

Bacillus thuringiensis subsp. *indiana* BtTH109의 토마토 뿌리혹선충에 대한 치사효과

이광배 · 김광현*

대구보건 전문대 위생과. *동의대학교 자연대 미생물학과

Nematicidal Effect of *B. thuringiensis* subsp. *indiana* Strain BtTH109 on Root-Knot Nematode of Tomato

Lee, Kwang-Bae and Kwang-Hyeon Kim*

Department of Hygienics, Taegu Health College, Taegu, 702-260, Korea

*Department of Microbiology, College of Natural Science, Dongeui University,
Pusan, 614-714, Korea

Abstract — For a biological control of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato, efficiency of *Bacillus thuringiensis* subsp. *indiana* strain TH109 (BtTH109) on the nematode control was investigated. After the mixture of strain BtTH109 and wheat bran was treated into rhizosphere of the tomato plants with nematode eggs, the stem height and root growth of plants increased. And the juveniles and eggs of nematode are not found in both roots of tomatoes and pot soil after cultured broth of the strain BtTH109 treated 4 times at 3 day-interval into rhizosphere of the infected tomatoes.

뿌리혹선충이 토양내에 존재하면 숙주 식물의 뿌리에 기생하여 숙주식물의 영양분을 섭취함으로서 작물의 수확량이 감소될 뿐만 아니라(1, 2), 선충의 2령 유충이 숙주식물의 뿌리에 침투될 때 토양중에 있는 부생선충의 침입과 식물병원균에 의한 2차적인 감염으로 식물의 생육에 지장을 초래하기도 한다(3). 이와같이 뿌리혹선충에 의한 농작물의 피해는 오래 전부터 알려져 왔으며(1, 2, 4) 우리나라에서도 최와 추(5)가 이미 보고한 바 있다. 특히 최근에는 원예작물의 재배농가가 증가됨에 따라 뿌리혹선충에 의한 피해는 심각하지만 대부분이 화학약제 투입으로 방제하고 있는 실정이다(6). 그러나 화학약제의 투입에 의한 뿌리혹선충의 방제는 환경오염 뿐만 아니라 토양내의 유용미생물의 무분별한 살균작용에 따른 피해가 가중되어 토양을 점차로 척박하게 하는 원인이 된다. 이와같은 이유로 최근에는 미생물에 의한 뿌리혹선충의 방제(7-12)가 연구되어 왔으며, 본인 등은 이미 *in vitro* 상태에서 영남지방의 낙동강 유역의 사질 토양에 존재하는 뿌리혹선충인 *M. incognita*의 알과 유충에 강한 살충성을 나타내는 *B. thuringiensis* su-

bsp. *indiana* BtTH109(BtTH109 균주)를 분리하였다(13). 따라서 본 논문에서는 이 BtTH109 균주를 이용한 뿌리혹선충의 생물학적 방제의 일환으로 *in vivo* 상태에서도 BtTH109 균주가 뿌리혹선충에 대한 치사력이 있는지를 조사하고자 BtTH109 균주의 균체나 배양액을 직접 뿌리혹선충이 감염된 토마토의 근부에 투여하여 뿌리혹선충에 대한 BtTH109 균주의 치사효과를 조사하였다.

재료 및 방법

대상식물 및 사용균주

토마토는 *Lycopersicum pimpinellifolium*(김해종묘산)을 시중에서 구입하였고, 뿌리혹선충은 *Meloidogyne incognita*를 토양에서 분리하여 화분 내에서 배양하였다. 또한 균주는 본인이 이미 분리한 *Bacillus thuringiensis* subsp. *indiana* BtTH109(13)와 박소득 박사(경상북도 농촌진흥원)로부터 분양 받은 *Paecilomyces lilacinus*가 사용되었다.

균주의 배양 방법

Key words: Biological control of *Meloidogyne incognita*, root-knot nematode, *Bacillus thuringiensis*

*Corresponding author

하룻밤 동안 진탕배양(130 rpm)시킨 후, 그 배양액 0.5 ml를 100 ml의 TGY 배지(trypotone 0.5%, yeast extract 0.5%, glucose 1%, K₂HPO₄ 0.1%, pH 7.2)를 함유한 250 ml 삼각 flask에 재접종하여 30°C에서 5일 동안 진탕배양(130 rpm)하였다. 또한 *P. lilacinus*는 TGY 액체배지를 0.1 N HCl로 pH 5.4로 조정하여 250 ml 용 삼각 flask에 접종하고 28°C에 5일간 정치배양하였다.

토마토 생육 및 뿌리혹선충의 배양

토마토 생육은 Walters 등(9)이 기술한 바와같이 흙과 모래를 1:1로 혼합한 토양을 멀균(120°C, 20분)하여 소형의 화분(직경 10 cm)에 넣고 토마토 씨앗을 파종하였다. 파종 후 떡잎이 2~3엽이 나온 후 증식용 화분($\phi 24 \times 155$ cm)에 각각 16포기씩 이식하고, 본잎이 2~3엽이 될 때까지 토마토 유식물을 25°C의 온실에서 생육하였다. 그 후 뿌리혹선충의 알(5,000개/뿌리)을 토마토 뿌리 부근의 토양내에 접종하고, 뿌리혹선충이 한세대가 완료되는 시점인 접종일로부터 약 60일이 경과된 후에 토마토의 뿌리나 토양으로부터 뿌리혹선충의 알을 Caveness와 Jensen의 방법(16)에 따라 분리하여 사용하였다.

