

NEMATOLOGIA BRASILEIRA 33 (1) 2009

ARTIGOS (*: com texto em inglês)

Estudo da Influência do Potássio e do Cálcio na Reprodução do Nematóide do Cisto da Soja - Jadir B. Pinheiro, Edson A. Pozza, Adélia A.A. Pozza, Alécio S. Moreira & Vicente P. Campos 17-27

Relationships Between the Community of Soil Nematodes and the Microbial Biomass in the Root Zone of Citrus - Vânia M. Freitas, Maria L.G. Ramos, Juvenil E. Cares, Adriana S. Costa & Shiou Pin Huang (*in memoriam*) 28-36 *

Patogenicidade de *Meloidogyne incognita* Raça 2 a Bananeira ‘Prata Anã’ em Diferentes Substratos - Alnusa M. Jesus, Silvia R.S. Wilcken, Cristiani Kano & Hélio Grassi Filho 37-44

Efeito de Bactérias Endofíticas sobre *Meloidogyne javanica* e Métodos de Inoculação em Tomateiro - Alisson S. de Oliveira, Vicente P. Campos, Juliana R.C. Silva, Márcia S. Oliveira & Ricardo Magela de Souza 45-53

Efeito de Bactérias Endofíticas no Controle de *Meloidogyne incognita* e sua Capacidade de Colonização de Raízes de Tomateiro - Renata S.C. Pinho, Vicente P. Campos, Ricardo Magela de Souza, Juliana R.C. Silva, Márcia S. Oliveira, Giselle C.S. Pimentel & Lílian S.A.S. Costa 54-60

Reação de Cultivares de Mamona (*Ricinus communis* L.) e Girassol (*Helianthus annuus* L.) a *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *M. paranaensis* - Cláudia R. Dias-Arieira, Simone M. Santana, Marcelo L. Silva, Cleber Furlanetto, Regina C.F. Ribeiro & Everaldo A. Lopes 61-66

Controle Populacional de *Pratylenchus zae* em Cana-de-açúcar em Dois Ambientes Edáficos no Nordeste do Brasil - Romero M. Moura & Idjane S. Oliveira 67-73

Reprodução de *Meloidogyne* spp. em Tomateiro ‘Rutgers’ em Solos de Cerrado com Diferentes Percentagens de Areia - João M. Charchar, Valter R. Oliveira & Antônio W. Moita 74-82

Influência do Método de Aplicação de Nematicidas no Controle de *Pratylenchus zae* em Soqueiras de Cana-de-açúcar e Definição dos Níveis de Dano e de Controle - Wilson R. T. Novaretti & André Martinez Reis 83-89

COMUNICAÇÕES (*: com texto em inglês)

Reação de Gramíneas Forrageiras a *Pratylenchus brachyurus* - Cláudia R. Dias-Arieira, Silamar Ferraz & Regina C. Ferreira Ribeiro 90-93

Reação de Cultivares de Milho e Soja a *Meloidogyne paranaensis* - Marcela P. Moritz, Ana P.A. Mônaco, Rui G. Carneiro, Alexandra Scherer, Débora C. Santiago & Tatiane D. Nora **94-98**

Eficiência de *Rhizobium etli* como Agente de Biocontrole de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* - Cléia F.S. Fabry, Leandro G. Freitas, Everaldo A. Lopes & Silamar Ferraz **99-102**

Deteção de *Pasteuria thornei* em *Pratylenchus brachyurus* e *P. zae* - Vilmar Gonzaga & Jaime M. Santos **103-105**

Soil Amendment with Castor Bean Oilcake and Jack Bean Seed Powder to Control *Meloidogyne javanica* on Tomato Roots - Everaldo A. Lopes, Silamar Ferraz, Onkar D. Dhingra, Paulo A. Ferreira & Leandro G. Freitas **106-109 ***

REVISÃO

Nematoide de Cisto da Soja: Biologia e Manejo Pelo Uso da Resistência Genética - Waldir P. Dias, João F.V. Silva, Geraldo E.S. Carneiro, Antônio Garcia & Carlos A.A. Arias... **1-16**

NEMATOLOGIA BRASILEIRA 33 (1) 2009

ARTICLES (*: with full text in English)

Influence of potassium and calcium on the soybean cyst nematode reproduction -
Jadir B. Pinheiro, Edson A. Pozza, Adélia A.A. Pozza, Alécio S. Moreira & Vicente P.
Campos 17-27

**Relationships Between the Community of Soil Nematodes and the Microbial
Biomass in the Root Zone of Citrus -** Vânia M. Freitas, Maria L.G. Ramos, Juvenil E. Cares,
Adriana S. Costa & Shiou Pin Huang (*in memoriam*) 28-36 *

Pathogenicity of *Meloidogyne incognita* on banana Prata Anã in different substrates
- Alnusa M. Jesus, Sílvia R.S. Wilcken, Cristiani Kano & Hélio Grassi Filho 37-44

**Effect of endophytic bacteria on *Meloidogyne javanica* and inoculation methods in
tomato -** Alisson S. de Oliveira, Vicente P. Campos, Juliana R.C. Silva, Márcia S. Oliveira &
Ricardo Magela de Souza 45-53

**Effect of endophytic bacteria on the control of *Meloidogyne incognita* and their
capacity of root colonization on tomato -** Renata S.C. Pinho, Vicente P. Campos, Ricardo
Magela de Souza, Juliana R.C. Silva, Márcia S. Oliveira, Giselle C.S. Pimentel & Lílian S.A.S.
Costa 54-60

**Reaction of castor bean (*Ricinus communis* L.) and sunflower (*Helianthus annuus*
L.) cultivars to *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* and *M. paranaensis* -** Cláudia R.
Dias-Arceira, Simone M. Santana, Marcelo L. Silva, Cleber Furlanetto, Regina C.F. Ribeiro &
Everaldo A. Lopes 61-66

**Control of *Pratylenchus zae* population on sugarcane in two edaphic environments
in Northeast of Brazil -** Romero M. Moura & Idjane S. Oliveira 67-73

**Reproduction of *Meloidogyne* spp. on tomato 'Rutgers' in cerrado soils with
different percentages of sand -** João M. Charchar, Valter R. Oliveira & Antônio W.
Moita 74-82

**Influence of the application method of nematicides on *Pratylenchus zae* control in
ratoon sugarcane and definition of threshold and control levels -** Wilson R. T.
Novaretti & André Martinez Reis 83-89

BRIEF COMMUNICATIONS (*: with full text in English)

Reaction of forage grasses to *Pratylenchus brachyurus* - Cláudia R. Dias-Arceira, Silamar
Ferraz & Regina C. Ferreira Ribeiro 90-93

Reaction of corn and soybean cultivars to *Meloidogyne paranaensis* - Marcela P. Moritz, Ana P.A. Mônaco, Rui G. Carneiro, Alexandra Scherer, Débora C. Santiago & Tatiane D. Nora **94-98**

Efficiency of *Rhizobium etli* as biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* - Cléia F.S. Fabry, Leandro G. Freitas, Everaldo A. Lopes & Silamar Ferraz **99-102**

Detection of *Pasteuria thornei* in *Pratylenchus brachyurus* and *P. zae* - Vilmar Gonzaga & Jaime M. Santos **103-105**

Soil Amendment with Castor Bean Oilcake and Jack Bean Seed Powder to Control *Meloidogyne javanica* on Tomato Roots - Everaldo A. Lopes, Silamar Ferraz, Onkar D. Dhingra, Paulo A. Ferreira & Leandro G. Freitas **106-109 ***

REVIEW

Soybean cyst nematode: biology and management through genetic resistance - Waldir P. Dias, João F.V. Silva, Geraldo E.S. Carneiro, Antônio Garcia & Carlos A.A. Arias.... **1-16**

Nematoide de Cisto da Soja: Biologia e Manejo Pelo Uso da Resistência Genética

Waldir P. Dias*, João F.V. Silva, Geraldo E.S. Carneiro, Antônio Garcia & Carlos A.A. Arias

Embrapa Soja, C. Postal 231, 86001-970 Londrina (PR) Brasil.

*Autor para correspondência: wdias@cnpso.embrapa.br

Resumo - Dias, W.P., J.F.V. Silva, G.E.S. Carneiro, A. Garcia. & C.A.A. Arias. 2009. Nematoide de cisto da soja: biologia e manejo pelo uso da resistência genética.

O nematoide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines*, é um dos principais problemas sanitários da cultura da soja. Foi constatado no Brasil pela primeira vez na safra 1991 / 92; atualmente está presente em cerca de 150 municípios de dez Estados (MG, MS, MT, GO, SP, PR, RS, BA, TO e MA). Onde o NCS ocorre, o produtor tem que conviver com o mesmo, uma vez que sua erradicação da área é praticamente impossível. Algumas medidas ajudam a minimizar as perdas, que, em algumas situações, podem chegar a 100 %, destacando-se a rotação de culturas com espécies vegetais não hospedeiras e o uso de cultivares de soja resistentes. A utilização da resistência genética, objeto da presente revisão, é o método de controle do NCS mais econômico e aceito pelo agricultor. Contudo, não deve ser a única opção, pois o patógeno possui elevada variabilidade genética. Sob pressão de seleção em razão do uso continuado de cultivares resistentes, novas raças podem ser selecionadas. No Brasil, apesar do histórico da utilização de cultivares de soja resistentes ao NCS ser recente, já foram encontradas 11 raças (1, 2, 3, 4, 4⁺, 5, 6, 9, 10, 14 e 14⁺). As raças 4⁺ e 14 só foram descritas no Brasil e diferem das raças 4 e 14 clássicas, respectivamente, por apresentarem habilidade em parasitar ‘Hartwig’, uma cultivar de soja norte-americana, até então resistente a todas as raças. Além do grande número de raças, o desenvolvimento de cultivares de soja resistentes é dificultado ainda pelo reduzido número de fontes de resistência, pela complexidade da herança e pelo fato da seleção dos indivíduos resistentes ser muito trabalhosa. A estratégia mais utilizada, no Brasil, para incorporar resistência em soja ao NCS, tem sido a seleção de linhagens a partir de populações originadas de hibridações entre genótipos adaptados e cultivares norte-americanas com resistência derivada de ‘Peking’ (‘Sharkey’, ‘Centennial’, ‘Padre’, ‘Forrest’, ‘Gordon’, dentre outras) e / ou das PIs 88788 (‘Bedford’, ‘Linford’, ‘Fayette’, ‘Leflore’, etc), 90763 (‘Cordell’) e 437654 (‘Hartwig’). À medida que cultivares resistentes são geradas, estas passam a substituir, com vantagem, as fontes de resistência norte-americanas. Atualmente, cerca de 50 cultivares de soja resistentes ao NCS já estão disponíveis no Brasil. Entretanto, para os estados de GO, MT e MS, onde ocorrem muitas raças, existe carência de cultivares resistentes, uma vez que as disponíveis, normalmente, são resistentes apenas às raças 1 e 3. Mesmo para estas duas raças, ainda não existem cultivares resistentes adaptadas para todas as regiões de cultivo de soja.

Palavras chaves: cultivares resistentes, nematoides, *Heterodera glycines*, *Glycine max*.

Summary-Dias, W.P., J.F.V. Silva, G.E.S. Carneiro, A. Garcia & C.A.A. Arias. 2009. Soybean cyst nematode: biology and management through genetic resistance.

The soybean cyst nematode (SCN), *Heterodera glycines*, is one of the main phytosanitary problems of soybean. The disease was reported for the first time in Brazil in the 1991 / 92 season. Currently it is spread in about 150 municipalities in ten States (MG, MS, MT, GO, SP, PR, RS, BA, TO and MA). In fields with SCN, the growers must live with the problem, once its eradication is practically impossible. Yield losses can reach 100 % and it can be minimized by procedures like crop rotation with non-host plant species and the use of resistant cultivars.

The genetic resistance, theme of this review, is the most economical and accepted SCN control method by growers. However, it must not be the only option because of the high genetic variability of the pathogen. This variability is large in Brazil, where 11 races (1, 2, 3, 4, 4⁺, 5, 6, 9, 10, 14 and 14⁺) were already found. Races 4⁺ and 14⁺ were found only in Brazil and differ from the classical 4 and 14 races, respectively, for their ability to parasitize 'Hartwig', a North-American soybean cultivar previously resistant to all races. Additionally to the large number of races, the small number of resistant sources, the complexity of its inheritance and the huge task of selecting resistant individuals increase the difficulties to develop SCN resistant cultivars. The most common strategy applied by soybean genetic breeding programs in Brazil to introduce SCN resistance has been the selection of lines derived from populations resulting from crosses including adapted genotypes and North-American cultivars with resistance derived from 'Peking' ('Sharkey', 'Centennial', 'Padre', 'Forrest', 'Gordon', among others) and / or the PIs 88788 ('Bedford', 'Linford', 'Fayette', 'Leflore', etc), 90763 ('Cordell') and 437654 ('Hartwig'). The resistant cultivars are being developed along with the progress of the breeding programs and they, in turn, begin to replace with advantages the North-American resistant sources. Presently, there are about 50 soybean cultivars resistant to SCN in Brazil. However, for the States of GO, MT and MS, where there are several SCN races, new resistant cultivars to other races need to be released, as the available resistant cultivars usually carry resistance only to races 1 and 3. Even considering these two races, resistant and adapted cultivars are not available for all crop regions and breeding efforts must continue.

Key words: resistant cultivars, nematodes, *Heterodera glycines*, *Glycine max*.

Introdução

O nematoide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, foi detectado pela primeira vez no Brasil, na safra 1991 / 92 (Lima *et al.*, 1992; Lordello *et al.*, 1992; Monteiro & Morais, 1992). Atualmente, está presente em cerca de 150 municípios em dez estados (MG, MS, MT, GO, SP, PR, RS, BA, TO e MA), cobrindo mais de 2.500.000 ha (Dias *et al.*, 2004b). No Brasil Central, em condições de populações muito elevadas do nematoide no solo, especialmente se associadas com excesso de calagem, as perdas devidas ao NCS chegam a 100 %. Mesmo em lavouras de soja sem sintomas aparentes de danos, como acontece nos estados de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul, as produtividades de cultivares suscetíveis tem sido, em média, 400 kg / ha menores do que as de cultivares resistentes (Garcia *et al.*, 2005).

O gênero *Heterodera* caracteriza-se pela formação de cistos. Cisto é o corpo da fêmea adulta morta, de cor marrom, altamente resistente às condições adversas e contendo em média 500 ovos (Taylor, 1971). Os ovos, no interior do cisto, sofrem embriogênese, dando origem ao juvenil de primeiro estágio (J₁). Este tem sua ecdise, ou troca de cutícula, dentro do ovo e torna-se o juvenil de segundo estágio (J₂), que eclode, migra no solo e invade as raízes da planta hospedeira.

Após a penetração, o J₂ induz modificações em um conjunto de células da soja no local da penetração, estabelece o sítio de alimentação, denominado síncito, que passa a fornecer alimento para o nematoide. O J₂ continua a se desenvolver, sofre mais três ecdises e, finalmente, atinge a fase adulta, de macho ou fêmea (Schmitt & Barker, 1985; Taylor, 1971). As fêmeas aumentam de volume, assumem o formato de limão 'Taiti', de coloração branca amarelada, e permanecem fixadas à raiz, com o corpo do lado de fora e a parte anterior internamente nos tecidos radiculares. Os machos têm corpo alongado, passam para o solo e, após fertilizarem as fêmeas, morrem (Taylor, 1971). Durante a postura, a fêmea deposita cerca de um terço dos ovos numa pequena matriz gelatinosa, liberada pelo ânus, e o restante permanece retido no interior do seu corpo. Ao morrer, o corpo da fêmea transforma-se no cisto, que tem coloração marrom-escura e é muito resistente à deterioração e à dessecação (Schmitt & Noel, 1984; Taylor, 1971). Os ovos protegidos pelo cisto podem sobreviver por oito anos na ausência de plantas hospedeiras (Moore *et al.*, 1984).

A sobrevivência do NCS também foi avaliada no Brasil, sob diferentes cultivos e níveis de pH do solo (Garcia *et al.*, 1999; Garcia *et al.*, 2003). Todas as

culturas não hospedeiras do NCS avaliadas, quando rotacionadas em anos alternados com a soja, proporcionaram reduções nas populações do nematoide e resultaram em rendimento satisfatório da soja semeada na seqüência, exceto em áreas onde o pH do solo era muito elevado. Rotações mais longas, como por exemplo aquelas utilizando a cana-de-açúcar, praticamente zeraram as populações do nematoide.

A duração do ciclo de vida do NCS é muito influenciada pela temperatura e umidade do solo. Considerando apenas a temperatura do solo durante a estação de cultivo da soja, com médias semanais variando de 22 a 29 °C, *H. glycines* atinge a maturidade em três semanas (Schmitt & Riggs, 1989). Desse modo, em uma cultivar de soja de ciclo tardio é possível ter de seis a sete gerações do patógeno.

