

provenientes de Chillogallo y Sabañag, son diferentes en el tamaño del quiste y su contenido de huevos y larvas, color, patogenicidad e índices de multiplicación (Tabla 2). Esto confirma lo indicado por Eguiguren (1).

Entre los índices de incremento de poblaciones bajo condiciones de campo e invernadero no existen diferencias considerables y guardan una relación entre sí, excepto con la variedad Chola en cuyas raíces el patógeno se reprodujo considerablemente.

Un alto porcentaje de larvas eclosionaron de los quistes con muy pocas variaciones entre variedades. Estos resultados difieren de los datos de campo donde el porcentaje promedio para todas las variedades es de 90 (Tabla 2).

Lógicamente las condiciones de invernadero son diferentes a las del campo; la temperatura es posiblemente la más crítica. En el invernadero la temperatura mínima es de 12 C, y la máxima de 30 C.

AGRADECIMIENTO

A los señores ingenieros César Wandemberg y Carlos Molina por su valiosa colaboración.

ABSTRACT

Under field and greenhouse conditions, population increases of *Heterodera* sp. on the most important Ecuadorian potato varieties were studied. The populations were analyzed according to the rate of multiplication, that is, the relation between initial (Pi) and final (Pf) population. The varieties studied were: Chola, Catalina, Puña, Uvilla, of the species *Solanum andigenum* L., and Chaucha of *S. phureja*.

LITERATURA CITADA

1. Eguiguren, R. y C. Barba. 1972. VII Reunión Latinoamericana de Papa, 3-13 pp;
2. Garcés, W. 1975. Tesis de Grado. U.C. Quito, 200 pp;
3. Kort, J. 1971. Int. Nematol. Course, 8 pp;
4. Seinhorst, J. W. 1970. Annual Review of Phytopathology 8: 131-156;
5. s'Jacob, J. y J. van Bezooijen. 1967. A manual of practical work in nematology, 47 pp.

MERLINIUS INTERMEDIUS (NEMATODA: TYLENCHOIDEA) A NEW SPECIES FROM PORTUGAL INTERMEDIATE BETWEEN *M. ICARUS* AND *M. MACRURUS* [MERLINIUS INTERMEDIUS (NEMATODA: TYLENCHOIDEA) UNA NUEVA ESPECIE DE PORTUGAL ENTRE *M. ICARUS* Y *M. MACRURUS*].
 Maria A. C. Bravo, Estação Agronómica Nacional, Oeiras, Portugal.

ABSTRACT

Merlinius intermedius n. sp. was found in Oeiras, Portugal associated with tomato roots growing in a sandy loam soil. It is closely related to *M. icarus* and *M. macrurus* but differs from both species in number of head and tail annules (8-10 : 53-75, respectively). The range of measurements and *a*, *b*, *c* and *V* ratios of females of *M. intermedius* overlap some of the corresponding values of the

related species. Ratios a , b and c of males of the new species are much more similar to the corresponding ratios of *M. icarus*. Only the highest values of the length range of *M. macrurus* coincide with the smallest lengths of the new species.

