

IDENTIFIKASI BERBASIS MORFOLOGI NEMATODA PURU AKAR (*Meloidogyne* spp.) PADA PERTANAMAN JAMBU BIJI KRISTAL DI PROVINSI LAMPUNG

MORPHOLOGICAL BASED OF IDENTIFICATION OF ROOT KNOT NEMATODES (*Meloidogyne* spp.) ON CRYSTAL GUAVA PLANTATION IN LAMPUNG

Amirul Syahid*, I G. Swibawa, Solikhin, dan Y. Fitriana

Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
Jl Sumantri Brojonegoro 1, Bandar Lampung 35145, Indonesia

*Email: amirulsyahid96@gmail.com

ABSTRACT

*Guava Crystals are currently popular among other tropical fruits in Lampung. Various factors can affect the production of Crystal guava, such as infestation of Root Knot Nematodes (RKN). This research that was aimed to identify the species of RKN (*Meloidogyne* spp.) associated with the Crystal guava plant in Lampung was conducted from January to April 2019. RKN sampling was carried out on Crystal guava plantations in PT GGF located in East Lampung, PT GGP located in Central Lampung, and guava plantation belonging to farmer in Sinar Betung village, Talang Padang Tanggamus. A total of 40 samples of guava roots were taken from the three plantations and counting of adult female RKN was carried out in the Laboratory of Plant Pest, Lampung University. The results show that the higher of root gall counts was found in GGF 2 plantations reached 88 gall/g of root, and the lower was found in PT GGP which was 27.6 gall/g of root. While the higher population of juvenile 351 indiv/g of root was found at the plantation block of 41 D2 and the lower, 10 indiv/g of root was found at block of 42 J1 of PT GGP. Two species of Root Knot Nematodes were found, namely *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*, with composition of 97.3% and 3.33% respectively.*

Keywords: Guava, Meloidogyne, root knot nematodes.

ABSTRAK

Jambu biji Kristal saat ini populer di Lampung di antara buah-buahan tropika lainnya. Salah satu OPT penting yang menyerang jambu biji ini yaitu nematoda puru akar (NPA). Penelitian yang bertujuan untuk mempelajari spesies nematoda puru akar yang berasosiasi dengan tanaman jambu biji kristal di Lampung dilakukan pada bulan Januari-April 2019. Pengambilan sampel nematoda dilakukan pada lahan pertanaman jambu biji kristal di PT GGF, PT GGP, dan di desa Sinar Betung Kecamatan Talang Padang Kabupaten Tanggamus. Sebanyak 40 sampel akar jambu diambil dari ketiga perkebunan tersebut dan dilakukan penghitungan nematoda betina dewasa di Laboratorium Ilmu Hama Tumbuhan Universitas Lampung. Hasil penelitian menunjukkan jumlah puru yang tinggi ditemukan pada pertanaman GGF 2 yaitu 88 puru/g akar, dan rendah di PT GGP yaitu 27,6 puru/g akar. Jumlah juvenil tinggi yaitu 351 indiv/g akar ditemukan pada Blok pertanaman 41 D2, dan rendah yaitu 10 indiv/g

akar di blok pertanaman 2 J1, PT GGP Lampung Tengah. Ditemukan dua spesies nematoda puru akar, yaitu *Meloidogyne incognita* dan *Meloidogyne Javanica*, dengan komposisi masing-masing 97,3% dan 3,33%.

Kata kunci: Jambu biji, *Meloidogyne*, nematoda puru akar.

PENDAHULUAN

Jambu biji Kristal saat ini populer di antara buah-buahan tropika di Lampung. Tanaman yang berasal dari Brasilia ini menyebar ke Thailand dan negara-negara Asia lainnya termasuk Indonesia. Menurut Wang (2011), jambu biji Kristal hasil pemuliaan dari *Psidium guajava* L. yang merupakan bantuan transfer teknologi Taiwan untuk Indonesia telah menyebar ke berbagai daerah di Indonesia.