O sintoma inicial de ocorrência do NCS nas lavouras de soja caracteriza-se pela presença de reboleiras, onde as plantas mostram-se atrofiadas e cloróticas, com poucas vagens. Em lavouras onde a população do patógeno é muito alta, também pode ocorrer morte prematura de plantas. Cuidados devem ser tomados, uma vez que deficiência de alguns elementos, especialmente nitrogênio, potássio e certos micronutrientes, a fitotoxicidade por defensivos agrícolas, a compactação do solo e outras desordens fisiológicas também podem ocasionar os mesmos sintomas na parte aérea das plantas. Portanto, o diagnóstico definitivo deve ser realizado com base nos sinais, ou seja, a presença de fêmeas de cor branca ou amarela presas às raízes.

Por ser uma estrutura leve e altamente resistente, o cisto constitui a mais eficiente unidade de dispersão do nematoide. Isso permite que o mesmo seja facilmente levado de uma área para outra, a curtas ou longas distâncias, por qualquer meio que promova movimento de solo. Assim, o patógeno pode ser disseminado por vento, água (de chuva ou irrigação), máquinas agrícolas, homem e animais domésticos e selvagens (Moore *et al.*, 1984). A semente constitui outro importante meio de disseminação. Semente de soja ou de outras espécies vegetais, proveniente de áreas infestadas, pode estar misturada a torrões com cistos incrustados e ser responsável pela introdução do patógeno em áreas onde este ainda não ocorre

(Riggs & Schmitt, 1989; Moore *et al.*, 1984). A limpeza de máquinas, implementos agrícolas, veículos e até mesmo calçados, para eliminar solo aderente (Palm *et al.*, 1978), e o uso de semente livre de torrões são medidas que podem prevenir a disseminação.

Em áreas onde o problema já foi identificado, o produtor deve conviver com o patógeno. Algumas medidas ajudam a minimizar as perdas. Entre elas, destacam-se a rotação de culturas com plantas não hospedeiras e o uso de cultivares resistentes. A utilização de cultivares resistentes, ainda que dificultada pela grande variabilidade genética do parasita, é o método de controle mais econômico e de melhor aceitação pelo produtor.

Desenvolvimento

Variabilidade genética do NCS. *H. glycines* apresenta grande variabilidade genética (Ross, 1962; Miller, 1969a,b; Miller, 1971; Riggs *et al.*, 1968, 1981). Isso ficou muito bem documentado, nos Estados Unidos, com a utilização de cultivares resistentes. Pesquisadores observaram que isolados distintos do NCS exibiam capacidades similares de reprodução em introduções de plantas (PIs). Desse modo, a classificação dessas populações tornou-se possível. Em 1969, um grupo de nematologistas e melhoristas de soja, reunidos em um simpósio de pesquisas sobre o NCS, em Beltsville (MA) EUA, propuseram o termo raça para diferenciar os isolados, com base nas suas habilidades em reproduzir sobre uma série diferenciadora de genótipos de soja (Golden *et al.*, 1970). Foram escolhidas como diferenciadoras as cultivares 'Peking' e 'Pickett' e as PIs 88788 e 90763. A cultivar Lee foi recomendada como padrão de suscetibilidade. A designação da raça é feita com base no número médio de fêmeas do nematoide obtido em cada diferenciadora, em relação ao número médio encontrado em 'Lee'. Para cada diferenciadora, é calculado um índice de fêmeas (IF), isto é, $IF (\%) = (\text{número médio de fêmeas na diferenciadora} / \text{número médio de fêmeas em 'Lee'}) \times 100$. Se a diferenciadora apresentar $IF < 10 \%$, é classificada como resistente (-). Ao contrário, se apresentar $IF \geq 10 \%$, é tida como suscetível (+). Inicialmente, foram designadas quatro raças. Entretanto, com a crescente utilização de cultivares resistentes, surgiram isolados que não se

enquadravam naquelas raças propostas. Para abrigá-los, o esquema de Golden *et al.* (1970) teve que ser expandido (Tabela 1) e permitiu a caracterização de até 16 raças (Riggs & Schmitt, 1988). Dessas, as raças 11, 12, 13 e 16 são apenas hipotéticas, visto que a cultivar ‘Pickett’ é derivada de ‘Peking’ e não herdou toda a sua resistência (Riggs *et al.*, 1977).

Niblack *et al.* (2002) propuseram um sistema que, ao invés de utilizar o conceito de raça, classifica as populações de *H. glycines* em tipos (“HG type”). Nesse novo sistema, a cultivar Lee 74 é o padrão de suscetibilidade e são empregadas, como linhas indicadoras, as sete fontes de resistência ao NCS mais comumente utilizadas pelos programas de melhoramento genético de soja dos Estados Unidos. Essas linhas indicadoras são sempre listadas numa ordem fixa, como segue: **1** (‘Peking’), **2** (PI 88788), **3** (PI 90763), **4** (PI 437654), **5** (PI 209332), **6** (PI 89772) e **7** (PI 548316). Para cada linha indicadora é calculado um índice de fêmeas (IF) e a mesma é taxada como resistente (-) ou suscetível (+), conforme o valor de IF seja, respectivamente, $< 10\%$ ou $\geq 10\%$. Toda vez que a população do NCS em estudo “quebrar” a resistência de uma determinada linha indicadora, ela recebe o número da mesma. Por exemplo, quando as sete linhas indicadoras são resistentes, a população é classificada com HG tipo 0 (zero). Ao contrário, se

todas as linhas são suscetíveis, trata-se de HG tipo 1.2.3.4.5.6.7. Se apenas ‘Peking’ e a PI 90763 são suscetíveis, a população é denominada HG tipo 1.3 e assim por diante.

Nos testes para identificação de raças do NCS conduzidos na Embrapa Soja, em Londrina (PR), além das diferenciadoras propostas por Golden *et al.* (1970) e de ‘Lee 74’ (padrão de suscetibilidade), também sempre foram incluídos dois padrões de resistência, a cultivar ‘Hartwig’ e a PI 437654. Estes dois genótipos de soja são resistentes a todas as raças do NCS conhecidas nos Estados Unidos. A inclusão de ‘Hartwig’ nestes testes permitiu a detecção, pela primeira vez, de uma população do nematoide (raça 4⁺) capaz de vencer a sua resistência (Dias *et al.*, 1998). A partir de então, ‘Hartwig’ foi sugerida como uma nova diferenciadora de raças do NCS (Dias *et al.*, 1998). Entretanto, ao invés de ampliarem o esquema de Riggs & Schmitt (1988), os autores propuseram que o número da raça venha acompanhado do sinal positivo (+), toda vez que a população do NCS vencer a resistência de ‘Hartwig’.

Distribuição de raças do NCS no Brasil. O acompanhamento da distribuição e evolução das raças do NCS presentes nas diferentes regiões do Brasil é fundamental para nortear os programas de melhoramento genético de soja, no emprego de

Tabela 1 - Reação das linhagens de soja diferenciadoras de raças de *Heterodera glycines*, como proposto por Riggs & Schmitt, 1988.

Raça	‘Pickett’	‘Peking’	PI 88788	PI 90763
1	- ¹	-	+	-
2	+ ²	+	+	-
3	-	-	-	-
4	+	+	+	+
5	+	-	+	-
6	+	-	-	-
7	-	-	+	+
8	-	-	-	+
9	+	+	-	-
10	+	-	-	+
11	-	+	+	-
12	-	+	-	+
13	-	+	-	-
14	+	+	-	+
15	+	-	+	+
16	-	+	+	+

¹Suscetível (IF $\geq 10\%$)

²Resistente (IF $< 10\%$).

estratégias para o desenvolvimento de genótipos resistentes e para orientar os sojicultores na seleção de cultivares resistentes para utilização em áreas infestadas. Com este propósito, todos os anos, populações do NCS são coletadas nas diversas regiões do País e trazidas para a Embrapa Soja, onde são conduzidos testes para identificação das raças. Esses testes tiveram início no primeiro semestre de 1995 e, até o final da safra 2007 / 08, 207 populações foram caracterizadas.

Para a obtenção do inóculo (suspensão de ovos e J_2), cada população é multiplicada na cultivar de soja ‘Embrapa 20’ (= ‘Doko RC’), por 30 a 40 dias, quando os sistemas radiculares das plantas são submetidos à extração das fêmeas e posteriormente dos ovos. Sementes da série diferenciadora de raças proposta por Golden *et al.*, 1970 (Tabela 1) e dos padrões de suscetibilidade (‘Lee 74’) e de resistência (‘Hartwig’ e PI 437654) são colocadas para germinar em areia. A partir da safra 2004 / 05, sempre que possível, também passaram a ser incluídas as PIs 209332, 89772 e 548616, como proposto por Niblack *et al.* (2002). Três dias após a emergência, sete plântulas de cada genótipo são transplantadas (uma por vaso) para vasos de argila, com capacidade para 1 kg de solo, contendo substrato esterilizado formado pela mistura de solo e areia (1:3). Simultaneamente ao transplante, cada plântula é inoculada com 4.000 ovos e J_2 do nematoide. Decorridos 28 dias da inoculação, o sistema radicular de cada uma das plantas é lavado em peneira de 20 *mesh* acoplada sobre uma de 60 *mesh*, para recuperação das fêmeas do nematoide. Em seguida, as fêmeas são quantificadas, sob microscópio estereoscópico, com o auxílio de placa de acrílico quadriculada. Calculados os IF, a raça é designada adotando-se o esquema de Riggs & Schmitt (1988) e as sugestões de Dias *et al.* (1998), com relação ao parasitismo em ‘Hartwig’. Quando as populações do NCS também são classificadas em tipos (Niblack *et al.*, 2002), a cultivar ‘Hartwig’ é listada na posição 8.

Os resultados destes testes (Tabela 2) mostram que a variabilidade do NCS no Brasil é ainda maior do que aquela verificada nos Estados Unidos. Até o momento, foram identificadas no País 11 raças (1, 2, 3, 4, 4⁺, 5, 6, 9, 10, 14 e 14⁺). As raças 4⁺ (Dias *et al.*, 1998) e 14⁺ (Dias *et al.*, 1999) diferem das raças 4 e 14

clássicas, respectivamente, por apresentarem habilidade em parasitar a cultivar ‘Hartwig’. Estas diferenças também foram verificadas ao nível molecular (Abdelnoor *et al.*, 2001). A resistência da PI 437654, um dos parentais de ‘Hartwig’, a estas raças foi mantida. Entretanto, a forte ligação do(s) alelo(s) de resistência com o loco *i* (cor preta do tegumento da semente) tem impedido a transferência da resistência para cultivares elite de soja (Dias *et al.*, 2005). Uma estratégia que tem funcionado relativamente bem é combinar a resistência da PI 437654 com a moderada resistência da PI 88788.

Especialmente nos estados de Goiás, do Mato Grosso e do Mato Grosso do Sul, a evolução de raças do NCS com número mais elevado de genes de virulência tem acontecido de forma muito rápida. Para os referidos Estados, existe carência de cultivares resistentes, pois as disponíveis (Tabela 3), normalmente, são resistentes apenas às raças 1 e 3. Mesmo para as raças 1 e 3, ainda não existe cultivar adaptada para todas as regiões de cultivo de soja. Outro problema é que praticamente todas as cultivares de soja resistentes ao NCS comercializadas atualmente no Brasil são muito tardias. Em virtude da ameaça da ferrugem asiática e também da necessidade do agricultor em colher a soja mais cedo, para liberar a área para cultivo na entressafra, os agricultores têm optado cada vez mais por cultivares mais precoces.

Fontes de resistência ao NCS. A utilização de cultivares resistentes é o método mais eficiente de controle do NCS. Tão logo esse patógeno foi detectado nos Estados Unidos (Winstead *et al.*, 1955), fontes de resistência começaram a ser buscadas. Várias foram identificadas e passaram a ser utilizadas com sucesso nos programas de melhoramento de soja. Todavia, a base genética da resistência nas cultivares de soja norte-americanas é relativamente estreita (Yue *et al.*, 2000). Segundo Hartwig (1985) e Rao-Arelli (1994), a maioria dos materiais resistentes tem genes de ‘Peking’ (raças 1, 3 e 5), da PI 88788 (raças 3 e 14) ou de ambas. Desse modo, o patógeno pode facilmente superar a resistência dessas cultivares. A coleta e a caracterização genética de novas fontes de resistência têm que ser atividades constantes.

A primeira pesquisa nos Estados Unidos,

Tabela 2 - Distribuição de raças de *Heterodera glycines* no Brasil. Embrapa Soja, agosto de 2009.

Estados - Municípios	Raças	Estados - Municípios	Raças
Bahia	3 e 14	Mato Grosso (continuação)	
Barreiras	14	Tangará da Serra	1, 3 e 4
F. do Rio. Preto	3	Tapurah	3, 5, 6 e 9
Luiz E. Magalhães	3	Mato Grosso do Sul	1, 3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14
Goiás	3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14	Água Clara	3 e 9
Campo A. de Goiás	14	Chapadão do Sul	4, 5, 6 e 14
Catalão	3	Costa Rica	6, 10 e 14
Chapadão do Céu	3, 4, 5, 6, 9 e 14	São G. do Oeste	14
Gemeleira de Goiás	3	Sonora	1, 3 e 9
Ipameri	3 e 6	Minas Gerais	3, 4, 6 e 10
Jataí	4, 6, 9 e 14	Araguari	3
Luziânia	3	Coromandel	3
Mineiros	3, 6 e 14	Indianópolis	3
Rio Verde	3 e 10	Iraí de Minas	3
Perolândia	14	João Pinheiro	3
Serranópolis	14	Monte Carmelo	3
Maranhão	4, 5, 6 e 9	Nova Ponte	3
Alto Parnaíba	4 e 5	Patos de Minas	3
Balsas	9	Pedrinópolis	3 e 10
Tasso Fragoso	6	Perdizes	3
Mato Grosso	1, 2, 3, 4, 4+, 5, 6, 9, 10, 14 e 14+	Presidente Olegário	3 e 4
Alto Garças	3 e 14	Romaria	3
Alto Taquari	3, 4, 10 e 14	Santa Juliana	3
Campos de Júlio	5, 6, 9 e 10	Uberaba	3 e 6
C. N. do Parecis	3 e 9	Uberlândia	3
Campo Verde	1, 2, 3 e 5	Paraná	3
Deciolândia	3	Bela V. do Paraíso	3
Diamantino	3	Congonhinhas	3
Don Aquino	2, 3 e 5	Marechal C. Rondon	3
Guiratinga	3, 4 e 14	Sertaneja	3
Itiquira	3	Tupãssi	3
Jaciara	2 e 5	São Paulo	3
Juscimeira	2 e 3	Assis	3
Lucas do R. Verde	3, 4, 6 e 9	Cândido Mota	3
Nova Mutum	3	Florínea	3
Nova Ubitatã	3	Tarumã	3
Nova Xavantina	2,5 e 6	Rio Grande do Sul	3, 5 e 6
Pedra Preta	2	Cruzeiro do Sul	6
Primavera do Leste	1, 2, 3, 4 e 5	Santo Ângelo	5
Santo A. do Leste	3	São M. das Missões	3
Sapezal	3, 5 e 6	Tocantins	1
Sorriso	1,2,3,4,4+,5,6,14 e14+	Dianópolis	1

conduzida na Carolina do Norte, para a identificação de fontes de resistência ao NCS, resultou na identificação das PIs 90763, 84751 e 209332, e das cultivares 'Ilsoy' e 'Peking' (Ross & Brim, 1957). Entretanto, todos os genótipos resistentes a essa população de campo, provavelmente raça 1, possuíam semente preta. A cultivar 'Peking', por ser agronomicamente superior, passou a ser largamente utilizada nos programas de melhoramento de soja

americanos (Hartwig, 1985; Skorupska *et al.*, 1994). Do cruzamento de 'Peking' com 'Lee' (suscetível), resultou 'Pickett', a primeira cultivar de soja com semente amarela e resistente às raças 1 e 3 do NCS (Brim & Ross, 1966). Em seguida, surgiram 'Custer' (Lueders *et al.*, 1968) e 'Dyer' (Hartwig & Epps, 1972). Todas estas cultivares possuíam alto grau de resistência às raças 1 e 3, mas, na ausência do nematoide, geralmente, produziam menos que os materiais

Tabela 3 - Cultivares brasileiras de soja com resistência a diferentes raças de *Heterodera glycines*. Embrapa Soja, setembro de 2008.