뿌리혹선충에 대한 방제시험

토마토의 생육은 뿌리혹선충을 감염시킨 후에는 실외에서 성장시키면서 외관상의 변화와 뿌리의 상태를 조사하였으며, 뿌리혹선충에 대한 방제시험은 실용성을 고려하여 2가지 방법으로 조사하였다. 첫번째는 BtTH109 균주의 균체(각각 5, 10, 20 mg)를 [밀기울: 물=100:70(W/V)] 혼합물 1 g과 섞어서 토마토 뿌리당 1 g을 투여하였다. 즉, 본잎이 2~3엽 나온 토마토의 뿌리 근처에 Stirling 등이 기술한 방법(17)에 따라 뿌리혹선충의 알(7,600개/뿌리)과 균체-밀기울의 혼합물을 주입하였으며 대조구는 균체를 제외하고는 모두 동일한 조건으로 처리하였다. 선충의 알이 접종된 토마토는 실외에서 성장시키면서(3월 하순에서 5월 초순) 날짜 별로 외형상의 변화과정과 선충이 한세대가 완료되는 시점인 접종일로부터 약 60일 후에 뿌리의 변화상을 조사하였다. 이때 사용된 균체량은 모두 건조균체량으로 나타내었으며, 뿌리에 형성된 gall은 육안으로 직접 그 수를 측정하였고, gall 주위에 돌출된 egg sac는 0.015% Phloxin B(sigma사) 용액에 15분간 염색(18)시킨 후 적색으로 염색된 egg sac의 수를 측정하였다(19). 또한 토양중의 뿌리혹선충의 유충과 알의 수는 60일 동안 생육시킨 토마토의 화분내에서 토양 300 g을 채취하여 그 속에

함유된 선충의 유충과 알을 Caveness와 Jensen의 방법(16)에 따라 분리하여 광학현미경으로 그 수를 측정하였다. 본 실험은 5반복으로 행하였고, 1반복 구에는 16포기의 토마토가 사용되었으며 이들의 측정결과는 평균값과 표준편차로 나타내었다.

두번째는 BtTH109 균주를 배양하여 그 배양여액을 토마토에 직접 투여하였다. 즉, Stirling 등이 기술한 방법(17)에 따라 뿌리혹선충의 알(5,000개/뿌리)을 본잎이 2~3엽 나온 토마토의 근부에 접종하고, BtTH109 균주의 배양여액을 3일 간격으로 4회까지 토마토 근부에 주입하면서 지상부의 생육에 따른 변화 및 지하부의 변화를 60일까지 관찰하였다(5월 중순에서 7월 초순).

결과 및 고찰

BtTH109 균주의 균체에 의한 뿌리혹선충의 제어 효과

뿌리혹선충이 접종된 토마토에 BtTH109 균주의 균체와 밀기울을 혼합하여 토양에 직접 주입 함으로서 비료의 효과와 동시에 균주의 증식에 따른 뿌리혹선충의 방제효과를 조사코자 하였다. 이때 대조구로서는 뿌리혹선충에 대한 방제효과가 인정되는 *P. lilacinus*의 균체가 사용되었다(8, 20). 토마토의 외형상의 변화는 뿌리혹선충의 알이 토마토 근부의 토양에 접종한 이후 20일이 경과되면서부터 그 증상이 나타나기 시작하였다(Table 1). 즉, 뿌리혹선충이 감염된 토마토는 선충을 감염시키지 않은 건강한 토마토에 비해 왜소한 현상을 보이는 반면에 BtTH109 균주 및 *P. lilacinus*로 처리된 토마토 유식물은 적어도 외형상으로는 토마토의 잎의 수나 키의 크기에서 뿌리혹선충의 감염증상에서 점차 회복되는 징후가 나타났다. 선충의 알이 접종된 후 25일이 경과하면서부터 뿌리혹선충에 감염된 토마토은 잎의 크기가 더욱 왜소화되고 전반적으로 노란색을 많이 띠는 황갈현상이 나타나기 시작하였으나, 양 균주가 처리된 토마토에서는 황갈현상이 나타나지 않았다. 또한 토마토 생육이 60일이 경과된 후에는 선충의 알에 의해 감염된 토마토의 유식물은 감염이 안된 건전한 유식물에 비해 약 33.2%(성장의 길이를 기준)와 36.3%(잎의 수를 기준)의 생장이 억제됨(Table 2)을 보여 뿌리혹선충의 감염이 토마토의 생장을 크게 억제한다는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