Provinsi Lampung merupakan salah satu sentra produksi jambu biji Kristal di Indonesia. Produksi jambu ini mengalami penurunan setiap tahunnya yaitu 196,86 ton pada tahun 2012 menjadi 150,71 ton tahun 2013, 126,61 ton tahun 2014, dan 106,74 tahun 2015 (BPS, 2016). Berbagai faktor mempengaruhi produksi jambu biji Kristal, salah satunya adalah serangan organisme pengganggu tanaman (OPT). OPT penting pada jambu biji Kristal di Lampung yaitu nematoda puru akar (NPA) yang akhir-akhir ini menjadi masalah yang sangat serius di daerah tersebut.

Nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) bersifat parasit obligat dan memiliki banyak jenis inang. Nematoda ini menyerang sekitar 2000 spesies tumbuhan (Taylor & Sasser, 1978). Kerusakan jaringan akar akibat serangan NPA menyebabkan tanaman mengalami gangguan fisiologis. Tanaman yang terserang NPA ditandai oleh terbentuknya puru atau gall pada sistem perakarannya yang menyebabkan daun mengalami klorosis, tanaman kerdil, daun layu, banyak

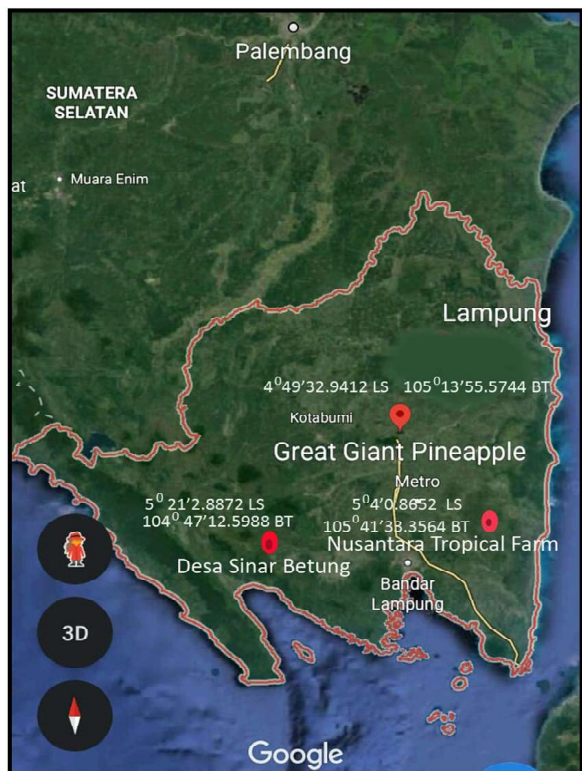
daun yang gugur, serta apabila serangan parah/hebat tanaman dapat mati (Taylor & Sasser, 1978).

Tujuan penelitian adalah untuk mempelajari spesies nematoda puru akar yang berasosiasi dengan tanaman jambu biji Kristal di beberapa perkebunan jambu biji Kristal yang ada di Provinsi Lampung.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan sampel nematoda puru akar dilaksanakan di lahan pertanaman jambu biji Kristal PT *Great Giant Farm* (GGF) Desa Rajabasa Lama, Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur, PT GGP (*Great Giant Peonaple*) Lampung Tengah, dan di lahan perkebunan warga yang ada di Desa Sinar Betung, Tanggamus. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Ilmu Hama Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilakukan pada bulan Januari - April 2019.

Penelitian ini menggunakan metode survei yang dilakukan di kebun jambu biji Kristal di PT GGF, PT GGP, dan desa Sinar Betung Talang Padang Tanggamus. PT GGF berlokasi di Rajabasa Lama, Labuhan Ratu, Lampung Timur dengan ketinggian 294 mdpl dan posisi geografi 5° 4' 0.8652 LS dan 105° 41' 33.3564 BT, PT GGP Terbanggi Besar dengan posisi 4° 49' 32.9412 LS dan 105° 13' 55.5744 BT, dan kebun warga di desa Sinar Betung, Tanggamus, dengan posisi geografi 5° 21' 2.8872" LS dan 104° 47' 12.5988" BT (Gambar 1). Kegiatan survei meliputi pengambilan sampel nematoda