Cultivares	Raças	Recomendação
BRS 231	1 e 3, MR*14	PR, SC, SP
BRS 262	1 e 3	PR, SC, SP
BRS 263 [Diferente]	1 e 3, MR 14	BA
BRS 8460RR	3	DF, GO
BRS Invernada	1 e 3	PR, SP
BRS Jiripoca	1 e 3, MR 5, 6, 9, 10 e 14	MT
BRS Piraíba	1 e 3	MT
BRS GO Araçú	1 e 3	DF, GO, MG, MT
BRS GO Chapadões	1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14	DF, GO, MG, MT, TO
BRS GO Iara	3	DF, GO, MG
BRS GO Ipameri	3 e 14	BA, DF, GO, MG, MT, TO
BRS GO Raíssa	3	BA, DF, GO, MG, MS
BRS MG 250 [Nobreza]	1 e 3	BA, DF, GO, MG, MT, SP
BRS MG 251 [Robusta]	3	BA, DF, GO, MG, MT
BRS MG 810C	1 e 3	MG
BRS MG 811CRR	3	DF, GO, MG
BRS MG Liderança	3	BA, DF, GO, MG, MT, SP
BRS MT Pintado	1 e 3, MR 5, 6, 9, 10 e 14	DF, GO, MG, MT
CD 217	3	DF, GO, MG, MS, MT, RS
CS 801	3	DF, GO, MG, MS, PR, SP
FT Esperança	1 e 3, MR 14	MT
FMT Cachara	1 e 3	MT
FMT Matrinxã	1 e 3, MR 14	MT
FMT Tabarana	1 e 3	MT
FMT Tucunaré	1 e 3, MR 5, 6, 9, 10 e 14	DF, GO, MG, MT
M 8636RR	1 e 3, MR 6	BA, GO, MG, MS, MT, SP, TO
M-SOY 7901	1 e 3	DF, GO, MS, SP
M-SOY 8001	1 e 3	DF, GO, MG, MS, SP
M-SOY 8200	1 e 3	DF, GO, MG, MS, MT, SP
M-SOY 8400	1 e 3	DF, GO, MG, MS, MT, SP
M-SOY 8757	1 e 3	DF, GO, MG, MS, MT
NK 412113 (V-MAX)	3 e 14	PR, SP, MS
NK 7074RR	3	GO, MG, MS, MT, SP
NK 7059RR	3 e 14	MS, PR, RS, SC, SP
P98N31	1 e 3	GO, MG, MT, TO
P98N71	1 e 3	BA, DF, GO, MG, MS, MT, TO
P98N82	1 e 3	BA, DF, GO, MG, MS, MT, TO
P98Y11	1 e 3	MT
P98Y51	3, MR 1	MT
P98Y70	MR 3	MT
TMG 113RR	1 e 3	MT
TMG 115RR	1 e 3, MR 14	MT
TMG 117RR	3	MT
TMG 121RR	1 e 3, MR 14	MT
TMG 123RR	1 e 3	MT
UFV 2010	3	MG
UFV 2011	3	MG

*Moderadamente Resistente.

suscetíveis. Posteriormente, foram surgindo cultivares resistentes e altamente produtivas, a exemplo de 'Forrest'. A utilização dessa cultivar, em sete estados norte-americanos, de 1975 a 1980, resultou na

economia de 401 milhões de dólares no período (Bradley & Duffy, 1982, citados por Boerma & Hussey, 1992).

O uso contínuo das cultivares derivadas de 'Peking'

resultou na seleção e aumento da frequência de alelos nas populações do NCS capazes de vencer a resistência desses genótipos. Na tentativa de encontrar maiores níveis de resistências às novas raças detectadas, foram realizadas avaliações intensivas do banco norte-americano de germoplasma de soja. Sete materiais, PI 88788, PI 89772, PI 87631-1, 'Cloud', 'Columbia', PI 847521 e PI 90763, mostraram alguma resistência à raça 4 (Epps & Hartwig, 1972).

Embora pelo esquema de Golden *et al.* (1970), a PI 88788 tenha sido classificada como suscetível à raça 4, avaliações posteriores mostraram que a mesma possui um nível relativamente alto de resistência a esta raça (Thomas *et al.*, 1975; Hartwig, 1985). Esta PI também é resistente às raças 3, 6, 9 e 14 (Riggs & Schmitt, 1988). Assim, novas cultivares resistentes às raças 3 e 14 derivadas da PI 88788, tais como 'Bedford', 'Epps', 'Jeff' e 'Leflore', foram desenvolvidas e passaram a ser cultivadas em larga escala nos Estados Unidos (Caviness, 1992).

Populações do NCS capazes de multiplicar na PI 88788 (raças 2 e 5) passaram a ser encontradas nos Estados norte-americanos de Tennessee (Young, 1982), Arkansas (Hancock *et al.*, 1987) e Carolina do Norte (Koening & Barker, 1998). Fontes de resistência a essas novas raças tiveram que ser procuradas. A cultivar 'Peking' e as PIs 90763 e 89772 foram testadas e mostraram níveis relativamente altos de resistência à raça 5 (Hartwig, 1985). A raça 2, ao contrário da raça 5, se multiplica em 'Peking'. A PI 90763 é fonte de resistência para as raças 2 e 5, mas não chegou a ser muito utilizada nos programas de melhoramento. Uma cultivar resistente às raças 2, 3, 5 e 14, com genes de 'Peking' e das PIs 88788 e 90763, foi lançada com o nome de 'Cordell' (Hartwig & Young, 1990).

Anand & Galo (1984) avaliaram em casa de vegetação a reação de cerca de 10.000 linhagens de soja à raça 3 do NCS, e encontraram 45 resistentes ou moderadamente resistentes. Dessas, 20 mostraram níveis moderados ou altos de resistência à raça 4 e oito foram resistentes à raça 5. Uma introdução, a PI 437654, mostrou resistência às três raças testadas e surgiu como uma nova fonte de resistência.

A PI 437654 apresenta resistência às raças 3 (Anand & Galo, 1984), 1, 2, 5 e 14 (Anand 1985), 6 e 9 (Rao-

Arelli *et al.*, 1992b) e às raças 4, 4⁺ e 14⁺ (Dias *et al.*, 1998, 1999). Seus níveis de resistência para a maioria das raças são superiores aos apresentados por qualquer outro genótipo de soja conhecido (Webb *et al.*, 1995). Segundo Myers & Anand (1991), esta PI possui dois ou três locos de resistência para a raça 3, dois ou quatro para a raça 5 e três ou quatro para a raça 14, de modo que pode ser vista como uma pirâmide natural de genes de resistência ao NCS. Tentativas para selecionar populações de *H. glycines* capazes de parasitar esse genótipo não tiveram sucesso (Luedders & Anand, 1989). Espera-se que a resistência da PI 437654 permaneça estável por muitos anos. Entretanto, como essa introdução apresenta baixa adaptação e tem semente preta, sua resistência necessita ser introduzida em germoplasma elite de soja (Webb *et al.*, 1995).

Do cruzamento da PI 437654 com 'Forrest', foi produzida 'Hartwig' (Anand, 1991, 1992). Esta cultivar tem semente amarela e apresenta resistência a todas as raças do NCS detectadas nos Estados Unidos. Por ser pouco produtiva, não chegou a ser muito cultivada, mas passou a ser largamente utilizada nos programas de melhoramento genético de soja, em todo o mundo. No Brasil, diferentemente da PI 437654, 'Hartwig' mostrou-se suscetível a duas populações do NCS (Dias *et al.*, 1998, 1999).

Apesar da descoberta de uma fonte com resistência múltipla ao NCS, a PI 437654, fontes adicionais foram avaliadas para as raças 3, 5 e 14 (Young, 1990). Destas, a PI 424137B mostrou-se moderadamente resistente às três raças e as PIs 399061, 424595 e 438342 comportaram-se como altamente resistentes à raça 5, mas foram suscetíveis às raças 3 e 14. Esse foi o primeiro relato de um genótipo de soja suscetível à raça 3, mas altamente resistente a outras raças. Mais recentemente, foi encontrado um novo acesso de soja, a PI 438489B, com resistência às raças 1, 2, 3, 5, 6, 9 e 14 do NCS (Rao-Areli *et al.*, 1992b; Diers *et al.*, 1997).

Genética da resistência da soja ao NCS. A base genética da resistência em soja ao NCS é complexa e ainda não bem entendida (Anand & Rao-Areli, 1989; Caviness, 1992). Podem estar envolvidos blocos de genes ou uns poucos genes com vários alelos (Anand & Rao-Areli, 1989; Caviness, 1992; Hancock *et al.*, 1987; Hartwig, 1985; Mansur *et al.*, 1993). Análise de relacionamento genético indicou que os genes de

resistência podem estar compartilhados entre diferentes fontes (Rao-Arelli & Anand, 1988). Também é frequente a ocorrência de ligação entre os alelos de resistência às diferentes raças (Hartwig & Young, 1986) e entre os locos de resistência e o loco *i*, que confere cor preta ao tegumento da semente (Matson & Williams, 1965; Yue *et al.*, 2000; Qiu *et al.*, 1997; Webb *et al.*, 1995; Dias *et al.*, 2005). Segundo Mansur *et al.* (1993), trata-se de uma resistência quantitativa, pois distribuições contínuas dos fenótipos, de zero a muitos cistos, têm sido observadas. Entretanto, na grande maioria dos estudos realizados para conhecer o controle genético da resistência foram adotados modelos qualitativos (Tabela 4).

Adotando procedimentos da genética quantitativa, Mansur *et al.* (1993) investigaram em cruzamentos envolvendo os genótipos 'A20' (tipo 'Peking'), 'Jack' (tipo PI 88788) e 'Cordell' (genes de 'Peking' e das PIs 90763 e 88788), como parentais resistentes, e os genótipos 'A2234' e 'DSR-284', como parentais suscetíveis, a genética da resistência à raça 3 do NCS. Segundo os autores, as estimativas de herdabilidade foram altas em todos os cruzamentos e um modelo genético aditivo foi suficiente para explicar a maioria da variação genética. Esta pareceu ser controlada por,

no máximo, quatro genes. Também empregando ferramentas da genética quantitativa, Assunção (2000) elaborou um modelo de dois genes, um principal e um menor, para explicar a resistência à raça 3 do NCS nas PIs, 89772, 88788, 89772 e 209332.

Estudos de genética mendeliana e de genética quantitativa, conduzidos em 120 famílias $F_{2,3}$, utilizando 120 plantas F_2 , 20 plantas F_1 e 20 plantas de cada parental dos cruzamentos das plantas E97-2502-9-3-1 e E97-2502-9-3-5 (tipos PI 437654) com a linhagem suscetível E96-776 (tipo 'Hartwig'), mostraram que dois genes, um maior, localizado no grupo de ligação A2 e fortemente ligado ao loco *i*, e outro menor, hipostático ao anterior, explicam a resistência à raça 4⁺ do NCS (Dias *et al.*, 2005).

Marcadores moleculares ligados a alelos de resistência ao NCS. Atualmente, a utilização de marcadores moleculares em programas de introgressão de alelos por meio de retrocruzamentos é o exemplo mais concreto de melhoramento genético assistido por marcadores. O uso de marcadores moleculares ligados a alelos de resistência a doenças é de grande importância na seleção de genótipos resistentes, principalmente quando o objetivo é introduzir dois ou mais genes, quando o fenótipo é

Tabela 4 - Relação de alguns estudos, adotando modelos qualitativos, conduzidos para elucidar o controle genético da resistência da soja ao nematoide de cisto (*H. glycines*). Embrapa Soja, setembro de 2008.

Fontes de Resistência	Raças	Genes Encontrados	Referências
'Peking'	1	3 recessivos	Caldwell <i>et al.</i> (1960)
'Peking'	3	3 recessivos e 1 dominante	Matson & Williams (1965)
PI 88788	3	1 recessivo e 2 dominantes	Rao-Arelli <i>et al.</i> (1992a)
PI 90763 e 'Peking'	3	1 dominante e 2 recessivos	Rao-Arelli <i>et al.</i> (1992a)
PIs 89772 e 209332	3	1 dominante e 2 recessivos	Rao-Arelli (1994)
PI 438489B	3	2 recessivos	Rao-Arelli (1994)
PI 438489B	1, 3 e 5	2 dominantes e 1 recessivo	Yue <i>et al.</i> (2000)
PI 438489B	2	1 dominante e 3 recessivos	Yue <i>et al.</i> (2000)
PI 438489B	14	3 recessivos	Yue <i>et al.</i> (2000)
PI 88788	4	2 dominantes e 1 recessivo	Thomas <i>et al.</i> (1975)
PI 90763	X (2)	1 recessivo	Hancock <i>et al.</i> (1987)
BR90-4722	3	1 dominante e 2 recessivos	Mauro <i>et al.</i> (1999)
PI 424595	5	3 recessivos	Anand (1994)
PI 90763	5	1 dominante e 2 recessivos	Anand (1994)
PI 424595	5	1 dominante e 1 recessivo	Anand (1994)
PIs 399061, 424595 e 438342	5	3 ou mais	Young & Killen (1994)
PI 437654	5	2 dominantes e 2 recessivos	Myers & Anand (1991)
PI 437654	5	2 dominantes e 1 recessivo	Myers & Anand (1991)
'Peking'	1, 3 e 5	1 dominante e 2 recessivos	Qiu <i>et al.</i> (1997)

de determinação complexa, ou quando o processo de avaliação requer a destruição da planta, como normalmente é o caso dos nematoides de cisto e galha (Lanza *et al.*, 2000). A seleção assistida por marcadores apresenta várias vantagens sobre o método tradicional de seleção, pois permite que um grande número de linhagens seja analisado em poucos dias e em qualquer época do ano, uma vez que não é influenciada pelas condições ambientais. A identificação das plantas resistentes nos estádios iniciais de desenvolvimento permite a eliminação antecipada dos tipos indesejáveis,

economizando mão-de-obra e espaço em casa de vegetação, além de reduzir o número de linhagens a serem selecionadas pelo melhorista (Abdelnoor & Almeida, 1999).

Diversos marcadores moleculares, como RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), SSR (*Simple Sequences Repeats*) ou microssatélites e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), já foram utilizados para mapear genes de resistência ao NCS em soja (Tabela 5). Um loco principal recessivo (*rhg1*) para resistência

Tabela 5 - Marcadores moleculares ligados a alelos de resistência ao nematoide de cisto da soja (NCS). Embrapa Soja, setembro de 1998.

Raça do NCS	Fonte de Resistência	Tipo de Marcador Molecular - Grupo de Ligação da Soja				Referência Bibliográfica
		RFLP; Grupo de Lig.	RAPD; Grupo de Lig.	SSR; Grupo de Lig.	AFLP; Grupo de Lig.	
3	'Peking' <i>pA635; C</i>	<i>pA136; A</i> <i>G15d; F</i> <i>S07a; A</i>	<i>E01c; A</i>	-	-	Mahalingan & Skorupska, 1995
1 e 3	'Peking'	<i>pT05; B</i> <i>pA18; E</i> <i>pB72; H</i> <i>pK104; HF</i>	-	-	-	Qiu <i>et al.</i> , 1997
1	'Peking'	<i>A593; B</i> <i>T005; B</i> <i>A018; E</i> <i>K014; H</i> <i>B072; H</i>	-	-	-	Qiu <i>et al.</i> , 1999
3	'Peking'	<i>B072; H</i> <i>K014; H</i> <i>T005; B</i>	-	-	-	Qiu <i>et al.</i> , 1999
5	'Peking'	<i>K011; I</i> <i>A963; E</i>	-	-	-	Qiu <i>et al.</i> , 1999
3	'Peking' ('Forrest')	-	-	-	<i>E_{ATG}M_{CC4}87; G</i> <i>E_{CCG}M_{AAC}405; A2</i>	Meksem <i>et al.</i> , 2001
3	'Peking' ('Forrest')	-	<i>O103₄₅₀; G</i> <i>OW15₄₀₀; G</i>	-	-	Chang <i>et al.</i> , 1997
3	'Peking' ('Forrest')	<i>Bng122D; G</i>	<i>O103₄₅₀; G</i>	-	-	Doubler <i>et al.</i> , 1997
3	'Peking' (‘Centennial’ e ‘Sharkey’)	-	<i>OPAG-05; ?</i> <i>OPF-04; ?</i> <i>OPAQ-01; ?</i> <i>OPAG-01; ?</i>	<i>Satt187; A2</i>	-	Carvalho, 1999
3	'Peking'	-	-	<i>Satt309; G</i> <i>Sat-168; G</i> <i>Sat-163; G</i> <i>Sat-162; A2</i>	-	Di Mauro <i>et al.</i> , 2002
3	PI 437654	<i>Php05354a; G</i> <i>Php02301a; M</i>	-	-	-	Webb <i>et al.</i> , 1995
3	PI 437654 ('Hartwig')	<i>A006; A2</i> <i>A567; A2</i> <i>A487; A2</i> <i>A112; A2</i>	-	-	-	Vierling <i>et al.</i> , 1996
3	'Hartwig'	<i>BLT65; A2</i>	-	<i>Satt038; G</i>	-	Prabhu <i>et al.</i> , 1999
14	PI 437654 ('Hartwig')	-	<i>OPAA-11₇₉₅; D2</i> <i>OPAE-08₈₃; D2</i> <i>OPR-07₅₄₈; D2</i> <i>OPY07₋₂₀₃₀; D2</i>	<i>Satt082; D2</i> <i>Sat-001; D2</i> <i>Satt574; D2</i> <i>Satt301; D2</i>	-	Schuster <i>et al.</i> , 2001
3	PI 437654 ('Hartwig')	-	-	<i>Satt038; G</i> <i>Satt163; G</i>	-	Cervigni, 1999

Tabela 5 (continuação) - Marcadores moleculares ligados a alelos de resistência ao nematóide de cisto da soja (NCS). Embrapa Soja, setembro de 1998.