한편, 뿌리에서의 제어효과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 BtTH109 균주와 *P. lilacinus*를 동일한 량으로 처리했을 때 양 균주 모두는 선충이 감염된 토마토에

Table 1. Growth of Tomato plant on treatment of the strain TH109 and infection of *M. incognita*

Sample treatment	20 days		30 days		40 days		50 days	
	¹⁾ NL	²⁾ H	NL	H	NL	H	NL	H
³⁾ TH109	5 mg	27±3.4	29.0±3.2	39±5.5	40.2±3.2	42±5.3	43.8±3.8	51±2.5
	10 mg	32±5.5	28.9±3.8	42±4.2	42.7±3.7	47±5.2	44.8±4.3	55±4.2
	20 mg	30±5.3	34.8±4.5	48±4.1	53.2±4.2	52±2.8	56.8±4.3	61±3.2
⁴⁾ PI	5 mg	30±3.7	34.3±3.8	42±3.7	46.2±3.2	46±3.1	48.1±3.1	53±3.7
	10 mg	32±5.4	30.6±4.5	47±3.2	43.8±3.4	47±4.5	45.2±3.2	52±4.2
	20 mg	34±4.6	37.7±3.3	44±4.5	46.4±3.4	50±3.2	48.5±3.5	61±3.2
⁵⁾ Nematode only		20±3.3	28.6±3.8	29±3.6	35.7±3.7	34±4.0	36.5±3.5	44±4.6
⁶⁾ Untreated control		36±5.4	32.7±4.9	43±3.2	49.6±4.2	51±3.7	54.8±4.8	62±2.3
The data are means ± standard deviation of 5-replicates. Notes: ¹⁾ NL; Number of leaf, ²⁾ H; Tomato hight(cm), ³⁾ TH109; the strain BtTH109, ⁴⁾ PI; the strain <i>P. lilacinus</i> , ⁵⁾ The nematode eggs were infected into 7,600 eggs/root, ⁶⁾ Untreated control; healthy tomato without infection of the nematode eggs								

The data are means ± standard deviation of 5-replicates. Notes: ¹⁾NL; Number of leaf, ²⁾H; Tomato hight(cm),
³⁾TH109; the strain BtTH109, ⁴⁾PI; the strain *P. lilacinus*, ⁵⁾The nematode eggs were infected into 7,600 eggs/root,
⁶⁾Untreated control; healthy tomato without infection of the nematode eggs

Table 2. Influence of inoculum levels of the strain BtTH109 on control of the nematode

Sample treatment	Plant Growth Characters					Nematode Reproduction	
	Plant height (cm)	No. of Leaf	Root weight (g)	No. of galls /root	No. of egg sacs /root	Soil juveniles 300 g	egg sacs
¹⁾ TH109	5 mg	55.5±4.1	61±3.7	4.3±0.3	86±11	2,343±71	2,160±106
	10 mg	60.6±4.6	70±4.2	4.2±0.2	82±8	1,864±96	2,320±120
	20 mg	66.8±3.8	78±4.6	4.5±0.5	83±12	1,727±58	1,960±146
²⁾ PI	5 mg	56.5±5.2	60±3.4	4.1±0.1	83±13	2,219±98	3,364±146
	10 mg	58.4±3.4	66±3.8	4.4±0.4	87±15	2,211±87	2,243±134
	20 mg	63.6±3.6	69±4.2	4.2±0.2	84±6	1,732±73	2,151±115
³⁾ Nematode only		46.8±4.2	50±3.2	3.6±0.6	126±27	3,116±105	3,460±126
⁴⁾ Untreated control		67.0±3.6	79±3.8	5.0±0.1	—	—	—

The data are means ± standard deviation of 5-replicates. Notes: ¹⁾TH109; the strain BtTH109, ²⁾PI; the strain *P. lilacinus*, ³⁾The nematode eggs were infected into 7,600 eggs/root, ⁴⁾Untreated control; healthy tomato without infection of the nematode eggs

거의 동일한 정도의 방제효과를 나타내었다. *P. lilacinus*는 뿌리혹선충의 알의 주위를 trapping 하고 균사가 성장하여 선충의 알의 내부로 침투되어 알을 파괴시키는데(20) 반하여, BtTH109 균주는 전보(13)에서 보고한 바와같이 균체외액에 선충에 대한 독성 물질을 분비함으로써 알과 유충 모두에 독작용 하였다. 따라서 Table 2에서 보는 바와같이 *in vitro*에서도 BtTH109 균주의 균체 투여로 토마토 줄기의 생장과 알의 수가 증가되었고, 또한 토마토 뿌리나 화분내에 존재하는 뿌리혹선충의 알과 유충의 수가 감소되었다. 이는 BtTH109 균주가 혼합된 밀기울에서 증식되어 토양 환경중에서 세대를 거듭하면서 지속적으로 독

성물질을 생산하여 세포외로 분비되는 외독소와 세포용해(cell lysis)로 인한 내독소가 함께 작용하였을 가능성이 있다고 사료되나 이미 전보(13)에서 기술한 바와같이 BtTH109 균주의 배양에서 분리된 내독소(δ -endotoxin)는 *in vitro*에서 뿌리혹선충에 독작용을 나타내지 않았음으로 뿌리혹선충이 감염된 토마토에 균체의 투여로 인한 뿌리혹선충에 대한 방제 효과는 외독소에 의한 결과이며, BtTH109 균주의 균체 투여량이 증가됨에 따라 뿌리혹선충에 대한 방제효과가 증진되기 때문에 더욱 많은 양(20 mg 이상)의 BtTH109 균주의 균체를 일시에 투여하면 뿌리혹선충의 방제 효과가 더욱 클 가능성이 있다고 사료된다.