Gambar 1. Titik kordinat Lokasi Pengambilan

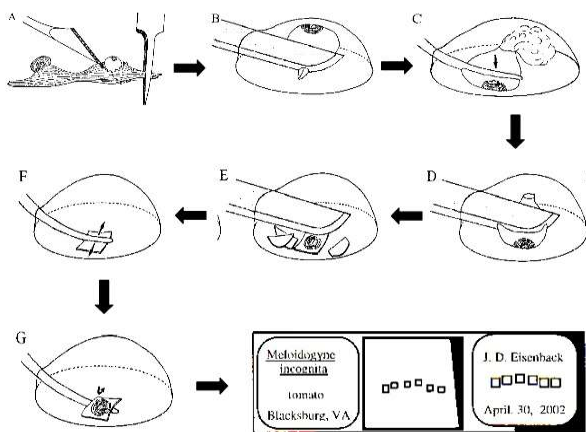
di lapang, penghitungan puru akar dan nematoda di laboratorium menggunakan mikroskop binokuler, identifikasi spesies *Meloidogyne* berdasarkan ciri morfologi *parennial pattern* nematoda betina dewasa dan deskripsi larva juvenil II (J-2).

Nematoda *Meloidogyne* diidentifikasi sampai tingkat takson spesies berdasarkan karakter morfologi. Nematoda betina dewasa diambil dari jaringan akar berpuru menggunakan jarum dengan bantuan mikroskop. Nematoda betina dewasa dipotong pada bagian lehernya dan di pencet agar organ dalamnya keluar. Selanjutnya nematoda ditaruh di dek glass, kemudian di beri setetes larutan asam laktat untuk membersihkan organ dalam dengan cara dipejet-pejet (Gambar 2). Nematoda didiamkan selama 30 menit, setelah itu kutikula dipotong lagi untuk memperkecil ukurannya, kemudian ditetesi asam laktat 45 % untuk

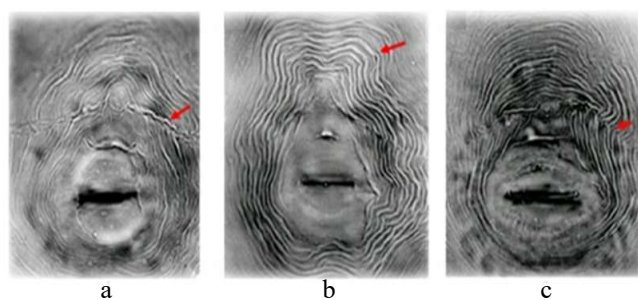
membersihkan kutikula dari organ dalamnya. Pewarnaan menggunakan larutan *methylene blue* dan didiamkan beberapa saat, kemudian ditutup cover glass. Preparat diamati di bawah mikroskop majemuk pada perbesaran, 100x, 400x, dan 1000x. *Perineal pattern* yang tampak dicocokkan dengan gambar *perineal pattern* pada Eisenback *et al.* (1981), seperti pada Gambar 3.

Ekstraksi juvenil nematoda dalam akar menggunakan metode Baerman funnel yang dimodifikasi yaitu berupa mangkuk kecil yang dilengkapi saringan bermata lubang 1 mm. Sampel akar yang telah dicuci dan dikeringanginkan ditimbang 5 g, dipotong-potong berukuran 0,5 cm. Sebelumnya, telah disiapkan alat ekstraksi Baermann yaitu saringan yang dialasi dengan tisu dan diletakkan di atas mangkuk plastik. Potongan akar dimasukkan merata ke dalam saringan, kemudian mangkuk diisi air hingga volumenya sedikit merendam potongan akar. Setelah diinkubasi selama 24 jam, suspensi nematoda pada mangkuk ditampung di botol suspensi dan diendapkan selama 24 jam. Kemudian volume suspensi dikurangi hingga menjadi 10 ml dengan pipet tetes, dan suspensi tersebut kemudian disimpan dalam botol suspensi nematoda.