Raça do NCS	Fonte de Resistência	Tipo de Marcador Molecular - Grupo de Ligação da Soja				Referência Bibliográfica
		RFLP; Grupo de Lig.	RAPD; Grupo de Lig.	SSR; Grupo de Lig.	AFLP; Grupo de Lig.	
4*	PI 437654	-	AG20; A2 H4a; G M17; G	Satt187; A2 Satt191; G	-	Arias <i>et al.</i> , 2001
4*	PI 437654	-	-	Satt177; A2 Satt 341; A2	-	Dias <i>et al.</i> , 2004a
3	PI 209332	-	-	Satt038; G Satt130; G	-	Mudge <i>et al.</i> , 1997
3	PI 209332 (‘M85-1430’)	P485; A pB32; K	-	-	-	Concibido <i>et al.</i> , 1994
1, 3 e 6	PI 209332	C006V; G A0641-2; D B032V-1; J A023T; L A3151; K	-	-	-	Concibido <i>et al.</i> , 1996b
3	PI 290136	pBLT24; A2 pBLT65; A2	-	-	-	Weiseman <i>et al.</i> , 1992
1	PI 438489B	K493; ? A381; ? B072; ?	-	-	-	Yue <i>et al.</i> , 1998
3 e 5	PI 438489B	A381; ?	-	-	-	Yue <i>et al.</i> , 1998
14	PI 438489B	B078; ?	-	-	-	Yue <i>et al.</i> , 1998
5	PI 438489B	-	-	Satt583; B1	-	Yue <i>et al.</i> , 2001a
14	PI 438489B	A656; E A059; C1 A398; D1a K476; D1a	-	Satt542; E	-	Yue <i>et al.</i> , 2001a
1	PI 438489B	A096; G	-	Satt130; G	-	Yue <i>et al.</i> , 2001a
3	PI 438489B	K400; A2 T155; A2	-	-	-	Yue <i>et al.</i> , 2001a
1 e 3	PI 89772	-	-	Satt309; G	-	Yue <i>et al.</i> , 2001b
3	‘Peking’ e PI 88788 (‘Pyramid’)	A085H; A2	OAI21 ₀₀₀ ; A2 OD04 ₉₅₀ ; G OG01 ₃₉₀ ; D	Satt038; G Satt071; D	-	Kilo <i>et al.</i> , 1997
1 e 3	‘Peking’ e PI 88788 e PI 90763 (‘J87-233’)	BLT65V; A2 K4001; A	548/563 _{1100/1025/975} ; A2	SCAR	-	Heer <i>et al.</i> , 1998
1	‘Peking’ e PI 88788 e PI 90763 (‘J87-233’)	K69T; G	-	-	-	Heer <i>et al.</i> , 1998
1 e 5	‘Peking’ e PI 88788 e PI 90763 (‘J87-233’)	K002H; F	-	-	-	Heer <i>et al.</i> , 1998
1, 3 e 5	‘Peking’ e PI 88788 e PI 90763 (‘J87-233’)	A131T; M	-	-	-	Heer <i>et al.</i> , 1998
14	‘Peking’ e PI 88788 e PI 90763 (‘J87-233’)	A2426; D	OAO8 ₇₈₀ ; ? OG081 ₁₃₀ ; ?	-	-	Heer <i>et al.</i> , 1998
1, 3 e 6	‘Peking’, PI 88788., PI 90763 e PI 209332	C006V; G A378H; G B032V-1; J A280Hae-1; N	-	-	-	Concibido <i>et al.</i> , 1997
Não Especificada	‘Peking’, PI 90763 e PI 437654	-	-	Satt309; G (ligado ao rhg1)	-	Cregan <i>et al.</i> , 1999b
Não Especificada	PI 88788 e PI 209332	-	-	Sat-168; G (ligado ao rhg1)	-	Cregan <i>et al.</i> , 1999b
Não Especificada	Fontes contendo o gene rhg1	TMA5; G	-	Satt309; G Sat-141; G Sat-163; G	-	Guilin <i>et al.</i> , 2002
Não Especificada	Fontes contendo o gene Rhg4	A2D8; A2 AK-HSDS; A2	-	Satt187; A2	-	Guilin <i>et al.</i> , 2002
3	‘Peking’	-	-	Satt 309; G GMENOD2B; A2 Satt 187; A2	-	Silva <i>et al.</i> , 2007
14	PI 88788	-	-	Satt 309; G Satt 356; G	-	Silva <i>et al.</i> , 2007

parcial, localizado no grupo de ligação molecular G, está presente em várias fontes de resistência, incluindo 'Peking' (Mahalingam & Skorupska, 1995; Chang *et al.*, 1997; Mathews *et al.*, 1998; Meksem *et al.*, 2001), PI 209332 (Concibido *et al.*, 1996a,b), PI 88788 (Concibido *et al.*, 1997; Bell-Johnson *et al.*, 1998; Cregan *et al.*, 1999a,b,c), PI 90763 (Concibido *et al.*, 1997) e PI 437654 (Webb *et al.*, 1995). Esse loco controla mais de 50 % da variação total para a resistência e o alelo é efetivo contra várias raças (Concibido *et al.*, 1994, 1995, 1996a,b, 1997; Webb *et al.*, 1995). Um segundo alelo dominante (*Rhg4*) confere igual porção da resistência em genótipos derivados de 'Peking' (Mahalingam & Skorupska, 1995; Chang *et al.*, 1997; Mathews *et al.*, 1998; Meksem *et al.*, 2001) e da PI 437654 (Webb *et al.*, 1995; Prabhu *et al.*, 1999), mas não naqueles derivados das PIs, 88788, 209332 ou 90763 (Concibido *et al.*, 1997).

Melhoramento da soja para resistência ao NCS no Brasil. Quando o NCS foi detectado no Brasil, todas as cultivares de soja em uso eram suscetíveis. A cultivar IPAGRO 21, apesar de ser resistente, não tinha adaptação para cultivo nas áreas infestadas. Para enfrentar mais esse desafio, a Embrapa Soja, juntamente com parceiros da pesquisa estadual e produtores de semente, bem como a iniciativa privada, implementaram ações nos programas de melhoramento para incorporar resistência às cultivares nacionais. Como resultado desses esforços, cerca de 50 cultivares resistentes já foram indicadas (Tabela 3). Na safra 2003 / 04, havia disponibilidade de semente de cultivares resistentes para a semeadura de cerca de 1,7 milhões de hectares (Garcia *et al.*, 2005).

A estratégia mais utilizada para incorporação de resistência ao NCS tem sido a seleção de linhagens, a partir de populações originárias de hibridações entre genótipos adaptados e cultivares norte-americanas resistentes derivadas de 'Peking' ('Sharkey', 'Forrest', 'Centennial', 'Padre', 'Stonewall', 'Kirby', 'Custer', 'Gordon', 'Thomas', etc) e/ou das PIs 88788 ('Bedford', 'Leflore', 'Linford', 'Fayette', 'Epps', 'Nathan', 'Avery', etc), 90763 ('Cordell') e 437654 ('Hartwig'). À medida que cultivares resistentes (Tabela 3) vão sendo disponibilizadas no País, elas passam a substituir, com vantagem, as fontes de resistência norte-americanas.

No caso da Embrapa Soja, os cruzamentos e o avanço inicial das gerações ocorrem em Londrina, PR. Na geração F₄, as populações são enviadas para os parceiros nos diversos estados, que continuam a avançar as gerações, sempre que possível em áreas infestadas, fazendo a seleção das melhores plantas (considerando altura, acamamento, ciclo de maturidade, resistência à doenças e potencial produtivo) e também se responsabilizam pelas etapas seguintes do desenvolvimento de cultivares. Tais etapas compreendem o teste de progênies e as avaliações de linhagens em ensaios regionais em rede (avaliações preliminares de 1º, 2º. e 3º. ano - AP I, AP II e AP III - e avaliações finais durante dois anos - AF). Para aumentar a frequência de linhagens resistentes ao NCS, quando possível, as linhagens em AP I e/ou AP II são avaliadas (notas de acordo com o número de fêmeas nas raízes), a campo ou em sacos de polietileno contendo solo infestado. Independentemente de terem sido avaliadas ou não em AP I e/ou AP II, todas as linhagens dos ensaios AP III e AF são inoculadas (4.000 ovos / planta) com a raça 3, em casa de vegetação, em Londrina. Posteriormente, de acordo com a fonte de resistência utilizada no cruzamento, as linhagens resistentes à raça 3 também são testadas para outras raças. Para garantir pureza genética da semente com relação à resistência ao NCS, todos os lotes que irão compor a semente da nova cultivar também passam por avaliações em casa de vegetação. Os lotes suscetíveis ou desuniformes são descartados.

Conclusões

A introdução do nematoide de cisto da soja no Brasil é recente. Entretanto, neste curto período foram desenvolvidas ou adaptadas diversas tecnologias que permitem aos agricultores continuar produzindo, economicamente, soja nas áreas infestadas. Inicialmente, dada a ausência de cultivares de soja resistentes no País, o controle do NCS era realizado exclusivamente pela adoção da rotação de culturas com espécies vegetais não hospedeiras. Entretanto, rapidamente foram implementadas ações de pesquisa para conhecer a variabilidade genética do nematoide, identificar fontes de resistência, e, finalmente, disponibilizar cultivares de soja resistentes. A variabilidade genética do NCS no Brasil é ainda maior

do que aquela observada nos Estados Unidos. Esse grande número de raças (11) dificulta, sobremaneira, a utilização da resistência genética. Apesar de já terem sido lançadas no País cerca de 50 cultivares de soja com resistência ao NCS, quase todas são adequadas apenas para as raças 1 e 3. Para as outras raças, existe carência de materiais resistentes. Mesmo para as raças 1 e 3, ainda não se dispõe de cultivares adaptadas para todas as regiões de cultivo de soja.

Literatura Citada

- ABDELNOOR, R.V. & A.M.R. ALMEIDA, 1999. Uso de marcadores moleculares nos estudos do nematoide de cisto da soja. In: Sociedade Brasileira de Nematologia (ed). O Nematoide de Cisto da Soja: A Experiência Brasileira. Artsigner Editores, Jaboticabal (SP), p. 119-130.
- ABDELNOOR, R.V., W.P. DIAS, J.F.V. SILVA, S.R.R. MARIN & R.A.S. KIIHL. 2001. Caracterização molecular de populações do nematoide de cisto da soja com diferentes índices de parasitismo na cultivar Hartwig. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 36: 331-337.
- ANAND, S.C. 1985. Sources of resistance to the soybean cyst nematode. In: LAMBERTI, F. & C.E. TAYLOR (ed). Cyst Nematodes. Plenum Press, New York, p. 269-276.
- ANAND, S.C. 1991. Registration of soybean germplasm line S88-2036 having multiple-race soybean cyst nematode resistance. Crop Science, 31: 856.
- ANAND, S.C. 1992. Registration of 'Hartwig' soybean. Crop Science, 32: 1069-1070.
- ANAND, S.C. 1994. Genetic diversity for resistance to *Heterodera glycines* race 5 in soybean. Journal of Nematology, 26: 76-79.
- ANAND, S.C. & K.M. GALLO. 1984. Identification of additional soybean germplasm with resistance to race 3 of soybean cyst nematode. Plant Disease, 68: 593-595.
- ANAND, S.C. & A.P. RAO-ARELLI. 1989. Genetic analyses of soybean genotypes resistant to soybean cyst nematode race 5. Crop Science, 29: 1181-1184.
- ARIAS, C.A.A., A.M.R. ALMEIDA, R.V. ABDELNOOR, J.F.V. SILVA, M.K. MARTINS, S.R.R. MARIN, R. JUNG, R.L. BROGIN, W.P. DIAS, & R.A.S. KIIHL. Identificação de marcadores moleculares ligados a genes de resistência a doenças: In: Resultados de Pesquisa da Embrapa Soja-2000: Ecofisiologia e biologia molecular. Embrapa Soja, Londrina (PR), p. 28-31.
- ASSUNÇÃO, M.S. 2000. Soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, resistance genes in PI 89772 and PI 209332 soybean. (PhD Thesis in Plant Pathology). University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana (Illinois), 52 p.
- BELL-JOHNSON, B.B., G. GARGEY, J. JOHNSON, K. MEKSEM & D.A. LIGHTFOOT. 1998. Methods for high-throughput marker assisted selection for soybean. Soybean Genetics Newsletter, 25: 115-118.
- BOERMA, H.R. & R.S. HUSSEY. 1992. Breeding plants for resistance to nematodes. Journal of Nematology, 24: 242-252.
- BRIM, C.A. & J.P. ROSS. 1966. Registration of Pickett soybeans. Crop Science, 6: 305.
- CALDWELL, B.E., C.A. BRIM & J.P. ROSS. 1960. Inheritance of resistance to soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. Agronomy Journal, 52: 635-636.
- CARVALHO, V.P. 1999. Identificação de marcadores moleculares para resistência ao nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe, raça 3). (Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Estadual de Londrina, Londrina (PR), 75 p.
- CAVINESS, C.E. 1992. Breeding for resistance to soybean cyst nematode. In: RIGGS, R. D. & J.A. WRATHER, J. A. (ed). Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode. APS Press, St. Paul, p.143-156.
- CERVIGNI, G.D.L. 1999. Mapeamento de genes de resistência à raça 3 do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG). 52 p.
- CHANG, S.J.C., T.W. DOUBLER, V.Y. KILO, J. ABU-THEDEIH, R. PRABHU, V. FREIRE, R. SUTTNER, J. KLEIN, M.E. CHMIDT, P.T. GIBSON, & D.A. LIGHTFOOT, D. A. 1997. Association of loci underlying field resistance to soybean sudden death syndrome (SDS) and cyst nematode (SCN) race 3. Crop Science, 37: 965-971.
- CONCIBIDO, V.C., R.L. DENNY, S.R. BOUTIN, R. HAUTEA, J.H. ORF & N.D. YOUNG. 1994. DNA marker analysis of loci underlying resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe). Crop Science, 34: 240-246.
- CONCIBIDO, V.C., R.L. DENNY, D.A. LANGE, D. DANESH, J.H. ORF & N.D. YOUNG. 1995. The soybean cyst nematode resistance gene on linkage group G is common among sources of resistance. Soybean Genetics Newsletter, 22: 269-272.
- CONCIBIDO, V.C., R.L. DENNY, D.A. LANGE, J.H. ORF & N.D. YOUNG. 1996a. RFLP mapping and marker-assisted selection of soybean cyst nematode resistance in PI 209332. Crop Science, 37: 1643-1650.
- CONCIBIDO, V.C., S. BOUTIN, R.L. DENNY, R. HAUTEA, J.H. ORF & N.D. YOUNG. 1996b. Targeted comparative genome analysis and qualitative mapping of a major partial resistance gene to the soybean cyst nematode resistance. Theoretical Applied Genetics, 93: 234-241.
- CONCIBIDO, V.C., D.A. LANGE, R.L. DENNY, J.H. ORF & N.D. YOUNG. 1997. Genome mapping of soybean cyst nematode resistance genes in 'Peking', PI 90763, and PI 88788 using DNA markers. Crop Science, 37: 258-264.
- CREGAN, P., T. JARVIK, A.L. BUSH, R.C. SHOEMAKER, K.G. LARK, A.L. KAHLER, T.T. VanTOAI, D.G.