BtTH109 균주의 배양여액에 의한 뿌리혹선충의 제어효과

뿌리혹선충의 생활사(3)에 따르면 선충의 알은 토양에서 부화되어 2령유충으로 토마토뿌리에 침입한 후 뿌리내에서 성체로 성장한다. 뿌리내의 성체는 다시 토양내로 산란하여 1세대가 약 60일 정도 걸린다. 또한 전보(13)에서 실험한 결과에서 보는 바와같이 *in vitro*에서 선충의 알이 25°C에서 부화하는데 약 10일 정도 소요되었다. 따라서 본인 등은 뿌리혹선충이 토양내에서 알과 2령유충으로 존재하는 시간 즉, 약 2주간 내에 독성물질을 투여하면 뿌리혹선충을 방제하는데 가장 효과적이라고 생각하고 BtTH109 균주의

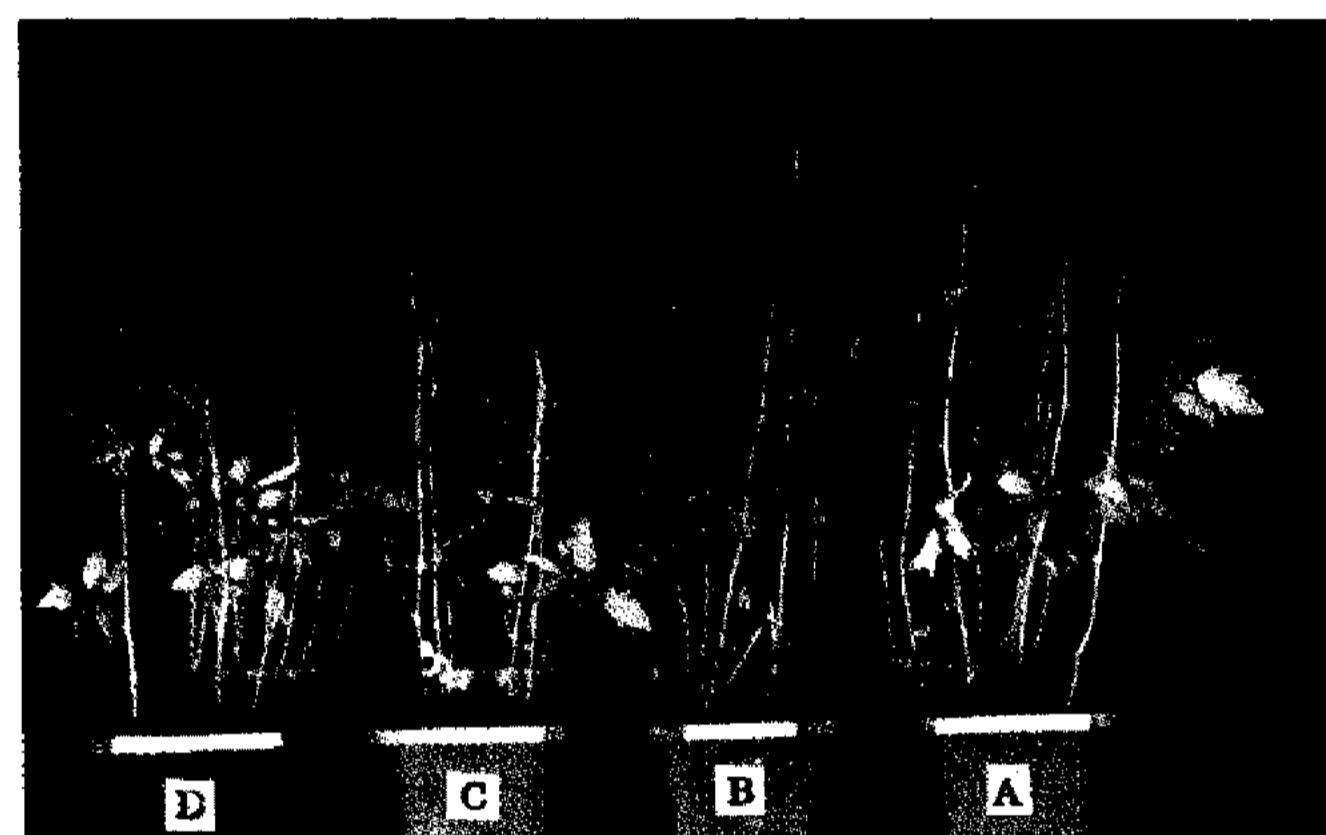


Fig. 1. Height of the 60 day-grown tomatoes treated with mixture of the strain BtTH109 and the wheat bran after infection of the nematode eggs.