Fiksasi merupakan metode yang dilakukan untuk mengawetkan nematoda dengan cara menambahkan larutan fiksasi larutan Golden X ke dalam suspensi nematoda. Fiksasi dan proses pembuatan preparat permanen nematoda J2 NPA mengikuti metode Hoper *et al.* (2005). Sebelum difiksasi, nematoda dimatikan dengan cara memanaskan suspensi sampai suhu 60°-70° C menggunakan kompor listrik. Suspensi dalam botol



Gambar 2. Prosedur pembuatan *Perineal pattern* NPA (*Meloidogyne* spp.) betina Dewasa (Sumber : Eisenback, 2003)



Gambar 3. *Perineal pattern*, a. *M. javanica*, b. *M. incognita*, c. *M. arenaria* (sumber : Eisenback *et al.*, 1981)

140 ml didiamkan selama 24 jam, volumenya dikurangi dengan pipet secara hati-hati (agar tidak mengganggu endapan suspensi nematoda) sehingga tersisa sekitar 10 ml. Sekitar 10 ml suspensi nematoda ini dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge dan didiamkan kembali selama 24 jam untuk dikurangi volumenya secara hati-hati menggunakan pipet hingga tersisa 3 ml. Kemudian, ke dalam suspensi ini ditambahkan larutan Golden X hingga suspensi menjadi 10 ml, dengan demikian nematoda berada pada formalin 3 %. Juvenil nematoda dihitung menggunakan bantuan mikroskop dan *hand counter*. Setelah selesai penghitungan suspensi

nematoda dimasukkan kembali ke dalam tabung sentrifius untuk proses infiltrasi gliserin dengan metode Seinhorst.

Alat dan bahan yang digunakan dalam proses ini antara lain desikator, pipet tetes, larutan seinhorst I dan II, dan alkohol 90 %. Volume suspensi nematoda dikurangi hingga menjadi 3 ml ditumpahkan dalam cawan petri 5 cm kemudian ditambahkan 7 ml larutan seinhorst I, dan ditaruh dalam desikator yang berisi alkohol, kemudian dioven selama semalam (12 jam) pada suhu 43⁰ C. Desikator diisi alkohol 90 % setengah bagian. Selanjutnya, suspensi dikeluarkan dari desikator, kemudian dikeringkan di dalam oven selama 4 jam pada suhu 43⁰ C sehingga volume suspensi berkurang setengahnya. Setelah itu, ditambahkan larutan seinhorst II hingga mencapai volume awal, ditaruh dalam desikator dan dioven kembali selama semalam (12 jam) pada suhu 43⁰ C.

Suspensi dikeringkan kembali di dalam oven pada suhu 43⁰ C selama 4 jam. Setelah itu, suspensi ditambahkan larutan seinhorst II hingga mencapai volume awal, kemudian di oven kembali selama semalam (12 jam) pada suhu 43⁰ C, kemudian dikeringkan selama 4 jam pada suhu 43⁰ C. Tanpa penambahan larutan Seinhorst, suspensi dioven kembali pada suhu 43⁰ C selama semalam. Suspensi dikeringkan didalam oven pada suhu 43⁰ C selama 48 jam. Pada tahap ini proses infiltrasi gliserin selesai, nematoda siap digunakan untuk pembuatan preparat permanen.

Pembuatan preparat permanen dilakukan dengan mengambil juvenil (J-2) nematoda pada cawan petri menggunakan pengait. Beberapa juvenil (J-2) nematoda ditaruh di kaca preparat yang sudah ditetesi cairan gliserin, kemudian ditutup dengan cover glass

dan direkatkan menggunakan kitek kuku. Setelah itu, diamati di bawah mikroskop majemuk binokuler dengan memperhatikan panjang dan lebar tubuh, panjang stilet, dan panjang ekor nematoda yang tampak di bawah mikroskop, pada perbesaran 400 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah puru pada setiap gram akar jambu biji kristal dari beberapa perkebunan yang ada di provinsi Lampung disajikan pada Tabel 1. Pada tabel tersebut tampak bahwa rata-rata jumlah puru yang tinggi terdapat pada akar tanaman jambu biji kristal dari pertanaman GGF 2 yaitu mencapai 88 puru/g akar, sedangkan jumlah puru rendah ditemukan pada sampel akar dari pertanaman PT GGP yaitu 27,6 puru/g akar. Jumlah puru maksimum ditemukan di pertanaman GGF 2 yang mencapai 138 puru dan minimum yaitu 11 puru/g akar ditemukan di PT GGP.

