.
23. VIGLIERCHIO, D.R. & SCHMITT, R.V. On the methodology of nematode extraction from field samples: comparison of methods for soil extraction. *Journal of Nematology* 15(3):450-454. 1983.