Symbols: A; Healthy tomatoes without infection of the nematode eggs, B; Once treatment with mixture of the strain BtTH109 and the wheat bran, C; Once treatment with mixture of the strain *P. lilacinus* and the wheat bran, D; None treatment after infection of the nematode eggs

배양여액을 3일 간격으로 4회 정도 경시적으로 뿌리혹선충이 접종된 토마토에 투여하여 토양내에서 뿌리혹선충에 대한 방제효과를 조사한 결과 자상부에서는 Table 3에서 보는 바와같이 2회투여로 그 방제효과가 크게 나타났으며, 4회 투여로 뿌리혹선충이 접종되지 않은 대조구와 마찬가지로 토마토 생육이 활발하였다(Fig. 3). 이는 BtTH109 균주의 배양여액에 존재하는 뿌리혹선충에 대한 독성물질이 토양내에 경시적으로 투여됨(3일간, 4회 투여)으로써 토양내에 존재하는 뿌리혹선충의 알과 유충 모두를 사멸시켰다고 사료된다. 특히 뿌리혹선충 만을 감염시키고 BtTH109 균주의 배양여액을 처리하지 않은 구와 BtTH109 균주의 배양여액을 4회 주입한 처리구에서 토마토 생육 60일이 경과된 토마토의 뿌리의 상태를 상호 비교해 본 결과 배양여액을 4회 처리구의 토마토

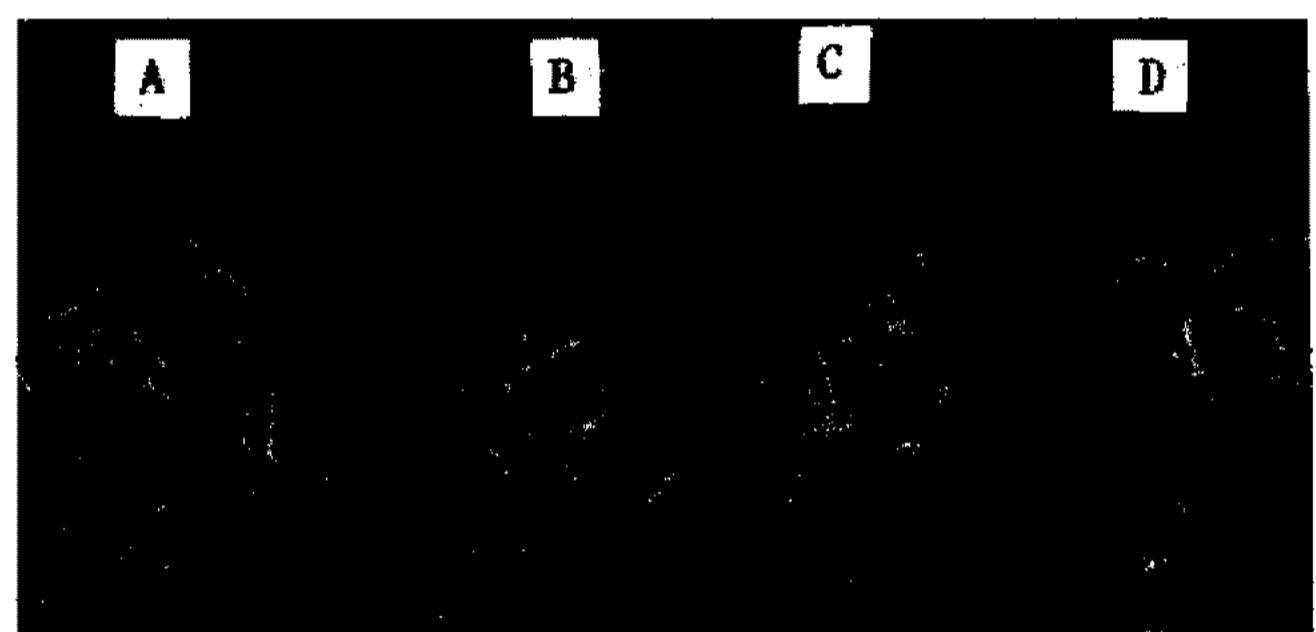


Fig. 2. Morphology of root of the 60 day-grown tomatoes treated with mixture of the strain BtTH109 and wheat bran after infection of the nematode eggs.