Jumlah nematoda betina dewasa pada setiap gram akar jambu biji Kristal di beberapa perkebunan yang ada di Provinsi Lampung disajikan dalam Tabel 2. Pada tabel tersebut tampak bahwa jumlah nematoda betina dewasa tinggi pada akar tanaman jambu biji Kristal dari pertanaman GGF 1 yaitu mencapai 8,2 indiv/g akar. Sedangkan, jumlah nematoda rendah pada sampel akar dari pertanaman PT GGF C yaitu 4,8 indiv/g akar. Jumlah nematoda dewasa maksimum ditemukan di pertanaman GGF 2 yang mencapai 18 indiv/g akar, minimum yaitu 2 indiv/g akar di pertanaman PT GGF 2 dan GGF C.

Jumlah juvenil (J2) nematoda yang diperoleh pada sampel akar jambu biji kristal dari perkebunan GGP disajikan pada Tabel 3. Jumlah juvenil (J2) nematoda maksimum ditemukan pada blok pertanaman 41 D2 yaitu mencapai 351 indiv/g akar, dan minimum yaitu 10 indiv/g akar di blok pertanaman 42 J1.

Tabel 1. Jumlah puru akar pada beberapa lokasi pertanaman (total puru/g akar) jambu biji kristal di Lampung

| Lokasi | Rata-rata | SD | Max | Min |
|-----------|-----------|------|-----|-----|
| GGF 1 | 75.2 | 36.7 | 128 | 33 |
| GGF 2 | 88.0 | 22.5 | 138 | 56 |
| GGF C | 57.1 | 19.0 | 92 | 35 |
| GGP | 27.6 | 11.7 | 41 | 11 |
| Tanggamus | 45.8 | 12.9 | 62 | 29 |

Tabel 2. Jumlah nematoda puru akar betina dewasa pada beberapa lokasi pertanaman (indiv./g akar) jambu biji kristal di Lampung

| Lokasi | Rata-rata | SD | Max | Min |
|-----------|-----------|------|-----|-----|
| GGF 1 | 8.2 | 4.59 | 16 | 3 |
| GGF 2 | 7.9 | 5.26 | 18 | 2 |
| GGF C | 4.8 | 1.99 | 7 | 2 |
| GGP | 6.6 | 4.22 | 14 | 4 |
| Tanggamus | 6.6 | 3.91 | 12 | 3 |

Tabel 3. Jumlah juvenil (J2) nematoda (indiv./g akar) pada beberapa Blok pertanaman jambu PT GGP

| Blok Pertanaman | Jumlah Larva |
|-----------------|--------------|
| 42 J | 91 |
| 42 G | 135 |
| 41 D3 | 90 |
| 42 J1 | 10 |
| 41 D2 | 351 |
| Maksimum | 351 |
| Minimum | 10.0 |
| Rata-rata | 135.4 |

Tabel 4. Spesies *Meloidogyne* spp. yang ditemukan pada beberapa perkebunan Jambu Biji Kristal di Provinsi Lampung

| Lokasi | Blok Sampel | Jumlah Nematoda teridentifikasi | Spesies NPA | |
|-----------|-------------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | | | <i>Meloidogyne incognita</i> | <i>Meloidogyne javanica</i> |
| PT GGF | 408 A2 | 4 | 4 | - |
| | 408 A1 | 9 | 8 | 1 |
| | 408 C1 | 2 | 2 | - |
| | 408 E1 | 3 | 3 | - |
| | 408 G1 | 2 | 2 | - |
| GGP | 41 D2 | 1 | 1 | - |
| | 41 D3 | - | - | - |
| | 41 J | 2 | 2 | - |
| | 41 J1 | 1 | 1 | - |
| | 42 G | - | - | - |
| Tanggamus | - | 7 | 7 | - |