- LOHNES, J. CHUNG & J.E. SPECHT. 1999a. An integrated genetic linkage map of the soybean. *Crop Science*, 39: 1464-1490.
- CREGAN, P.B., J. MUDGE, E.W. FICKUS, D. DANEH, R. DENNY & N.D. YOUNG. 1999b. Two simple sequence repeat markers to select for soybean cyst nematode resistance conditioned by the *rhg1* locus. *Theoretical Applied Genetics*, 99: 811-818.
- CREGAN, P.B., J. MUDGE, E.W. FICKUS, R. DENNY, D. DANEH & N.D. YOUNG. 1999c. Target isolation of simple sequence repeat markers through the use of bacterial artificial chromosomes. *Theoretical Applied Genetics*, 99: 918-928.
- DIAS, W.P., J.F.V. SILVA, R.A.S. KIIHL, D.M. HIROMOTO & R.V. ABDELNOOR. 1998. Quebra da resistência da cv. Hartwig por população de campo do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33: 971-973.
- DIAS, W.P., J.F.V. SILVA, D.M. HIROMOTO & R.A.S. KIIHL. 1999. Ocorrência de uma segunda população do nematoide de cisto da soja (NCS) “quebrando” a resistência da cv. Hartwig no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, I, Londrina (PR). Resumos, p. 462.
- DIAS, W.P., V.P. CAMPOS, C.A.A. ARIAS, R.A.S. KIIHL & J.F.V. SILVA. 2004a. Identificação de marcadores SSR associados a locos de resistência à raça 4⁺ do nematoide de cisto da soja. *Nematologia Brasileira*, 28: 63-75.
- DIAS, W.P., J.F.V. SILVA, A. GARCIA & G.E.S. CARNEIRO. 2004b. Biologia e controle do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). In: Resultados de Pesquisa da Embrapa Soja-2003: Ecofisiologia, biologia molecular e nematoides. Embrapa Soja, Londrina, 48 p.
- DIAS, W.P., V.P. CAMPOS, C.A.A. ARIAS, R.A.S. KIIHL & J.F.F. TOLEDO. 2005. Genetic control in soybean of resistance to soybean cyst nematode race 4⁺. *Euphytica*, 145: 321-329.
- DIERS, B.W., H.T. SKORUPSKA, A.P. RAO-ARELLI & S.R. CIANZIO. 1997. Genetic relationships among soybean plant introductions with resistance to soybean cyst nematode. *Crop Science*, 37: 1966-1972.
- DI MAURO, A.O., A.L. OLIVEIRA & S.M.Z. DI MAURO. 1999. Genetics of resistance to soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* Ichinohe (race 3), in a Brazilian soybean population. *Genetic Molecular Biology*, 22: 1415-1422.
- DI MAURO, A.O., S.H.U. TREVISOLI, E.G.M. LEMOS, R.C. OLIVEIRA, S.M.Z. DI MAURO, E.C.P. GONÇALVES, I.M. BÁRBARO & F.R.S. MUNIZ. 2002. Assisted selection for resistance to soybean cyst nematode (race 3). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA E MERCOSOJA, II, Foz do Iguaçu (PR). Resumos, p.25.
- DOUBLER, T.W., B. SUTTNER, S.J.C. CHANG, P.T. GIBSON, & D.A. LIGHTFOOT. 1997. Qualitative inheritance of quantitative trait loci. *Soybean Genetics Newsletter*, 24: 139-141.
- EPPS, J.M. & E.E. HARTWIG. 1972. Reaction of soybean varieties and strain to race 4 of the soybean cyst nematode. *Journal of Nematology*, 4: 222.
- GARCIA, A., J.F.V. SILVA, J.E. PEREIRA & W.P. DIAS. 1999. Rotação de culturas e manejo do solo para controle do nematoide de cisto da soja. In: Sociedade Brasileira de Nematologia (ed). *O Nematode de Cisto da Soja: A experiência Brasileira*. Artsigner Editores, Jaboticabal (SP), p.55-70.
- GARCIA, A., J.F.V. SILVA, J.F.V., W.P. DIAS, G. LONIEN & J.E. PEREIRA, J.E. 2003. Sobrevivência de *Heterodera glycines* em solo naturalmente infestado, na ausência de plantas hospedeiras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXIV, Petrolina (PE), Resumos, p.127.
- GARCIA, A., J.F.V. SILVA, G. LONIEN & J.E. PEREIRA. 2005. Avaliação de perdas causadas pelo nematoide de cisto através da comparação de rendimentos entre cultivares resistentes e suscetíveis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXV, Piracicaba (SP), Resumos, p.109.
- GOLDEN, A.M., J.M. EPPS, R.D. RIGGS, L.A. DUCLOS, J.M. FOX & R.L. BERNARD. 1970. Terminology an identity of infraspecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). *Plant Disease Reporter*, 54: 544-546.
- GUILLIN, E.A., J.R. GILLI & H.E.J. BAIGORRI. 2002. Frecuencia de alelos de resistencia a *Heterodera glycines* (raza 3) en germoplasma argentino de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA E MERCOSOJA, II, Foz do Iguaçu (PR), Resumos, p.154.
- HANCOCK, J.A., F.G. HANCOCK, C.E. CAVINESS & R.D. RIGGS. 1987. Genetics of resistance in soybean to “race x” of soybean cyst nematode. *Crop Science*, 27: 704-707.
- HARTWIG, E. E. Breeding productive soybeans with resistance to the soybean cyst nematode. 1985. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, III, Boulder, Abstracts, p.394-399.
- HARTWIG, E.E. & J.M. EPPS. 1972. Dyer soybeans. *Crop Science*, 8: 402.
- HARTWIG, E.E. & L.D. YOUNG. 1986. Registration of soybean germplasm line J81-116. *Crop Science*, 26: 209.
- HARTWIG, E.E. & L.D. YOUNG. 1990. Registration of Cordell soybeans. *Crop Science*, 30: 231-232.
- HEER, J.A., H.T. KNAP, R. MAHALINGAM, E.R. SHIPE, A.P. RAO-ARELLI & B.F. MATTHEWS. 1998. Molecular markers for resistance to *Heterodera glycines* in advanced soybean germplasm. *Molecular Breeding*, 4: 359-367.
- KILO, V.Y., J. ABU-THREDEIH, S.J.C. CHANG, P.T. GIBSON & D.A. LIGHTFOOT. 1997. Coinheritance of resistance to SCN and SDS in Pyramid x Douglas. *Soybean Genetics Newsletter*, 24: 126-127.
- KOENNING, S.R. & K.R. BARKER. 1998. Survey of *Heterodera glycines* races and other plant-parasitic nematodes on soybean in North Carolina and race status

- of *Heterodera glycines* populations. *Journal of Nematology*, 30: 569-576.
- LANZA, M.A., C.T. GUIMARÃES & I. SHUSTER. 2000. Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético. *Informe Agropecuário*, 21: 97-108.
- LIMA, R.D., S. FERRAZ, S. & J.M. SANTOS. 1992. Ocorrência de *Heterodera* sp. em soja, no Triângulo Mineiro. *Nematologia Brasileira*, 16: 101-102.
- LORDELLO, A.I.L., R.R.A. LORDELLO & J.A. QUAGGIO. 1992. *Heterodera* sp. reduz a produção de soja no Brasil. *Nematologia Brasileira*, 16: 101.
- LUEDDERS, V.D. & S.C. ANAND. 1989. Attempt to select a cyst nematode population on soybean plant introduction 437654. *Journal of Nematology*, 21: 264-267.
- LUEDDERS, V.D., L.F. WILLIAMS & A. MATSON. 1968. Registration of Custer soybeans. *Crop Science*, 8: 402.
- MAHALINGAM, R. & H.T. SKORUPSKA. 1995. DNA markers for resistance to *Heterodera glycines* race 3 in the soybean cultivar 'Peking'. *Breeding Science*, 45: 435-445.
- MANSUR, L.M., A.L. CARRIQUIRY & A.P. RAO-ARELLI. 1993. Generation mean analysis of resistance to race 3 of soybean cyst nematode. *Crop Science*, 33: 1249-1253.
- MATHEWS, B.F., M.H. MAC DONALD, J.S. GEBHART & T.E. DEVINE. 1998. PCR markers residing close to the *Rhg4* locus conferring resistance to the soybean cyst nematode race 3 on linkage group A2 of soybean. *Theoretical Applied Genetics*, 97: 1047-1052.
- MATSON, A.L. & L.F. WILLIAMS. 1965. Evidence of a fourth gene for resistance to the soybean cyst nematode. *Crop Science*, 5: 477.
- MEKSEM, K., P. PANTAZOPOULOS, V.N. NJIT, L.D. HYTEN, A.P. RAO-ARELLI & D.A. LIGHTFOOT. 2001. 'Forrest' resistance to the soybean cyst nematode is bigenic: saturation mapping of the *Rhg1* and *Rhg4* loci. *Theoretical Applied Genetics*, 103: 710-717.
- MILLER, L.I. 1969a. Physiologic variation of five isolates of the soybean cyst nematode. *Virginia Journal Science*, 29: 99.
- MILLER, L.I. 1969b. Physiologic variation of six isolates of the soybean cyst nematode. *Phytopathology*, 59: 1558.
- MILLER, L.I. 1971. Physiologic variation within the Virginia-2 population on *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 3: 318.
- MONTEIRO, A.R. & S.R.A.C. MORAIS. 1992. Ocorrência do nematoide de cistos da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. *Nematologia Brasileira*, 16: 101-102.
- MOORE, W.F., S.C. BOST, F.L. BREWER, R.A. DUN, B.Y. ENDO, C.R. GRAU, L.L. HARDMAN, B.J. JACOBSEN, R. LEFFEL, M.A. NEWMAN, R.F. NYVALL, C. OVERSTREET & C.L. PARKS. 1984. Soybean cyst nematode. Soybean Industry Resource Committee, Washington, 23 p.
- MUDGE, J., P.B. GREGAN, J.P. KENWORTHY, W.J. KENWORTHY, J.H. ORF & N.D. YOUNG. 1997. Two microsatellite markers that flank the major soybean cyst nematode resistance locus. *Crop Science*, 37: 1611-1615.
- MYERS, G.O. & S.C. ANAND. 1991. Inheritance of resistance and genetic relationships among soybean plant introductions to races of soybean cyst nematode. *Euphytica*, 55: 197-201.
- NIBLACK, T.L., P.R. ARELLI, G.R. NOEL, C.H. OPPERMAN, J.H. ORF, D.P. SCHMITT, J.G. SHANNON & G.L. TYLKA. 2002. A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 34: 279-288.
- PALM, E.W., C.H. BALDWIN, J.T. SCOTT, V.D. LUEDDERS & G. SHANON. 1978. The soybean cyst nematode. Science and Technology Guide. University of Missouri/ Columbia Science and Technology Guide Division, Missouri, 4p.
- PRABHU, R.R., V.N. NJITI, B. BELL-JOHNSON, J.E. JOHNSON, M.E. SCHMIDT, J.H. KLEIN & D.A. LIGHTFOOT. 1999. Selecting soybeans cultivars for dual resistance to soybean cyst nematode and sudden death syndrome using two DNA markers. *Crop Science*, 39: 982-987.
- QIU, B.X., D.A. SLEPER & A.P. RAO-ARELLI. 1997. Genetic and molecular characterization of resistance to *Heterodera glycines* race isolates 1, 3, and 5 in Peking. *Euphytica*, 96: 225-231.
- QIU, B.X., P.R. RAO-ARELLI & D.A. SLEPER. 1999. RFLP markers associated with soybean nematode resistance and seed composition in a 'Peking' x 'Essex' population. *Theoretical Applied Genetics*, 98: 356-364.
- RAO-ARELLI, A.P. 1994. Inheritance of resistance to *Heterodera glycines* race 3 in soybean accessions. *Plant Disease*, 78: 898-900.
- RAO-ARELLI, A.P. & S.C. ANAND. 1988. Genetic relationships among soybean plant introduction for resistance to race 3 of soybean cyst nematode. *Crop Science*, 28: 650-652.
- RAO-ARELLI, A.P., S.C. ANAND & J.A. WRATHER, J. A. 1992a. Soybean resistance to soybean cyst nematode race 3 is conditioned by an additional dominant gene. *Crop Science*, 32: 862-864.
- RAO-ARELLI, A.P., J.A. WRATHER & S.C. ANAND. 1992b. Genetic diversity among isolates of *Heterodera glycines* and sources of resistance in soybeans. *Plant Disease*, 76: 894-896.
- RIGGS, R.D., D.P. SCHMITT. 1988. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 20: 392-395.
- RIGGS, R.D. & D.P. SCHMITT. 1989. Soybean cyst nematode. In: SINCLAIR, J. B. & P.A. BACKMAN (ed). *Compendium of Soybean Diseases*. 3. ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, p. 65-67.
- RIGGS, R.D., D.A. SLACK & M.L. HAMBLIN. 1968. New biotype of soybean cyst nematode. *Arkansas Farm Research*, 17: 11.
- RIGGS, R.D., M.L. HAMBLIN & L. RAKES. 1977.

- Development of *Heterodera glycines* pathotypes as affected by soybean cultivars. *Journal of Nematology*, 9: 312-318.
- RIGGS, R.D., M.L. HAMBLEEN & D.A. SLACK. 1981. Intra-species variation in reaction to hosts in *Heterodera glycines* populations. *Journal of Nematology*, 13: 171-179.
- ROSS, J. P. Physiological strains of *Heterodera glycines*. 1962. *Plant Disease Reporter*, 46: 766-769.
- ROSS, J. P. & C.A. BRIM. 1957. Resistance of soybeans to the soybean cyst nematode as determined by a double-row method. *Plant Disease Reporter*, 41: 923-924.
- SCHMITT, R.D. & K.R. BARKER. 1985. Plant-parasitic nematodes on soybean in North Carolina. The North Carolina Agricultural Extension Service, 8 p.
- SCHMITT, R.D. & G.R. NOEL. 1984. Nematodes parasites of soybean. In: NICKLE, W.R. (ed). *Plant and Insect Nematodes*. Marcel Dekker, New York, p. 13-43.
- SCHMITT, R.D. & R.D. RIGGS. 1989. Populations dynamics of *Heterodera glycines* in the southeastern United States. In: *Variability and Population Dynamics of Root-knot and Cyst Nematodes in the Southern Region of the United States*. The Texas A & M University-System, p.1-7. (Southern Cooperative Series Bulletin, 336).
- SCHUSTER, I., R.V. ABDELNOOR, S.R.R. MARIN, V.P. CARVALHO, R.A.S. KIIHL, J.F.V. SILVA, C.S. SEDIYAMA, E.G. BARROS & M.A. MOREIRA. 2001. Identification of a new major QTL associated with resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). *Theoretical Applied Genetics*, 102: 91-96.
- SILVA, M.F., I. SHUSTER, J.F.V. SILVA, A. FERREIRA, E.G. BARROS & M.A. MOREIRA. 2007. Validation of microsatellite markers for assisted selection of soybean resistance to cyst nematode races 3 and 14. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42: 1143-1150.
- SKORUPSKA, H. T., I.S. CHOI, A.P. RAO-ARELLI & W.C. BRIDGES. 1994. Resistance to soybean cyst nematode and molecular polymorphism in various sources of Peking soybean. *Euphytica*, 75: 63-70.
- TAYLOR, A.L. 1971. *Introductions to research on plant nematology*. FAO, Rome, 133 p.
- THOMAS, J.D., C.E. CAVINESS, R.D. RIGGS & E.E. HARTWIG. 1975. Inheritance of reaction to race 4 of soybean cyst nematode. *Crop Science*, 15: 208-210.
- VIERLING, R.A., J. FAGHIHI, V.R. FERRIS & J.M. FERRIS. 1996. Association of RFLP markers with loci conferring broad-based resistance to the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). *Theoretical Applied Genetics*, 92: 83-86.
- WEBB, D.M., B.M. BALTAZAR, A.P. RAO-ARELLI, J. SCUPP, K. CLAYTON, P. KEIM & W.D. BEAVIS. 1995. Genetic mapping of soybean cyst nematode race-3 resistance loci in the soybean PI 347654. *Theoretical Applied Genetic*, 91: 574-581.
- WEISEMANN, J.M., B.F. MATTHEWS & T.E. DEVINE. 1992. Molecular markers located proximal to the soybean cyst nematode resistance gene, *Rh_{g4}*. *Theoretical Applied Genetics*, 85: 136-138.
- WINSTEAD, N.N., C.B. SKOTLAND & J.N. SASSER. 1955. Soybean cyst nematodes in North Carolina. *Plant Disease Reporter*, 39: 9-11.
- YOUNG, L.D. 1982. Reproduction of Tennessee soybean cyst nematode population on cultivars resistant to race 4. *Plant Disease*, 66: 251-252.
- YOUNG, L.D. 1990. Soybean germplasm evaluated for resistance to races 3, 5, and 14 of soybean cyst nematode. *Crop Science*, 30: 735-736.
- YOUNG, L.D. & T.C. KILLEN. 1994. Genetic relationships among introductions for resistance to soybean cyst nematode race 5. *Crop Science*, 34: 936-939.
- YUE, P., D.A. SLEPER & A.P. RAO-ARELLI. 1998. Genetic analysis of soybean cyst nematode resistance in PI 438489B. *Soybean Genetics Newsletter*, 25: 155-156.
- YUE, P., D.A. SLEPER & A.P. RAO-ARELLI. 2000. Genetic analysis of resistance to soybean cyst nematode in PI 438489B. *Euphytica*, 116: 181-186.
- YUE, P., P.R. RAO-ARELLI & D.A. SLEPER. 2001a. Molecular characterization of resistance to *Heterodera glycines* in soybean PI 438489B. *Theoretical Applied Genetics*, 102: 921-928.
- YUE, P., D.A. SLEPER & A.P. RAO-ARELLI. 2001b. Mapping resistance to multiples races of *Heterodera glycines* in soybean PI 89772. *Crop Science*, 41: 1589-1595.

Estudo da Influência do Potássio e do Cálcio na Reprodução do Nematóide do Cisto da Soja

Jadir B. Pinheiro^{1*}, Edson A. Pozza², Adélia A.A. Pozza³, Alécio S. Moreira² & Vicente P. Campos²

¹Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970 Brasília (DF) Brasil.

²Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, C. Postal 3037, 37200-000 Lavras (MG) Brasil

³Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, C. Postal 3037, 37200-000 Lavras (MG) Brasil

*Autor para correspondência: jadir@cnph.embrapa.br

Recebido para publicação em 08 / 02 / 2008. Aceito em 21 / 06 / 2008

Editado por Guilherme Asmus

Resumo - Pinheiro, J.B., E. A. Pozza, A.A.A. Pozza, A.S. Moreira & V.P. Campos. 2009. Estudo da influência do potássio e do cálcio na reprodução do nematóide do cisto da soja.

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em casa de vegetação, a reprodução do nematóide do cisto (*Heterodera glycines*) em plantas de soja, cultivadas em substrato contendo diferentes doses de potássio (K) e cálcio (Ca). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 25 tratamentos e seis repetições. Foi utilizado esquema fatorial 5 x 5, com cinco níveis de K (0, 150, 300, 450 e 600 mg / dm³) e cinco níveis de Ca (0, 75, 150, 225 e 300 mg / dm³). Dezoito dias após a semeadura, as plantas foram inoculadas com 4.000 ovos de *H. glycines*, raça 3. A partir dos 30 dias após a inoculação, foram realizadas semanalmente, avaliações da altura e de diâmetro do caule das plantas, totalizando-se três avaliações. Setenta dias após a inoculação, as seguintes variáveis foram analisadas: área foliar, números de ovos / vaso, cistos / vaso, ovos / cisto, fêmeas e cistos / sistema radicular, ovos / fêmea e o fator de reprodução do nematóide. Também foram determinadas as massas da matéria seca da parte aérea (caule + folhas) e das raízes. Os teores de K e Ca na matéria seca da parte aérea também foram analisados. Houve interação significativa somente entre as doses de K e Ca para número de ovos por fêmea. As doses de K influenciaram, significativamente, os números de cistos / vaso, ovos / cisto, ovos / vaso, fêmeas e cistos / sistema radicular e o fator de reprodução. As doses isoladas de Ca não influenciaram significativamente nenhuma variável nematológica analisada. A interação K-Ca afetou todas as variáveis agrônômicas analisadas. Observou-se interação K-Ca significativa para os teores de Ca na matéria seca da parte aérea. Os teores de K foram influenciados somente pelas doses de K adicionadas ao solo.

Palavras chaves: cistos, *Heterodera glycines*, fator de reprodução, área foliar.

Summary - Pinheiro, J.B., E.A. Pozza., A.A.A. Pozza., A.S. Moreira & V.P. Campos. 2009. Influence of potassium and calcium on the soybean cyst nematode reproduction.

The objective of this work was to evaluate the reproduction of the soybean cyst nematode (SCN) in soybean plants in substract with different potassium (K) and calcium (Ca) doses. The experiment was conducted in a completely randomized block design, with 25 treatments and six replicates. A factorial scheme (5 x 5) was used with five K doses (0; 150; 300; 450; and 600 mg / dm³) and five Ca doses (0; 75; 150; 225; and 300 mg / dm³). Eighteen days after sowing, plants were inoculated with 4,000 *H. glycines* race 3 eggs. Thirty days after inoculation a total of three weekly evaluations were performed measuring plant height and stem diameter. Seventy days after inoculation, the following variables were analyzed: measurement of leaf blade, numbers of eggs / pot, cysts / pot, eggs / cyst, females and cysts / root system, eggs / female and the reproduction factor of *H. glycines*. Root and shoot dry matter were weighed. Then, K and Ca shoot contents of each sample was obtained. There was a significant interaction between K and Ca doses only for number of eggs / female. The K doses significantly influenced the numbers of cysts / pot, eggs / cyst, eggs / pot, females and cysts /

root system and reproduction factor. The Ca doses did not influence significantly the nematologic variables analyzed. The K-Ca interaction affected all crop-related variables analyzed. A significant K-Ca interaction was observed for Ca contents in shoot dry matter. The K contents were only influenced by potassium doses amended to the soil.

Keywords: cysts, *Heterodera glycines*, reproduction factor, leaf area.

Introdução

O nematoide de cisto da soja (NCS) (*Heterodera glycines* Ichinohe, 1952) é reconhecido como um dos principais problemas fitossanitários da cultura em diversos países produtores, como os Estados Unidos e o Brasil. O patógeno foi detectado no Brasil, pela primeira vez na safra 1991 / 92, em Minas Gerais (Lima *et al.*, 1992), Mato Grosso (Lordello *et al.*, 1992) e Mato Grosso do Sul (Monteiro & Morais, 1992). Desde então, vem sendo disseminado, rapidamente por todas as regiões produtoras de soja do país. Atualmente está presente em dez Estados (MG, MS, MT, GO, SP, PR, RS, BA, TO e MA), infestando área superior a dois milhões de hectares (Embrapa, 2006).

Embora as medidas mais comumente adotadas para o controle do NCS sejam a rotação de culturas com espécies vegetais não hospedeiras e a utilização de cultivares de soja resistentes, o seu manejo é mais eficaz e duradouro quando são integradas várias estratégias. Assim, devem ser sempre buscadas alternativas de manejo do solo e da cultura, como por exemplo a utilização de uma adubação mais equilibrada, que resultem em melhoria na convivência com a praga. Quando os elementos minerais requeridos são fornecidos de forma adequada, a planta normalmente apresenta maior capacidade de reação às enfermidades. Ao contrário, o excesso ou a escassez destes elementos pode tornar a planta mais predisposta à ação de patógenos. O desequilíbrio nutricional pode ainda reduzir a resistência do hospedeiro, pelo fato de influenciar o vigor e as reações de defesa da planta (Bedendo, 1995).

Embora sejam escassos os estudos sobre como os nutrientes minerais afetam as reações de defesa de plantas a patógenos, sabe-se que o K aumenta a espessura da parede celular em células da epiderme, promove rigidez da estrutura dos tecidos e também contribui para uma rápida recuperação dos tecidos injuriados (Huber & Arny, 1985; Marschner, 1995). Já

o Ca tem papel crucial na divisão e no desenvolvimento celular, na estrutura da parede celular e na formação da lamela média (Huber, 2002). Assim, este trabalho teve como objetivo comparar a reprodução do NCS em plantas de soja, suplementadas com diferentes doses de Ca e K.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia, na Universidade Federal de Lavras, em Lavras (MG) (altitude de 918 m, latitude Sul de 21°14' e longitude Oeste 45°00'), no período de fevereiro a abril de 2006. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 25 tratamentos e seis repetições. Cada vaso de argila com capacidade para 3 kg, com uma planta de soja, constituiu a unidade experimental. Foi utilizado o esquema fatorial 5 x 5, com cinco doses de K (0, 150, 300, 450 e 600 mg / dm³) e cinco doses de Ca (0, 75, 150, 225 e 300 mg / dm³).

O substrato utilizado nos vasos foi composto por mistura de solo do tipo Latossolo Vermelho Distroférico (LVdf) e areia na proporção de 1:2, tratada previamente com brometo de metila (150 cm³ / m³ de substrato) por quatro dias. Uma quantidade de mistura suficiente para encher seis vasos foi colocada em sacos plásticos com capacidade para 18 kg e recebeu doses de K e de Ca correspondentes a 0, 150, 300, 450 e 600 mg / dm³ e 0, 75, 150, 225 e 300 mg / dm³, de acordo com o tratamento. Após a adição dos fertilizantes, a mistura foi homogeneizada e transferida para os vasos.

Para a obtenção do inóculo de *H. glycines*, uma população do nematoide pertencente à raça 3 foi multiplicada durante 30 dias em casa de vegetação, em soja suscetível ('MG/BR 46 Conquista'). Decorrido este período, as plantas de soja foram cuidadosamente retiradas dos vasos e tiveram seus sistemas radiculares lavados sob jatos fortes de água,

em peneira de 0,85 mm sobreposta à outra de 0,18 mm, para a remoção das fêmeas e cistos. Para se obter os ovos a serem utilizados como inóculo, as fêmeas e cistos foram esmagados com o auxílio do fundo de béquer de vidro, na própria peneira de 0,18 mm, desta feita acoplada sobre peneira de 0,025 mm. Com o objetivo de eliminar os detritos de matéria orgânica e, desse modo, facilitar a contagem, os ovos foram recolhidos da peneira de 0,025 mm, em solução de sacarose (454 g de açúcar por litro de água), e centrifugados a 2.000 rpm por 1 minuto, como proposto por Dias *et al.* (1999). Ao final da centrifugação, o sobrenadante foi recolhido em peneira de 0,025 mm e lavou-se o excesso de açúcar. Em seguida, os ovos foram transferidos, em suspensão aquosa, para béquer com capacidade para 500 cm³ e procedeu à contagem dos mesmos, com o auxílio de microscópio óptico e câmara de Peters. A suspensão foi, então, padronizada para conter 400 ovos / ml.

Em cada vaso, foram semeadas quatro sementes de soja 'MG/BR-46 Conquista' e, após a emergência das plântulas, realizou-se o desbaste deixando apenas uma planta por vaso. Aos 18 dias após a semeadura, cada planta foi inoculada com 10 ml da suspensão de ovos. Estes foram distribuídos, com o auxílio de pipeta graduada, em três orifícios abertos ao lado do colo da planta, a uma profundidade de 2 cm.

A partir dos 30 dias após a inoculação, foram determinados semanalmente com o auxílio de paquímetro, a altura e o diâmetro do caule de cada planta. Ao todo, foram realizadas três avaliações. A altura da planta foi medida, considerando-se à distância entre o colo da planta e o ponto de inserção da folha mais alta. A área foliar de cada planta foi determinada ao final do experimento, por análise não destrutiva, com medidor *laser* de área foliar (Laser Area Meter CI 203 – CID Incorp). Neste período avaliou-se também a massa seca da parte aérea e o estado nutricional das plantas. Para isto a parte aérea (caule + folhas) e as raízes foram lavadas em água destilada e acondicionadas, separadamente, em sacos de papel. Estes foram mantidos em estufa, a 60 °C, até atingirem massa constante. Após ser pesada, a parte aérea foi utilizada para determinação dos teores de K e Ca na planta. Estas análises foram realizadas seguindo a metodologia descrita em Malavolta *et al.* (1997). Assim,

as amostras foram submetidas à digestão via seca e determinaram-se as concentrações dos dois elementos por espectrofotometria de absorção atômica e de chama, respectivamente.

Para avaliação do número de fêmeas e cistos no sistema radicular e ovos por fêmea, o sistema radicular de cada uma das plantas foi lavado sob jato forte de água, em peneira de 0,18 mm, para a liberação das fêmeas e cistos. Após a lavagem, cada sistema radicular foi acondicionado em saco de papel e levado à estufa a 60 °C, até atingir massa constante. Neste ponto, as raízes foram pesadas para se determinar a massa de matéria seca.

As fêmeas e cistos recuperados de cada sistema radicular foram quantificados, com o auxílio de placa de contagem quadriculada e microscópio estereoscópico. Uma vez contados, foram rompidos com o auxílio do fundo de béquer de vidro, como proposto por Dias *et al.* (1999), para a liberação dos ovos. Estes foram quantificados, com o auxílio de microscópio óptico e câmara de Peters. O número de ovos / fêmea ou cisto foi determinado pela relação entre o número total de ovos / por sistema radicular e o número total de fêmeas ou cistos / sistema radicular.

Após a retirada das plantas de soja, o solo de cada vaso foi homogeneizado e coletou-se alíquota de 100 cm³, que foi utilizada para a extração de cistos, como segue: inicialmente o solo da alíquota foi transferido para béquer contendo de 1 a 2 litros de água. Desmancharam-se, manualmente, os torrões para liberar os cistos e, após homogeneização, a suspensão foi deixada em repouso por 15 segundos. Então, foi vertida em peneira de 0,85 mm sobreposta a outra de 0,18 mm. Este procedimento foi repetido três vezes. Neste ponto, o resíduo (detritos de matéria orgânica e cistos) da peneira de 0,18 mm foi transferido para béquer. Com o auxílio de câmara de contagem quadriculada e de microscópio estereoscópico, procedeu-se à contagem do número de cistos presentes na suspensão. A partir da quantificação do número de cistos por 100 cm³ de solo foi possível estimar o número total de cistos por vaso com 3 kg de solo. A obtenção de ovos dos cistos foi realizada, adotando-se os mesmos procedimentos descritos para a extração de ovos a

partir de fêmeas (Dias *et al.*, 1999).

O fator de reprodução (FR) do NCS nas plantas de soja submetidas aos diferentes tratamentos foi obtido pela relação entre as populações final (Pf) e inicial (Pi), como proposto por Seinhorst (1967). De acordo com este autor, plantas com $FR < 1$ são consideradas más hospedeiras do nematoide, com $FR \geq 1$ boas hospedeiras, e com $FR = 0$ não hospedeiras. A população final de ovos em cada planta foi obtida pela soma dos totais de ovos recuperados nas raízes (fêmeas e cistos) e no solo (cistos).

A análise de variância e as regressões foram realizadas com o auxílio do programa Sisvar^a - versão 4,6 (Build 6.1). As variáveis quantitativas foram submetidas à análise de regressão polinomial e em seguida, plotaram-se as curvas e as superfícies de resposta. Os pontos de máximo e ou mínimo foram obtidos a partir da derivada primeira de cada equação, as quais foram igualadas a zero.

Resultados e Discussão

As condições climáticas na casa de vegetação durante a condução do experimento foram favoráveis ao desenvolvimento do NCS. A umidade relativa e temperatura média diária, registradas durante todo experimento, foram de 57,2 % e 27,5 °C, respectivamente. As temperaturas máxima e mínima média diárias ficaram em 35,6 °C e 19,3 °C, respectivamente.

Não houve interação significativa K-Ca para os números de cistos de *H. glycines* / vaso, ovos / cisto, fêmeas e cistos / sistema radicular, ovos/vaso e fator de reprodução. Também não se observou efeito isolado das doses de Ca para estas variáveis. Porém, existem relatos que a calagem superestimada em solos do cerrado brasileiro aumentou a população de cistos consideravelmente, persistindo alta mesmo após o cultivo de um ou dois anos de milho (Garcia & Silva, 1996; Silva *et al.*, 1997). Em outros estudos, observaram-se resultados que confirmam essa tendência (Francl, 1993; Anand *et al.*, 1995; Pereira *et al.*, 1997). Estes autores discutem que provavelmente o aumento dos teores de Ca no solo, e consequentemente o pH, condicionam dois fatores desfavoráveis à soja cultivada nestas condições: a redução na população de fungos antagonistas de *H.*

glycines, diminuindo a taxa de controle natural, e a imobilização de micronutrientes no solo, com redução da tolerância das plantas e aumento dos danos provocados por este nematoide.

O número de cistos de *H. glycines* / vaso e o número de ovos / cisto produzidos no período considerado (Figuras 1A e 1B) foram significativamente influenciados pelas doses de K. Houve decréscimo linear de acordo com o aumento das doses de K. Na menor e na maior dose de K, observou-se maior número de fêmeas e cistos por sistema radicular (Figura 1C). Com o incremento das doses de K no solo, verificou-se um efeito quadrático significativo sobre a população de fêmeas e cistos por sistema radicular. Entre as doses zero e 320 mg / dm³, houve uma redução de 48,45 % na população de cistos. Estes resultados permitiram observar que doses de K elevadas aumentaram a população de fêmeas e cistos do NCS por sistema radicular. Assim, tanto a deficiência desse nutriente quanto o seu excesso favoreceram altas populações deste nematoide.

O aumento do número de fêmeas e cistos por sistema radicular a partir de doses intermediárias de K, provavelmente podem estar relacionados ao aumento da matéria seca das raízes (Figura 3 D), observado a partir de valores próximos a esta dose, resultando em aumento da população de fêmeas e cistos de *H. glycines*, por oferecer mais sítios de infecção. Wrather *et al.* (1992) afirmam que o crescimento das raízes de soja é estimulado quando vários nutrientes são acrescentados ao solo e o nível populacional de *H. glycines* aumenta porque mais sítios de alimentação estão disponíveis. Além disso, o aumento na população de cistos provavelmente ocorreu em função de altas doses de K ocasionar redução na eclosão dos J₂ e, consequentemente, maior acúmulo de ovos e cistos. Também, altas doses de K podem ter dificultado a atuação de inimigos naturais do nematoide.