Symbols: A; Healthy tomato root without infection of the nematode, B; None treatment after infection of the nematode eggs, C; Once treatment with mixture from the strain BtTH109 and the wheat bran, D; Once treatment with mixture of the strain *P. lilacinus* and the wheat bran

Table 3. Several effects on the tomatoes and nematode reproduction after treatment with cultured broth of the strain BtTH109 and infection of the nematode in root of tomatoes and in soil on pot

¹⁾ Number of treatment	Plant Growth Characters					Nematode Reproduction	
	Plant height (cm)	Root weight (g)	No. of galls /root	No. of egg sacs /root	Soil (300 g)		
Once	²⁾ 48.0±3.4	4.6±0.6	21±2	260±16	135±15		41±3
Twice	62.3±4.2	4.5±0.5	8±1	34±3	82±5		23±3
3 times	60.0±3.5	4.6±0.6	2±1	0±1	0±2		4±1
4 times	61.0±3.1	4.8±0.8	0±2	0±1	0±1		0±1
³⁾ Nematode only	40.8±4.8	3.1±0.1	47±2	1231±69	863±75		328±12
⁴⁾ Untreated control	64.9±3.9	4.7±0.7	—	—	—		—

Notes: ¹⁾The 3 ml of cultured broth/plant at 3 day-interval. ²⁾The data are means ± standard deviation of 5-replicates. ³⁾The nematode eggs were infected into 5,000 eggs/plant. ⁴⁾Untreated control; healthy tomato without infection of the nematode eggs

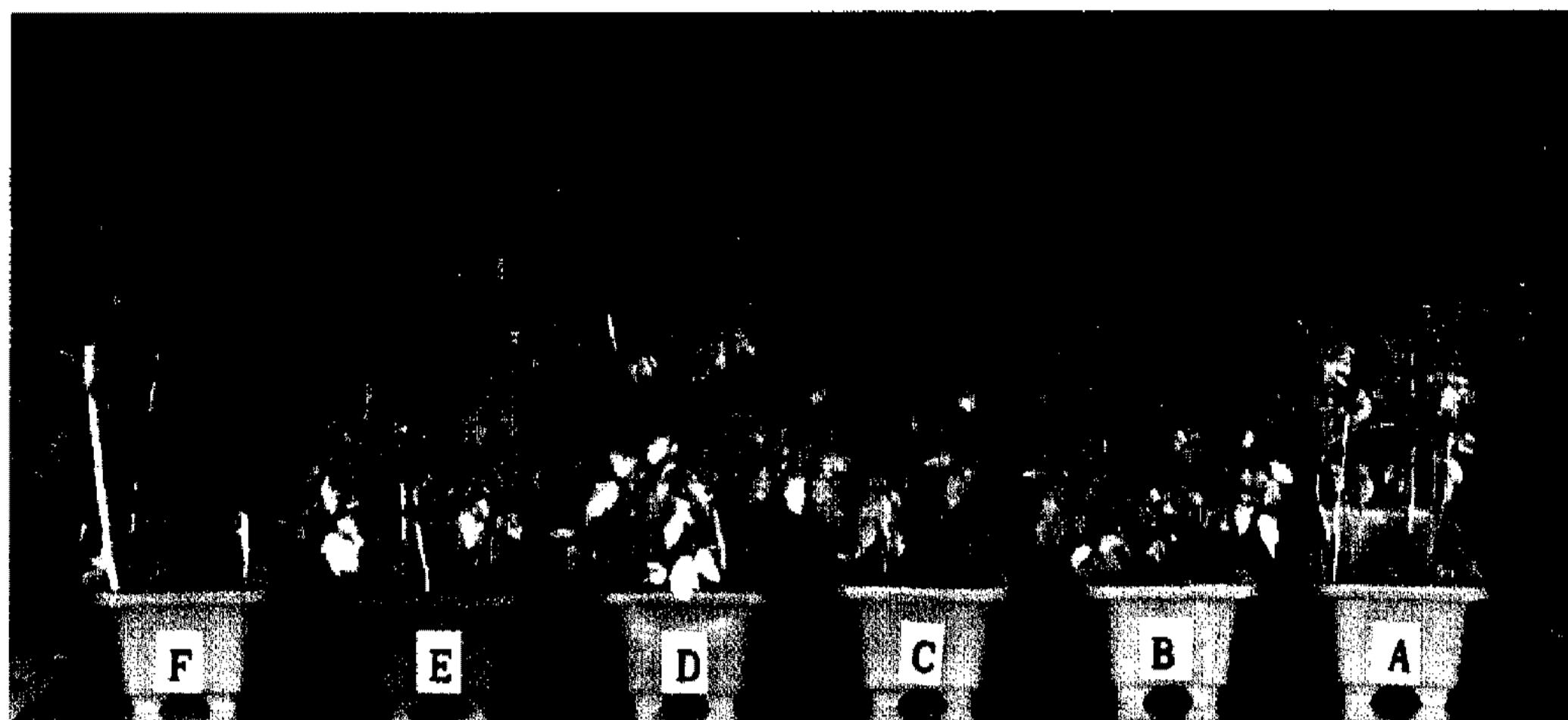


Fig. 3. Height of the 60 day-grown tomatoes treated with cultured broth of strain BtTH109 after infection of the nematode eggs.