INTRODUCTION

Steiner (6) originally described from Switzerland a species of nematodes which he named *Aphelenchus dubius*. Goodey (3) regarded a population which he found in England conspecific with Steiner's species but considered it a species of *Anguillulina*. Goodey gave the name *Anguillulina macrura* to the species because *Anguillulina dubia* (Bütschli, 1873) Goodey, 1932 preempted use of Steiner's specific epithet. Filipjev (2) changed the name of this species to *Tylenchorhynchus macrurus* (Goodey, 1932) Filipjev, 1936. Allen (1) redescribed the species and assumed that Goodey's identification was correct. He observed that there were two size forms of *T. macrurus*, a small form and a large form, both of which occurred at the same place in a grass plot in Rothamsted Experimental Station and he regarded both forms as *T. macrurus*. Wallace & Greet (9) decided therefore that two sizes represented distinct species and regarded the small form as *T. macrurus* while they named the large form *T. icarus* Wallace & Greet, 1964. They based their separation of the two forms on differences in body length, number of annules on the female tail, stylet length and width of the body. Siddiqi (5) transferred both species to the genus *Merlinius*. Steiner's description was based on the small form and because *T. dubius* (Bütschli, 1873) Filipjev, 1936 was kept in the genus *Tylenchorhynchus*, Steiner's specific name became valid and *T. macrurus* of Wallace & Greet (9) was designated as *Merlinius dubius* (Steiner, 1914) Siddiqi, 1970. Steiner's description lacked much essential information and Tarjan (8) regarded *Aphelenchus dubius* Steiner, 1914 [= *Merlinius dubius* (Steiner, 1914) Siddiqi, 1970] as *species inquirenda*. He considered *Anguillulina macrura* Goodey, 1932, which is adequately described and illustrated to be *Merlinius macrurus* (Goodey, 1932) Siddiqi, 1970 on account of its citation in synonymy with *M. dubius*.

The new species described here as *Merlinius intermedius* is closely related to both *M. icarus* and *M. macrurus*. It was associated with tomato roots in a sandy loam soil in Oeiras, Portugal. Ryegrass (*Lolium perenne* L.) has since succeeded tomato in the area. The nematodes were killed and fixed with hot F.A. 4/1, processed by Seinhorst's glycerol-ethanol method (4), and mounted in glycerin.

MERLINIUS INTERMEDIUS N. SP.

(Fig. 1)

MEASUREMENTS: 30 Females: L=1.35mm(1.14-1.55mm); $a=30(24-37)$; $b=6.7(5.9-7.5)$; $c=18(15-20)$; V=53(50-57); stylet=37 μ m(31-39 μ m); no. of tail annules=65(53-75).

Holotype (female): L=1.34mm; $a=29$; $b=7.1$; $c=19$; V=51; stylet=38 μ m; T/ABW=2.3; no. of tail annules=63.

10 Males: L=1.14mm(1.07-1.23mm); $a=34(31-36)$; $b=6.1(5.6-6.8)$; $c=16(14-17)$; stylet=35 μ m(34-36 μ m); spicules=37 μ m(33-39 μ m); gubernaculum=12 μ m(11-13 μ m).

Allotype (male): L=1.18mm; $a=36$; $b=6.2$; $c=16$; stylet=34 μ m; spicules=36 μ m; gubernaculum=12 μ m.

DESCRIPTION: Female: Body cylindrical, ventrally bent when nematodes are killed with heat, tapering anteriorly to the lip region (Fig.1, A). Lip region with

8 to 10 annules, mostly 10, continuous with body (Fig. 1, B). Labial framework heavily sclerotized. Stylet large with prominent round knobs sloping backwards slightly. Protractor muscles of stylet attached to inner margins of the labial framework. Oesophageal glands enclosed in a definite bulb separated from intestine by a large cardia. Excretory pore opening near level of anterior end of basal bulb. Hemizonid just anterior to excretory pore. Cuticle marked by transverse striae, about 1.2-1.6 μ m wide at middle of body. Lateral fields with 6 incisures, not areolated, joining in pairs just before terminus. Deirids present. Ovaries paired, opposed and outstretched with single row of oöcytes. Spermathecae round, containing spermatozoa. Tail usually cylindrical (Fig. 1, C), in some specimens lightly clavate, with terminus annulated and with abnormally thickened cuticle (10-16 μ m). Phasmids prominent at middle of tail.

Male: Similar to female. Bursa well developed, enveloping tail (Fig. 1, D). Spicules well developed and ventrally arcuate. Gubernaculum large and arcuate. Phasmids prominent and situated at middle of tail.

TYPE LOCALITY: Tomato roots and soil, Quinta do Marquês, Oeiras, Portugal.