Resultados semelhantes foram obtidos por Rocha (1998), que estudando o efeito da calagem e da adubação potássica nas dosagens de 0, 30, 60 e 120 kg / ha de K₂O sobre a população do NCS observou, nos estágios de enchimento de vagens e no final do ciclo da cultura, redução acentuada no número de cistos viáveis, à medida que foram aplicadas doses crescentes de K₂O. A mesma autora

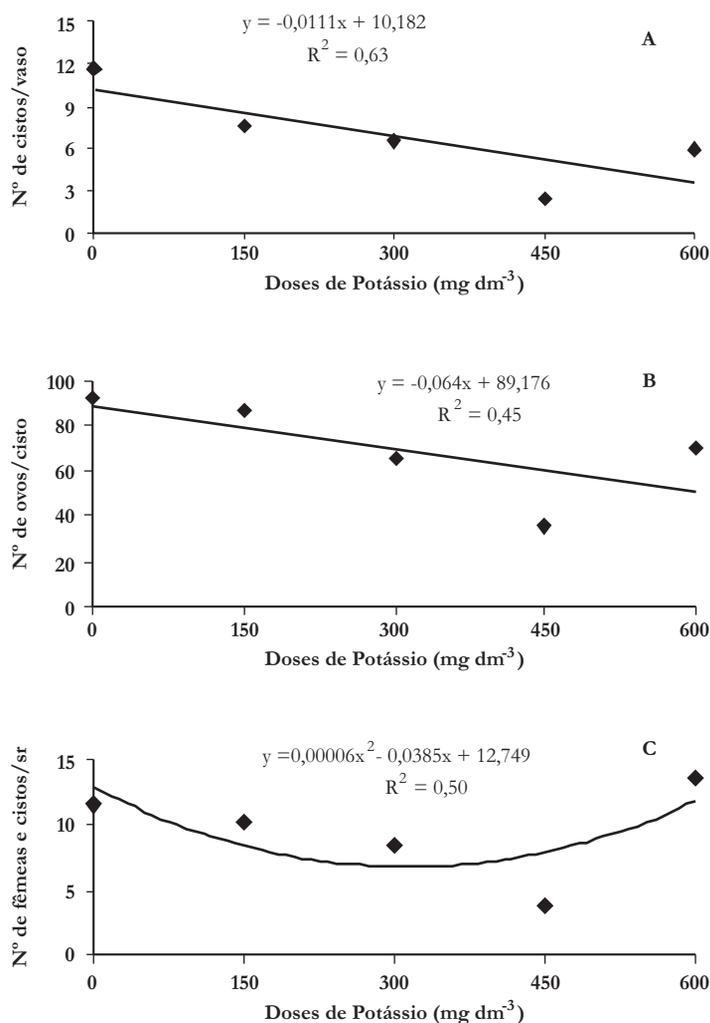


Figura 1 - Reprodução do nematóide do cisto da soja (*Heterodera glycines*) em função de doses de potássio. A = nº. de cisto / vaso; B = nº. de ovos / cisto e C = nº. de fêmeas e cistos / sistema radicular.

observou redução no número de fêmeas à medida que doses de K_2O foram aumentadas, até a dose de 106,8 kg de K_2O / hectare. A partir desta dose, o número estimado de fêmeas nas raízes aumentou. Estes resultados confirmam as observações de Shannon *et al.* (1977) de que manter um balanço nutricional adequado é extremamente importante, especialmente em solos onde *H. glycines* está presente. Luedders *et al.* (1979) também obtiveram redução do número de cistos de *H. glycines* em relação à testemunha, com 33,33 % e 7,84 % de redução, em função de doses crescentes de K (50, 100, 200 e 400 mg), aplicadas na forma de cloreto e de sulfato de potássio respectivamente, em vasos com capacidade para 0,355 kg de solo.

Embora o ponto de mínimo obtido no modelo tenha sido próximo da dose de 320 mg / dm^3 de K para o número de fêmeas e cistos / sistema radicular e a menor quantidade de cistos / vaso e de ovos / cisto reduzir linearmente com o aumento das doses de K, os menores valores observados foram verificados na dose de 450 mg / dm^3 , com 48,55, 49,55 e 32,30 % de redução, respectivamente (Figura 1).

Verificou-se redução no número de ovos por vaso de acordo com o incremento das doses de K até a dose de 317,45 mg / dm^3 , com 44,48 % de redução (Figura 2A).

Houve interação significativa K-Ca para número de ovos por fêmea. Quando se adicionaram 300 e

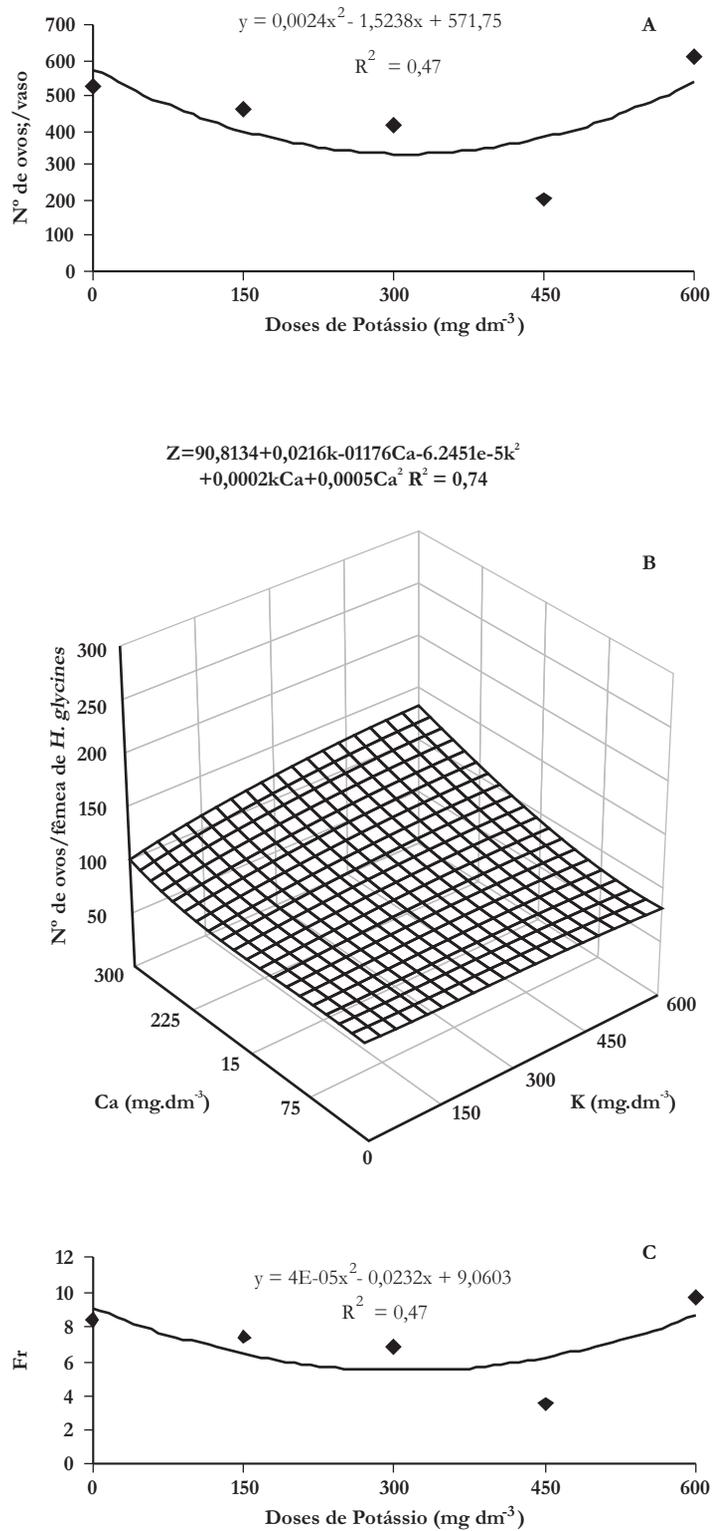


Figura 2 - Reprodução do nematoide do cisto da soja, em função de doses de potássio e cálcio. A= nº. de ovos / vaso; B= nº. de ovos / fêmea em função da interação cálcio e potássio e C= Fator de reprodução (FR).

450 mg / dm³ de Ca e K ao solo respectivamente, houve aumento do número de ovos por fêmea (Figura 2B).

O aumento das doses de K até 313,51 mg / dm³ reduziu significativamente o FR de *H. glycines* (Figura 2C). A cultivar 'MG/BR 46 Conquista' foi considerada boa hospedeira quando qualquer dose de K foi adicionada ao solo, pois o FR observado no ponto de mínimo foi de 5,42. Este fato pode ser explicado pela alta susceptibilidade da cultivar ao NCS. Outra hipótese é que, com o aumento da matéria seca das raízes (Figura 3D), de acordo com o incremento das doses de K a partir de doses próximas de 300 mg / dm³, houve maior disponibilidade dos sítios de penetração, aumentando a população final do NCS e consequentemente o FR

Em experimentos envolvendo aumento no nível de adubação potássica (0, 50, 100, 200 e 400 mg / vaso) para a soja, foi observado que o elemento K reduz a reprodução de *H. glycines* (Luedders *et al.*, 1979). Assim, a adubação suplementar com K, em níveis adequados para a cultura da soja, aumentou o nível de tolerância a altas populações de *H. glycines*. Este aumento da tolerância pode ter sido devido ao aumento na resistência à penetração e à infecção do sistema radicular. Nos trabalhos realizados por Huber & Arny (1985) e Marschner (1995), o K aumenta a espessura da parede celular em células da epiderme, promovendo rigidez da estrutura dos tecidos e favorecendo a rápida recuperação dos tecidos injuriados.

Entretanto, segundo Malavolta (2006), o excesso de K provoca desequilíbrio nas relações K / Ca e K / Mg; menor formação da lamela média da parede celular por falta de Ca; quebra do funcionamento normal da membrana plasmática; vazamento de solutos e distúrbios na formação de proteínas e no uso da energia do ATP para sínteses em geral. Contudo, as informações disponíveis sobre a correlação entre nutrientes aplicados ao solo, crescimento da planta e a reprodução de *H. glycines* são escassas.

Verificou-se efeito negativo da interação K-Ca para todas as variáveis agrônomicas analisadas, ou seja, área foliar (AF), diâmetro de caule (DC), comprimento de plantas (CP), matéria seca das raízes (MSR) e a

matéria seca da parte aérea (MSPA) (Figura 3) das plantas de soja infectadas com *H. glycines*, com respostas semelhantes para todas as variáveis. Houve tendência de redução destas variáveis até próximo a doses intermediárias de K, com aumento a partir destas, nas doses de 75, 150, 225 e 300 mg / dm³ de Ca. Contrariamente, enquanto houve aumento das doses de Ca, verificou-se aumento até próximo a doses intermediárias deste cátion, com redução a partir destas doses nas doses de 0, 150, 300 e 600 mg / dm³ de K.

A redução e o aumento dos valores destas variáveis agrônomicas até doses intermediárias de K e Ca respectivamente, podem ser explicados pelo fato de ocorrer o antagonismo fisiológico entre estes dois cátions, pois o K, em doses excessivas, compete com o Ca pelos mesmos sítios de absorção das estruturas orgânicas (Marschner, 1995). Tais estruturas funcionam como moléculas transportadoras no processo de absorção ativa, explicando o efeito antagônico do incremento das doses de K nas características agrônomicas. Além disso, o efeito do K nestas características pode ser explicado pelo aumento da pressão osmótica no meio, provocada pelas altas concentrações de KNO₃ presentes nos tratamentos com as maiores doses desse elemento. Também, baixas concentrações de Ca²⁺ estimulam a translocação de íons, provavelmente devido ao seu efeito estabilizador da membrana celular, com estímulo do metabolismo respiratório e o transporte de elétrons (Bergmann, 1992). Porém, altas concentrações de íons Ca²⁺ inibem a translocação de outros cátions, por possuir efeito antagônico aos mesmos (Marschner, 1995).

O NCS, em razão das alterações morfofisiológicas que provoca nas raízes das plantas, provavelmente também é responsável pela redução dos valores das características avaliadas até doses intermediárias de K e a partir de doses intermediárias de Ca. Isso porque o comportamento na absorção destes elementos pelas raízes das plantas pode ser afetado pelo hábito alimentar do nematóide, que, segundo Wrather *et al.* (1984) e Tihohod & Santos (1993), altera as funções das raízes e reduz a absorção e o transporte de nutrientes. Alfredo (1999) observou maior altura de planta, número de vagens, massa de semente, número de nódulos, massa de matéria seca da parte aérea e da

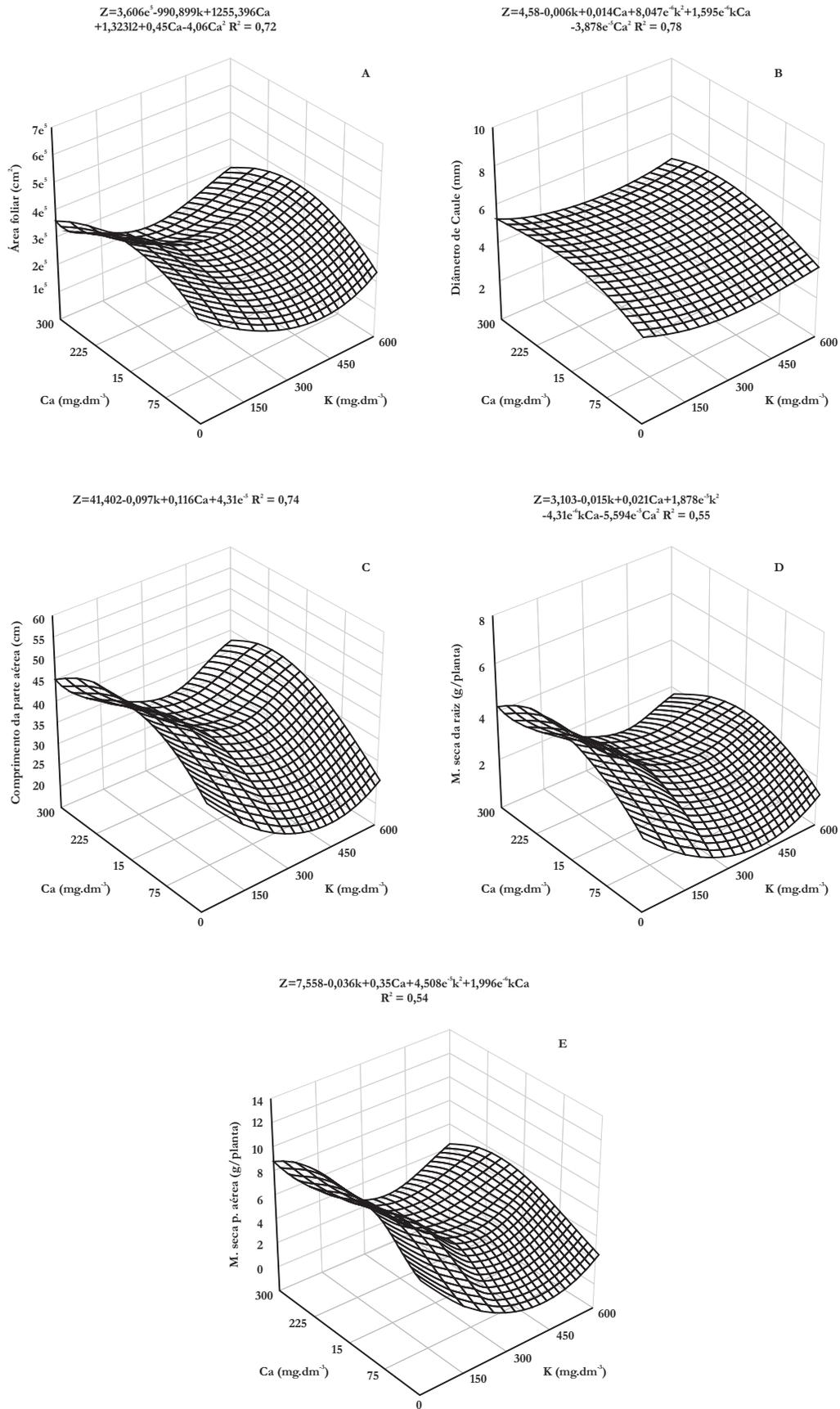


Figura 3 - Características agrônômicas de plantas de soja inoculadas com *Heterodera glycines*, em função de doses de potássio e cálcio. A = área foliar; B = diâmetro de caule; C = comprimento de plantas; D = matéria seca das raízes e E = matéria seca da parte aérea

raiz, na ausência do NCS e, à medida que os níveis populacionais deste nematóide foram elevados, redução dos valores destas características. Tais dados dão suporte ao trabalho de Noel (1995), que considerou o NCS como um dos parasitos mais destrutivos da soja e que, segundo Agrios (2005), em campos muito infestados, pode causar a completa destruição da cultura.

Em geral, plantas de soja não apresentam aumentos no crescimento radicular em resposta à adubação potássica até determinados níveis, o que pode ser consequência da elevada eficiência da translocação do K absorvido para a parte aérea (Rosseto *et al.*, 1995). De acordo com Sfredo *et al.* (1994), a deficiência de K pode reduzir a taxa de fotossíntese e aumentar a taxa de respiração. A combinação desses dois fatores, aliados à penetração e infecção por *H. glycines*, resulta em decréscimo no potencial das reservas de carboidratos na planta, podendo causar também menor acúmulo de matéria seca.

Observou-se interação negativa entre K e Ca para os teores de Ca na matéria seca da parte aérea (MSPA) (Figura 4), com evidências assim da competição entre esses dois cátions pelo mesmo sítio de absorção das raízes.