Symbols: A; None treatments after infection of the nematode eggs, B; Healthy tomatoes without infection of the nematode eggs, C; Once treatment with cultured broth of the strain BtTH109, D; Twice treatment with cultured broth of the strain BtTH109, E; Three times treatment with cultured broth of the strain BtTH109, F; Four times treatment with cultured broth of the strain BtTH109

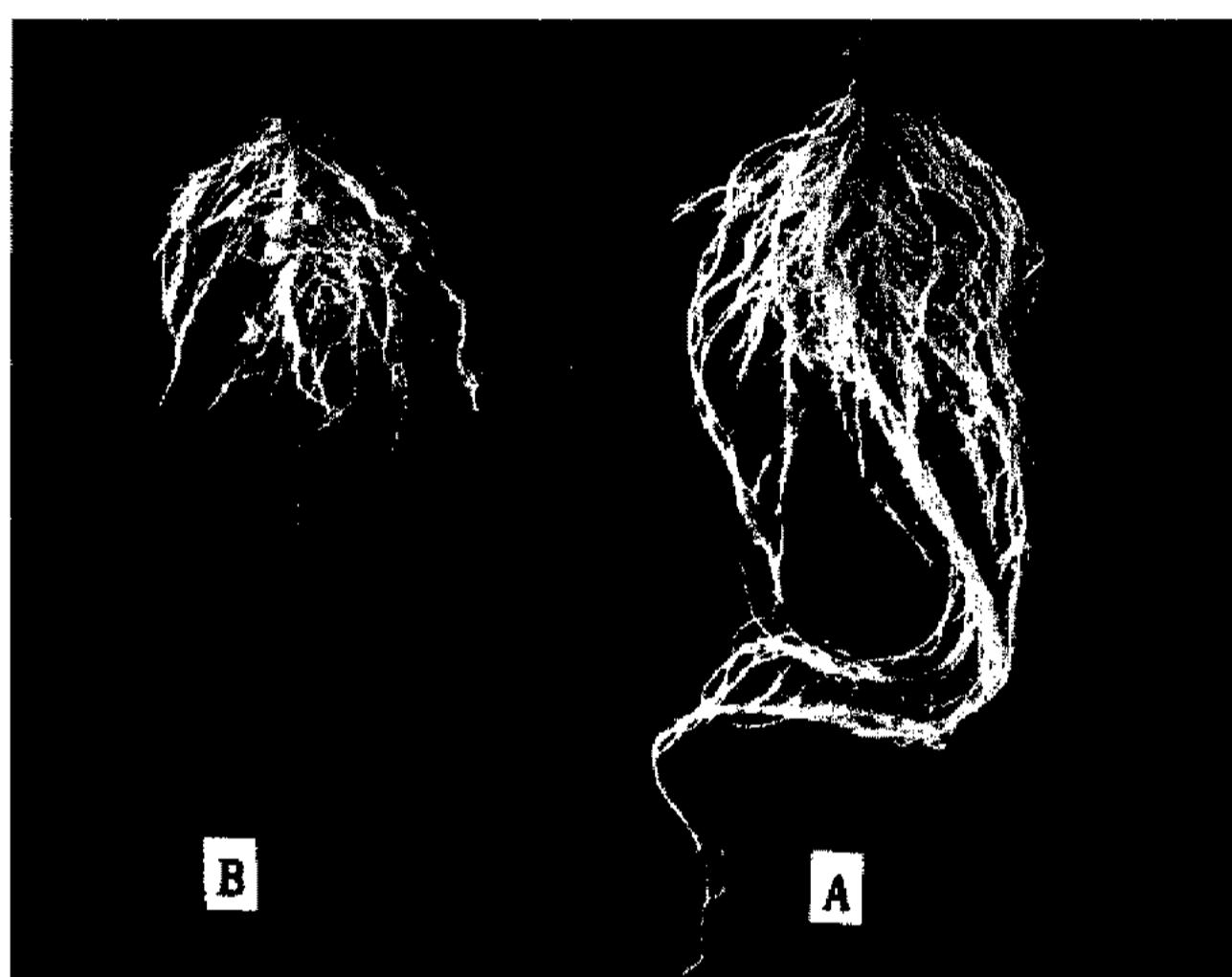


Fig. 4. Morphology of root of the 60 day-grown tomatoes treated with cultured broth of the strain BtTH109 after infection of the nematode eggs.

Symbols: A; Four times treatment with cultured broth of the strain BtTH109, B; None treatment after infection of the nematode eggs.

뿌리에는 뿌리혹선충의 감염이 거의 없었다(Fig. 4). 이는 토마토 근부에 BtTH109 균주의 배양액을 주입하므로 뿌리혹선충의 급격한 감소가 일어났다는 Table 3의 결과는 *in vitro*에서 BtTH109 균주의 배양액이 뿌리혹선충의 알과 유충에 독작용을 한다는 결과(13)와 일치하였다. 따라서 뿌리혹선충의 생활사(3)에 따라 뿌리혹선충이 토마토 뿌리에 침입하기 전인 알이나 2령유충으로 토양내에 존재하는 짧은 기간동안에 BtTH109 균체의 배양액을 한번에 다량 투여하는 방법과 본 실험과 같이 수회 경시적으로

투여하는 방법 등의 효과적인 선충방제를 위한 투여 방법이 장차 연구되어야 할 과제라고 사료된다.