TYPE MATERIAL: Holotype female, 5 paratype females, allotype and 3 paratype males at Nematology Department, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts., England; 18 paratype females and 4 paratype males at Nematology Section, Estação Agronômica Nacional, Oeiras, Portugal; 3 paratype females and 3 paratype males at U.S.D.A. Nematode Collection, Crops Research Division, Beltsville, Maryland, U.S.A.; 4 paratype females at Nematology Department, Landbouwhogeschool, Wageningen, The Netherlands.

DIAGNOSIS: *Merlinius intermedius* n. sp. very closely resembles *M. icarus* and *M. macrurus*; measurements of the 3 species are compared in Table 1. The range of lengths of females of the new species is between *M. macrurus* and *M. icarus*, overlapping the highest values of length range for *M. macrurus* and the lowest for *M. icarus*. The length of stylet and ratios *a*, *b* and *V* of *M. intermedius* females are more similar to *M. icarus* than to *M. macrurus*. On the other hand the ratio *c* is more similar to that of *M. macrurus* than to *M. icarus*. However, all ranges of the ratios of *M. intermedius* overlap some of the corresponding ranges of the other 2 species.

Ratios *a*, *b* and *c* of *M. intermedius* males are more similar to the corresponding ratios of *M. icarus* than to those of *M. macrurus*, but the stylet length is more similar to *M. macrurus* than to *M. icarus*. The length range of males of *M. intermedius* lies between the other two species overlapping only the higher length of the range for *M. macrurus*. Lengths of the spicules and gubernacula are similar to those listed by Tarjan (8) for *M. macrurus* and *M. icarus*.

Merlinius intermedius is an intermediate species between *M. icarus* and *M. macrurus*, which complicates its differentiation from those species. It differs from both species in having a larger number of tail annules (53-75 vs 50-59 for *M. icarus* and 39-47 for *M. macrurus*), mostly 10 labial annules (8 for the other 2 species) and stylet and body length ranges distinctly intermediate to those of the other two species.

I am grateful to David J. Hooper for allowing me to examine specimens of *M. icarus* and *M. macrurus* and to A. M. Golden and A. C. Tarjan for critically reviewing the manuscript.