Perinial pattern nematoda dari pertanaman jambu Kristal PT GGF (Gambar 4) menunjukkan dua jenis yang berbeda, yaitu *M. javanica* dan *M. incognita*. Hal ini dapat dilihat pada ciri khas yang tampak dalam Gambar 4. *Perineal pattern* pada Gambar 4a terlihat jelas adanya garis lateral (ditunjukkan tanda panah) yang memisahkan bagian striae dorsal dengan ventral dan ini merupakan ciri khas dari *Meloidogyne javanica*. Garis lateral pada *perineal pattern* *M. javanica* memisahkan striae dorsal dan ventral sehingga terlihat daerah kosong diantara garis tersebut (Southey, 1978). Adapun spesies *M. javanica* hanya di temukan pada lokasi pengambilan sampel 408 A1 di PT GGF, sedang sampel lainnya

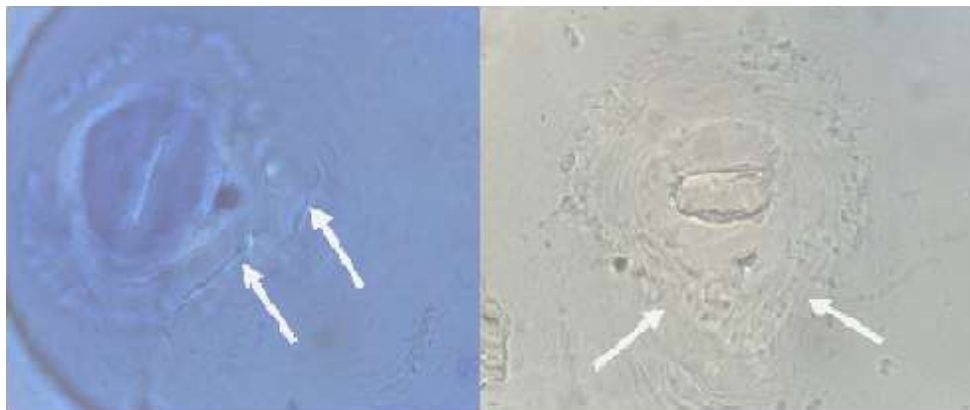
menunjukkan spesies *M. incognita*. *Perineal pattern* pada Gambar 4B terlihat lengkungan striae bagian dorsal (ditunjukkan tanda panah) berbentuk persegi (sudut $\pm 90^\circ$) dan merupakan karakter khusus *M. incognita* (Eisenback *et al.*, 1981). Jika dibandingkan dengan spesies lain, *M. incognita* dapat dilihat bahwa lengkungan striae spesies ini tampak jelas bergelombang.

Meloidogyne incognita merupakan parasit tanaman penting di seluruh daerah tropika. Spesies ini dapat ditemukan dalam beberapa inang yaitu kapas, kentang, tebu, wortel, tomat, tanaman hias, dan lain-lain (Thomas *et al.*, 2004), dan juga telah teridentifikasi di tanaman jambu biji Kristal. Suhu optimum untuk

reproduksi dari spesies ini berkisar antara 18° - 30°C, namun spesies ini akan mengalami peningkatan populasi hingga 47% pada suhu 24° - 27°C (Eisenback, 2003).

Perineal pattern nematoda sampel dari pertanaman jambu Kristal di PT GGP dan sampel dari pertanaman jambu di Tanggamus menunjukkan spesies *Meloidogyne incognita*. Semua gambar yang berhasil di visualisasikan dari sampel yang di ambil di PT GGP menunjukkan ciri *perineal pattern* yang sama yaitu ciri khas yang dimiliki *Meloidogyne incognita*, yaitu dengan terlihatnya lengkungan striae bagian dorsal yang dapat dilihat pada gambar diatas berbentuk persegi (sudut $\pm 90^\circ$) (Eisenback et al., 1981).

Nematoda Puru Akar (NPA) jantan berbentuk seperti cacing dengan ekor tumpul membulat (Gambar 5). Juvenil nematoda puru akar tubuhnya seperti cacing (*vermiform*), dengan panjang stilet 0,00742 mm (Gambar 6) dan panjang ekor sebesar 0,0215 mm (Gambar 7). Panjang seluruh tubuh NPAJ-2 yaitu 0,312 mm dan lebarnya badannya 0,0234 mm. Menurut Eisenback, et al., (1991), karakter NPA J-2 yaitu kepala lurus (*not set off*), mengecil ke arah depan dan ujung kepala datar, stilet halus, knob stilet membulat, bagian ekor mengecil ke arah ujung, terdapat bagian *hyaline* pada ujung ekor dan bentuk ujung ekor tumpul. Ciri-ciri seperti ini sesuai dengan specimen yang diamati.