요 약

토마토 뿌리혹선충(*M. incognita*) 방제의 일환으로 *B. thuringiensis* subsp. *indiana* BtTH109(BtTH109 균주)가 *in vivo* 상에서도 뿌리혹선충에 치사력이 있는지를 조사하기 위해 화분에서 실험을 행하였다. 뿌리혹선충의 알이 감염된 토마토는 BtTH109 균주의 균체를 밀기울에 섞어서 뿌리혹선충이 감염된 토마토의 근부에 1회 투여함(1 g/root)으로써 토마토생육 60일이 경과된 후에는 토마토 줄기의 생육이나 뿌리의 성장이 증가되었다. 또한 BtTH109 균주의 배양액을 뿌리혹선충이 감염된 토마토의 근부에 3일 간격으로 4회 투여(3 mL/root/회)함으로써 60일이 경과된 후에는 토마토의 뿌리나 화분내의 토양에서 뿌리혹선충의 알이나 유충이 거의 존재하지 않았다.

참고문헌

1. Barker, K.P., P.B. Shoemaker, and L.A. Nelson. 1976. Relationship of initial population density of *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* to yield of tomato. *J. Nematol.* 8: 232-239.
2. Olthof, T.H.A. and T.W. Potter. 1977. Effect of population densities of *M. hapla* on growth and yield of tomato. *J. Nematol.* 9: 296-300.
3. Choi, Y.E. 1984. Workshop on plant parasitic ne-

- matodes, Pp. 51-55. Institute of Agricultural Science. Kyugpook National University. Korea.
4. Vrain, T.C. 1982. Relationship between *Meloidogyne hapla* density and damage to carrots in organic soils. *J. Nematol.* **14**: 50-56.
 5. 최영연. 추호열. 1978. 경제작물에 영향을 미치는 뿌리혹 선충에 관한 연구. 한국식물보호학회지 **4**: 21-23.
 6. 최영연. 1977. 뿌리혹선충(*Meloidogyne incognita*)에 대한 토마토 품종 저항성 및 화학적 방제에 관하여. 경북대학교 논문집 **24**: 419-422.
 7. Kerry, B.R. 1990. An assessment of progress toward microbial control of plant-parasitic nematode. *Suppl. J. Nematol.* **22**: 621-631.
 8. Cabanillas, E. and K.P. Barker. 1989. Impact of *Paecilomyces lilacinus* inoculum level and application time on control of *Meloidogyne incognita* on tomato. *J. Nematol.* **21**: 115-120.
 9. Jatala, P. 1986. Biological control of plant-parasitic nematodes. *Ann. Rev. Phytopathol.* **24**: 453-489.
 10. Stirling, G.R. 1984. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus petetans*. *Phytopathol.* **74**: 55-60.
 11. Devidas, P. and L.A. Rehberger. 1992. The effects of exotoxin(thuringiensin) from *Bacillus thuringiensis* on *Meloidogyne incognita* and *Caenorhabditis elegans*. *Plants and Soil* **145**: 115-120.
 12. Hukuhar, T. 1972. Role of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on the larval survivability and egg hatching of *Meloidogyne* spp., the causative agent of root knot disease. *J. Invertebr. Pathol.* **20**: 377-378.
 13. Lee, K.B., K.H. Kim, and Y.H. Kim. 1994. Characteristics of *Bacillus thuringiensis* strain BtTH109 is toxic against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Kor. J. Appl. Microbiol.* **22**: 227-232.
 14. Maniatis, T., E.F. Fritsch, and J. Sambrook. 1982. *Molecular Cloning. A laboratory Manual*, Pp. 68. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
 15. Walters, S.A., T.C. Wehner, and K.R. Barker. 1992. Effects of root decay on the relationship between *Meloidogyne* spp. gall index and egg mass number in cucumber and horned cucumber. *Suppl. J. Nematol.* **24**: 707-711.
 16. Caveness, F.E. and H.J. Jensen. 1955. Modification of the centrifugal floatation technique for the isolation and concentration of nematode and their eggs from soil and plant tissue. *Proc. Helminth. Soc. Wash.* **16**: 87-89.
 17. Stirling, G.R. 1984. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. *Phytopathol.* **74**: 55-60.
 18. Hartman, K.M. and J.N. Sasser. 1985. Identification of *Meloidogyne species* on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology, Pp. 69-77. In Barker, K.R., C.C. Carter, and J.N. Sasser (eds.), *An Advanced Treatise on Meloidogyne*, Vol.2, Raleigh: North Carolina State University Graphics.
 19. Hadisoeganda, W.W. and J.N. Sasser. 1982. Resistance of tomato, bean, southern pea, and garden pea cultivars to root-knot nematodes based on host suitability. *Plant Disease* **66**: 145-150.
 20. Dunn, M.T., R.M. Sayre, A. Carrell, and W.P. Wergin. 1982. *Scanning Electron Microscopy. III.* 1351-1357.

(Received May 25, 1994)