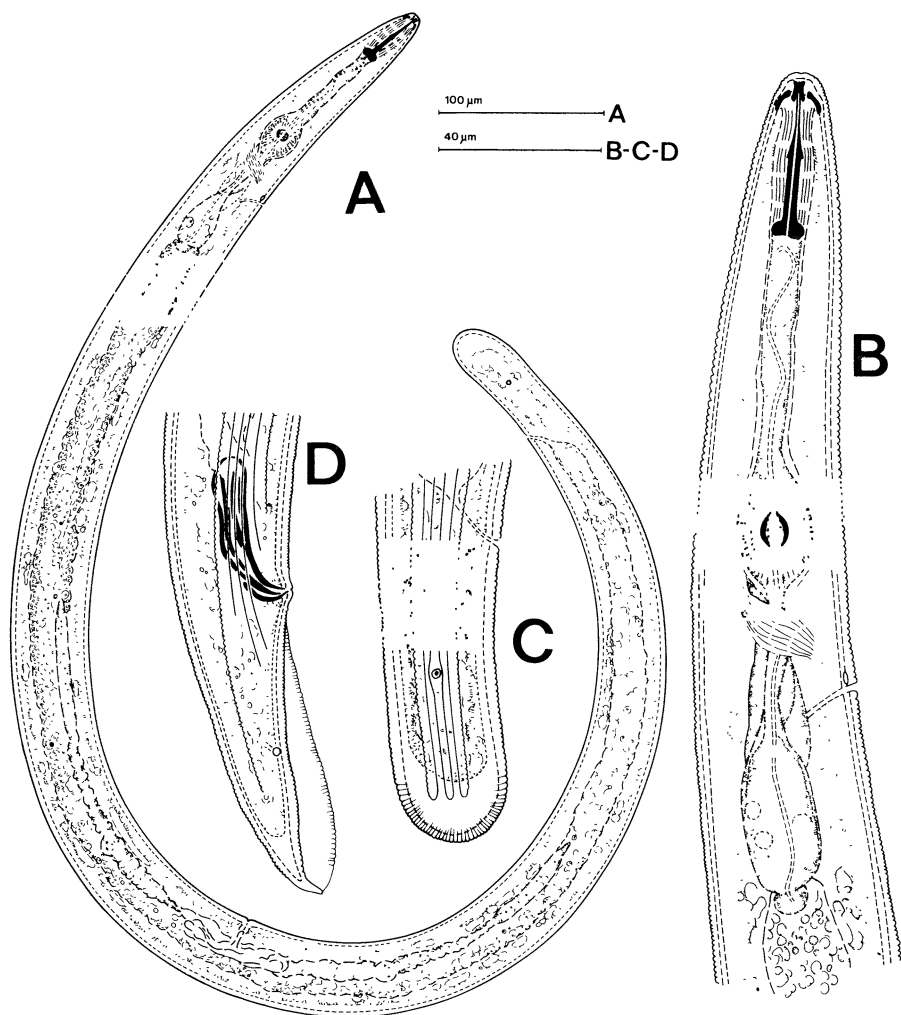


Fig. 1. *Merlinius intermedius* n. sp. Paratype specimens. A, Female. B, Female oesophageal region. C, Female tail. D, Male tail.

Table 1. Measurements and ratios of *M. icarus*, *M. macrurus* (according to Wallace & Greet, 1964) and *M. intermedius* n. sp.

Females	<i>M. icarus</i>	<i>M. intermedius</i> n. sp.	<i>M. macrurus</i>
Length in mm	1.45-1.96	1.35 (1.14-1.55)	0.83-1.19
a	29-34	30 (24-37)	19-25
b	5.9-6.9	6.7 (5.9-7.5)	4.8-6.3
c	19-25	18 (15-20)	14-20
V	50-57	53 (50-57)	54-59
T/ABW	2.2*	2.4 (2.0-3.0)	2.4*
Stylet length in μm	34-42	37 (31-39)	25-34
No. of tail annules	50-59	65 (53-75)	39-47
Labial annules	8	10 (8-10)	8
Males			
Length in mm	1.31-1.68	1.14 (1.07-1.23)	0.84-1.15
a	28-37	34 (31-36)	21-26
b	5.1-6.7	6.1 (5.6-6.8)	4.7-5.4
c	14-18	16 (14-17)	10-13
Stylet length in μm	36-48	35 (34-36)	30-39
Spicule length in μm	40*	37 (33-39)	39*
Gubernaculum length in μm	12*	12 (11-13)	11*

*Data according to Tarjan (8)

RESUMEN

El *Merlinius intermedius* n. sp. fue encontrado en un suelo cultivado con tomate pero en el que se había cultivado *Lolium perenne* L. La nueva especie se asemeja mucho a *M. icarus* y *M. macrurus* por la estructura de su cutícula región labial continua con el cuerpo, armazón cefálica fuertemente desarrollada, estructura del estilete con nódulos basales redondeados y bien desarrollados, campos laterales con 6 líneas longitudinales, estructura del esófago con bulbo medio ovoide y válvula grande bien desarrollada, posición del poro excretor cerca del comienzo del bulbo terminal, espermateca redondeada, cola de la hembra cilíndrica con anillos en la punta, cola del macho con bursa copulatrix grande que envuelve la cola, espículas algo arqueadas y gubernáculo sencillo ligeramente curvo. Las dimensiones de las hembras están entre las respectivas dimensiones de las dos especies, traslapando algunos de sus valores, pero en el macho, mientras los valores de *a*, *b* y *c* se asemejan mucho mas a los correspondientes valores del *M. icarus*, la longitud del cuerpo es mas parecida a los del *M. macrurus*. Aparentemente la nueva especie difiere de las especies *M. icarus* y *M. macrurus* por el número mayor de anillos en la cabeza (8-10) y el número mayor de anillos en la cola de la hembra (53-75).