Gambar 4. *Perineal pattern* nematoda sampel PT GGF, a. *Meloidogyne*, b. *javanica*, b. *Meloidogyne incognita*



Gambar 5. Nematoda puru akar jantan (perbesaran 100 kali)



Gambar 6. Stilet larva nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) dengan perbesaran lensa mikroskop 400 kali



Gambar 7. Ekor larva nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) dengan perbesaran lensa mikroskop 400

Sampel akar jambu biji kristal yang berasal dari PT GGF sebanyak 30 dan, sampel akar yang berasal dari PT GGP sebanyak 5 sampel serta sampel akar yang berasal dari perkebunan milik warga di Tanggamus sebanyak 5 (Tabel 4). Dari tiga lokasi tersebut di buat preparat 30 *perineal pattern*. Berdasarkan ciri *perineal pattern* pada Tabel 4 hampir semua nematoda yang teridentifikasi berdasarkan *perineal pattern* adalah *Meloidogyne incognita* dan hanya satu perineal pattern yang menunjukkan ciri *Meloidogyne javanica* yaitu nematoda yang berasal dari lokasi PT GGF blok sampel 408 A1.

KESIMPULAN

Nematoda puru akar spesies *Meloidogyne incognita* dan *Meloidogyne javanica* ditemukan berasosiasi dengan pertanaman jambu biji kristal di provinsi Lampung, dengan komposisi 96,7 % *M. incognita* dan 3,33 % *M. javanica*. Jumlah puru yang tinggi ditemukan pada sampel akar di pertanaman GGF 2, yaitu mencapai 88 puru/g akar, jumlah nematoda betina dewasa yang tinggi

ditemukan pada sampel akar dari pertanaman GGF 1, yang mencapai 8,2 indiv/g akar. Jumlah juvenil (J2) nematoda puru akar maksimum ditemukan pada blok pertanaman 41 D2, yaitu mencapai 351 indiv/g akar dan minimum yaitu 10 indiv/g .akar pada blok sampel 42 J1 pertanaman PT GGP, di Lampung Tengah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Tim Penelitian “Penggunaan Jamur *Paecilomyces lilacinus* sebagai bionematisida pengendali *Meloidogyne* spp. pada pertanaman jambu kristal: efikasi formula padat” yang didanai oleh DRPM Kemristek Dikti Tahun 2019 yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik (BPS). 2016. *Statistik Tanaman Buah-buahan dan Sayuran Tahunan Indonesia 2016*. <https://www.bps.go.id/publication/download.html>. Diakses tanggal 05 April 2020.
- Eisenback, J.D., H. Hirschmann, J.N. Sasser & A.C. Triantaphyllou. 1981. *A Guide to the Four Most Common Species of Root-Knot Nematodes, (Meloidogyne species) with a pictorial key*. A Coop. Publ. Depts. Plant Pathol. and Genetics and U.S. Agency for International Development, Raleigh, NC.
- Eisenback, J.D. 2003. *Nematology*. Mactode Publication. Blacksburg (US).
- Hooper D.J., J. Hallman & S.A. Subbotin. 2005. Methods for extraction, processing and detection of plant and soil nematodes. In: Luc.

- M, Sikora RA, Bridge J. Eds. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture 2nd ed. CABI Publishing, CAB International Wallingford. pp. 53-86.
- Southey, J.F. 1978. *Plant Nematology*. London: A.D.A.S. Plant Pathology Laboratory, Harpenden.
- Taylor, A.L. & Sasser, J.N. 1978. *Biologi, Identification And Control Of Root Knot Nematodes (Meloidogyne spp.)*. North Carolina State University Graphics. USA.
- Thomas, S.H., J. Schroeder & L.W. Murray. 2004. *Cyperus tubers protect Meloidogyne incognita* from 1,3-dichloropropene. J. Nematology.
- Wang, T.H. 2011. *Taiwan guava production manual*. Horticulture Crop Training and Demonstration Centre. Technical Mission of the Republic of China, Taiwan.