LITERATURE CITED

1. Allen, M. W. 1955. Univ. Calif. Publ. Zool. 61:129-166; 2. Filipjev, I. N. 1936. Proc. Helm. Soc. Wash. 3:80-82; 3. Goodey, T. 1932. J. Helminthol. 10:75-180; 4. Seinhorst, J. W. 1959. Nematologica 4:67-69; 5. Siddiqi, M. R. 1970. Proc. Helm. Soc. Wash. 37:68-77; 6. Steiner, G. 1914. Arch. Hydrobiol. 9:259-276; 7. Tarjan, A. C. 1964. Proc. Helm. Soc. Wash. 31:270-280; 8. Tarjan, A. C. 1973. Proc. Helm. Soc. Wash. 40:123-144; 9. Wallace, H. R. & D. N. Greet. 1964. Parasitology 54:129-144.

TECNICAS DE COLORACION CON HALOGENOS PARA MOSTRAR DETALLES CUTICULARES DE NEMATODOS [HALOGEN STAINING TECHNIQUES FOR DEMONSTRATING CUTICULAR DETAILS IN NEMATODES]. R. Rodríguez-Kábana, y Peggy S. King, Department of Botany and Microbiology, Auburn University, Auburn, Alabama, E.E.U.U., 36830.

RESUMEN

Este trabajo presenta resultados de un estudio sobre la adaptación de técnicas de coloración con haluros de plata para visualizar detalles cuticulares de nemátodos con el microscopio de luz. Los nemátodos utilizados en el estudio fueron matados lentamente en una solución diluida de formalina (0.01 - 0.10 % v/v). Después de relajados los especímenes se fijaron con formalina (10% v/v) o paraformaldehído, y se lavaron con agua demineralizada. En la técnica de iodización, los nemátodos fijados se sumergieron en 1 ml de una solución de iodo 0.01 N en un platillo cóncavo de Syracuse de 2 cm de diámetro. La duración del periodo de inmersión fué de 1 min para *Hoplolaimus galeatus*, 5 min para *Belonolaimus gracilis*, *Pelodera chitwoodi*, y *Tylenchorhynchus claytoni*, y 10 min para *Helicotylenchus dihyssera*. Después de la iodización, los especímenes fueron transferidos a otro platillo con agua demineralizada y se lavaron por 2-30 seg. *B. gracilis* requirió 7-10 min de inmersión en agua para tener resultados satisfactorios. Después de lavados, los nemátodos fueron sumergidos en 0.2 N NO_3Ag por 3-4 min y después montados en agua para la observación microscópica. Para la mayoría de los nemátodos la técnica de la iodización permitió buena visualización de los campos laterales, estrias y estructuras cefálicas. Sin embargo, para *H. galeatus* el uso del método de bromización fué superior a la técnica de iodización. El método de bromización consistió en sumergir nemátodos fijados en una solución de $\text{Br}_2\text{-BrK}$ (1 ml Br_2 en 390 ml de 2 % (w/v) BrK) por 1 min, seguido de lavado en agua por 30 seg y tratamiento con 0.2 N NO_3Ag por 3-4 min.

INTRODUCCION

La clasificación taxonómica de nemátodos es difícil para el principiante debido a las dificultades que presentan la observación de caracteres morfológicos esenciales para esta clasificación. La observación se complica cuando sólo se dispone de microscopios ordinarios que no poseen el poder resolutivo necesario para determinar detalles tan finos. En el pasado, ya se han sugerido técnicas de coloración para permitir un resalte de caracteres (3, 10). Así tenemos que Bedding (2) nos propuso el uso de soluciones acuosas de NO_3Ag para estos fines. También, Cairns