Qualquer prática de manejo que promova alteração na concentração dos cátions disponíveis no solo pode, portanto, influenciar na absorção de K, Ca e Mg, além de outros cátions pelas raízes das plantas. A calagem, necessária aos solos ácidos, promove o aumento nas concentrações de Ca e Mg do solo relativamente à do K, reduzindo sua concentração em solução e, muito embora mantenha o nível de K trocável e até aumente sua capacidade tampão, pode contudo reduzir a absorção de K pelas raízes e provocar sua deficiência nos tecidos (Goedert *et al.*, 1975). O K é muito relacionado com a absorção de Ca, cujos teores na matéria seca em geral diminuem quando aumenta a dose de K aplicada ou teor no solo deste elemento. Porém, o maior crescimento das plantas de soja em resposta ao K, provavelmente faz com que também

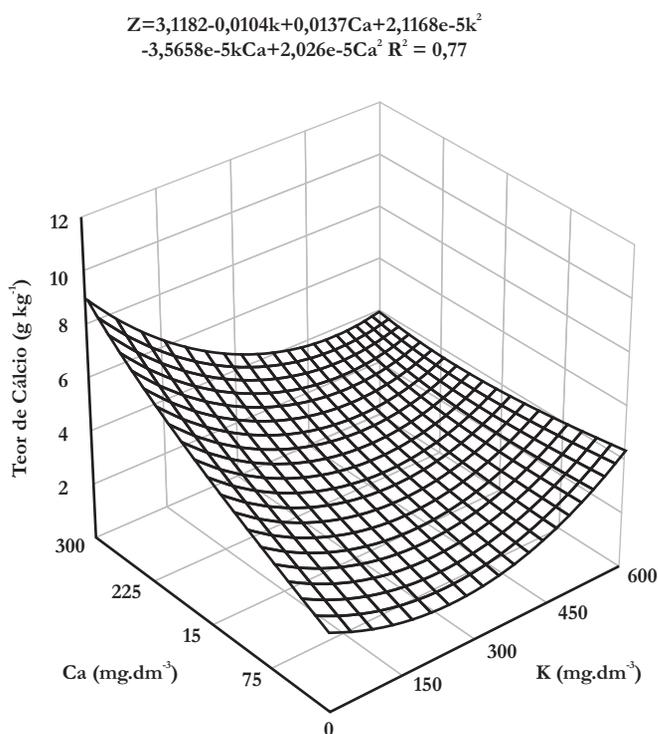


Figura 4 - Teor de cálcio na parte aérea de plantas de soja inoculadas com *Heterodera glycines*, em função das doses de potássio e cálcio no solo.

as quantidades de Ca absorvidas sejam elevadas.

No que tange ao K, o teor aumentou de acordo com o incremento das doses deste nutriente até a dose de 550 mg / dm³ (Figura 5). Resultados semelhantes foram obtidos por Rocha (1998), estudando o efeito da adubação com K (0, 50 e 100 kg / ha de K₂O) em campo, sobre a população de *H. glycines*. Esta autora observou aumento linear dos teores de K na matéria seca da parte aérea, à medida que foram aumentadas as doses de K₂O. Isto pode ser explicado pelo aumento no fornecimento deste nutriente às plantas. Estes resultados corroboram os obtidos por Sfredo *et al.* (1994), que observaram teores crescentes de K no tecido foliar de soja devido ao aumento das doses de cloreto de potássio aplicadas ao solo.

Portanto, não houve interação significativa entre as doses de K e Ca para os números de cistos de *H. glycines* / vaso, ovos / cisto, fêmeas e cistos / sistema radicular, ovos / vaso e FR e nenhum efeito isolado das doses de Ca para estas variáveis. Observou-se interação significativa entre as doses de K e Ca para número de ovos por fêmea de *H. glycines*. As doses de K influenciaram significativamente as variáveis nematológicas, números de cistos / vaso, ovos / cisto, ovos / vaso, fêmeas e cistos / sistema radicular e FR. Houve decréscimo linear significativo para número de cistos / vaso e de ovos / cisto, de acordo com o incremento das doses de K no solo. O número de fêmeas e cistos / sistema radicular, ovos / vaso e FR apresentaram resposta quadrática significativa de acordo com o aumento das doses de K no solo. A

interação K-Ca afetou todas as variáveis agrônômicas analisadas. Houve interação K-Ca significativa para os teores de Ca na matéria seca da parte aérea de plantas de soja inoculadas com *H. glycines*.

Literatura Citada

- ANAND, S. C., K.W. MATSON & S.B. SHARMA. 1995. Effect of soil temperature and pH on resistance of soybean to *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 27 (4): 478-482.
- AGRIOS, G.N. Environmental effects on the development of infectious plant disease. In: AGRIOS, G.N. (ed). *Plant Pathology*. 5. ed. Academic Press, New York, p. 249-263.
- ALFREDO, M.M. 1999. Teores de nutrientes e características agrônômicas da soja influenciados por nematóide de cisto (*Heterodera glycines* Ichinohe), *Bradyrhizobium japonicum* e nitrogênio, e danos causados por percevejos. (Tese de Doutorado). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 122 p.
- BEDENDO, I.P. 1995. Ambiente e doença. In: BERGAMIN FILHO, A., H. KIMATI & L. AMORIM. (ed). *Manual de Fitopatologia*. 2ª. ed. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, p. 331-341.
- BERGMANN, W. 1992. *Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis*. G. Fischer, New York, 741 p.
- DIAS, W.P., J.F.V. SILVA., A.L. WAIN. & J.E. PEREIRA. 1999. Distribuição de raças de *Heterodera glycines* no Brasil. In: Sociedade Brasileira de Nematologia. (ed.). *O Nematóide de Cisto da Soja: a Experiência Brasileira*. Artsingner Editores, Jaboticabal, p. 95-103.
- EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Soja. 2006. *Tecnologias de Produção de Soja – Região Central do Brasil 2007*. Embrapa Soja (Londrina PR), Embrapa Cerrados (Planaltina DF) e Embrapa Agropecuária Oeste (Dourados MS), 225 p.
- FRANCL, L.J. 1993. *Multivariate analysis of selected edaphic*

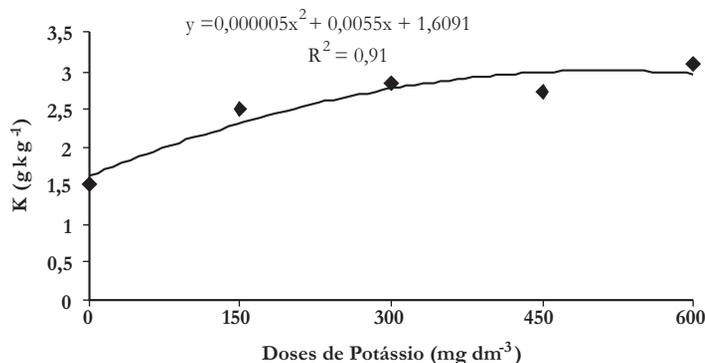


Figura 5 - Teor de potássio na parte aérea de plantas de soja inoculadas com *Heterodera. glycines*, em função de doses crescentes de K aplicadas ao solo.

- and their relationship to *Heterodera glycines* population density. *Journal of Nematology*, 25 (2): 270-276.
- GARCIA, A. & J.F.V. SILVA. 1996. Interação entre a população de cistos de *Heterodera glycines* e o pH do solo. *Fitopatologia Brasileira*, 21 (Suplemento): 420 (Resumo).
- GOEDERT, W.J., R.B. COREY & J.K. SYERS. 1975. The effects on potassium equilibria in soils of Rio Grande do Sul, Brazil. *Soil Science*, 120 (2): 107-111.
- HUBER, D.M. & D.C. ARNY. 1985. Interactions of potassium with plant disease. In: MUNSON, R.D. (ed). *Potassium in Agriculture*. ASA, CSSA, SSA (Madison), p. 467-488.
- HUBER, D.M. 2002. Relationship between mineral nutrition of plants and disease incidence. In: *Relação entre Nutrição de Plantas e Incidência de Doenças. Potafós*, Piracicaba, 08 e 09 / 05 / 2002. *Anais e Vídeo...*, CD-ROM – vídeo 1.
- LIMA, R.D., S. FERRAZ. & J.M. SANTOS. 1992. Ocorrência de *Heterodera* sp., em soja no Triângulo Mineiro. *Nematologia Brasileira*, 16: 101-102.
- LORDELLO, R. D.; R.R.A. LORDELLO. & J.A. QUAGGIO. 1992. Ocorrência do nematóide do cisto da soja (*Heterodera glycines*) no Brasil. *Revista de Agricultura*, 67 (3): 223-225.
- LUEDDERS, V.D., J.G. SHANNON & C.H. BALDWIN JUNIOR. 1979. Influence of rate and source of potassium on soybean cyst nematode reproduction on soybean seedlings. *Plant Disease*, 63 (7): 558-560.
- MALAVOLTA, E., G.G. VITTI & S.A. OLIVEIRA. 1997. *Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações*. 2ª. ed. Potafós, Piracicaba, 319 p.
- MALAVOLTA, E. 2006. *Manual de Nutrição Mineral de Plantas*. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 638 p.
- MARSCHNER, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2ª. ed. Academic Press, London, 889 p.
- MONTEIRO, A. R. & S.R.A.C. MORAIS. 1992. Ocorrência do nematóide de cistos da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. *Nematologia Brasileira*, 16 (1 / 2): 101.
- NIBLACK, T.L. 1992. The race concept. In: RIGGS, E.D. & J.A. WRATHER. (ed). *Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode*. APS, St. Paul, p. 73-86.
- NOEL, G.R. 1995. The soybean cyst nematode. In: LAMBERT, F. & C.H. TAYLOR. (ed). *Cyst Nematodes*. Plenum Press, New York, p. 257-268.
- PEREIRA, J. E., J.F.V. SILVA., A. GARCIA. & A.F. LANTMANN. 1997. Análise multivariada na seleção de fatores químicos do solo e sua relação com a densidade populacional do nematóide de cisto e rendimento da cultura da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XX, Gramado. Resumos, p.61.
- ROCHA, M.R. da. 1998. Efeitos de fatores edáficos sobre populações de *Heterodera glycines* (Ichinohe, 1952) (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 108 p.
- ROSSETO, C.A.V., D.M. FERNANDES., I. ISHIMURA & C.A. ROSOLEM. 1995. Diferentes respostas de cultivares de soja ao potássio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 30 (10): 1225-1231.
- SEINHORST, J. W. 1967. The relationship between population increase and population density in plant parasitic nematodes. I. Definitions of the terms host, host status and resistance. 4. The influence of external conditions on the regulations of population density. *Nematologica*, 13: 429-450.
- SFREDO, G.J., C.M. BORKERT, A.J. CATTELAN & M. HUNGRIA. 1994. Adubação e calagem para soja no Brasil. *Informativo Abrates*, 4 (1): 19-43.
- SHANNON, J.G., C.H. BALDWIN., G.W. COLLIVER & E.E. HARTWIG. 1977. Potash fertilizer helps fight soybean cyst nematode. *Better Crops with Plant Food*, 61: 566-569.
- SILVA, J.F.V., A. GARCIA, J. E. PEREIRA & D. HIROMOTO. 1997. Nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). Embrapa Soja, Londrina, 217 p. (Documentos, 104).
- TIHOHOD, D. & J.M. SANTOS. 1993. *Heterodera glycines*: Novo Nematóide da Soja no Brasil. Detecção e Medidas Preventivas. CEMIP - FUNEP, Jaboticabal, 23 p.
- WRATHER, J.A., S.C. ANAND & V.H. DROPKIN. 1984. Soybean cyst nematode control. *Plant Disease*, 68 (9): 829-833.
- WRATHER, J.A., S.C. ANAND & S.R. KOENNING. 1992. Management by cultural practices. In: RIGGS, R.D. & J.A. WRATHER. (ed). *Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode*. St. APS, St. Paul, p. 125-131.

Relationships Between the Community of Soil Nematodes and the Microbial Biomass in the Root Zone of Citrus*

Vânia M. Freitas¹, Maria L.G. Ramos^{2**}, Juvenil E. Cares^{1**}, Adriana S. Costa² & Shiou Pin Huang¹ (*in memoriam*)

*Part of the dissertation accomplished by the first author to obtain the degree of Master of Science in Plant Pathology by Universidade de Brasília, Brasília (DF), with scholarship and financial support from Capes (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

¹Departamento de Fitopatologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília (UnB), C. Postal 4457, 70904-970 Brasília (DF) Brasil.

³Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB, C. Postal 04055.

**Corresponding authors: lucrecia@unb.br, cares@unb.br

Received for publication on March 25, 2006. Accepted on August 7, 2008

Edited by Claudio Marcelo Oliveira and Regina Carneiro

Summary - Freitas, V.M., M.L.G. Ramos, J.E. Cares, A.S. Costa & S.P. Huang. Relationships between the community of soil nematodes and the microbial biomass in the root zone of citrus.

The nematode community and its relationship with microbial biomass was evaluated in the root zone of citrus in seven equidistant soil cores in a diagonal projection from one plant trunk to the mid point between rows. Soil samples were collected at two soil depths (0 to 10 cm and 10 to 20 cm) in the dry and in the rainy seasons. There was no statistical difference among soil cores with respect to microbial biomass carbon (MBC), microbial biomass nitrogen (MBN), basal respiration (BR) and total soil nitrogen (TN). While BR and TN were higher during the dry season, MBC and MBN were higher during the rainy period. For all the analyses, values were higher in the 0-10 cm layer of the soil profile. Generally, the microbial biomass correlated negatively with plant parasitic nematodes and positively with omnivores and predators. BR and TN correlated negatively with plant parasites and positively with predators, omnivores, bacterial feeders and fungal feeder nematodes. These data indicate that nematodes and microbial biomass are suitable indicators of soil quality.

Key words: community of soil nematodes, microbial biomass, root zone, citrus.

Resumo - Freitas, V.M., M.L.G. Ramos, J.E. Cares, A.S. Costa & S.P. Huang. Relação entre a comunidade de nematóides de solo e a biomassa microbiana na zona radicular de citros.

A comunidade de nematóides de solo e a sua relação com a biomassa microbiana foi avaliada na zona radicular de citros em sete pontos equidistantes em uma linha diagonal traçada a partir da base do caule até o centro da entrelinha mais próxima. As amostras de solo foram coletadas em duas profundidades (0 a 10 cm e 10 a 20 cm) nas estações seca e chuvosa. Não houve diferença estatística entre os pontos amostrados para as análises de carbono da biomassa microbiana (CBM), nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), respiração basal (RB) e nitrogênio total do solo (NT). A RB e o NT tiveram valores maiores durante a estação seca e o CBM e o NBM na estação chuvosa. Para todas as análises, os valores foram maiores na camada mais superficial do solo. Em geral, a biomassa microbiana foi negativamente correlacionada com nematóides fitoparasitas e positivamente com onívoros e predadores. RB e NT foram negativamente correlacionados com fitoparasitas e positivamente com predadores, onívoros, bacteriófagos e micófitos. Os resultados indicam que a comunidade de nematóides de solo e a biomassa microbiana são importantes indicadores de qualidade do solo.

Palavras chaves: comunidade de nematóides de solo, biomassa microbiana, zona radicular, citros.

Introduction

Replacement of native vegetation, rich in diversity, by the uniformity of monocrops may compromise ecosystem sustainability. Some organisms, such as nematodes, respond quickly to environmental disturbances, since they are present in high diversity and abundance in the soil and have a rapid population turnover (McSorley & Frederick, 1996; Huang *et al.*, 1998; Jorge *et al.*, 1998; Manlay *et al.*, 2000; Ferris *et al.*, 2001). Their presence in different kinds of habitats, confirms their ability to adapt to different environmental conditions. Therefore, they provide suitable indicators of soil conditions (Bongers, 1990; Cares & Huang, 1990; Cares & Huang, 1991; Neher & Campbell, 1994; Huang & Cares, 1995; Huang *et al.*, 1996). Nematodes live in communities where the diversity and the trophic structure reflect the availability of food sources. Five major trophic groups are present in the communities of soil nematodes: plant parasites, fungal feeders, bacterial feeders, predators and omnivores. The nematodes present in soils affect the decomposition of organic matter and soil fertility and play important roles in nitrogen mineralization (Neher, 2001; Huang & Cares, 2004). Although soil nematode biomass represents just a small amount of total soil biomass, it is responsible for 10-15 % of soil respiration due to the high metabolic activity and short life cycle of these organisms (Huang & Cares, 2004). Mainly due to their life strategies, their survival capacity and their capacity to change in abundance and trophic structure in response to environmental alterations, the soil nematode communities have been considered as suitable indicators for evaluation of soil conditions (Neher, 2001; Forge *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2003; Schloter *et al.*, 2003; Pen-Mouratov *et al.*, 2004; Vestergard, 2004).

Microbial biomass is the living portion of soil organic matter, which is also affected by alterations in the soil environment. The microbial biomass comprises 1-3 % of total soil carbon and up to 5 % of total soil nitrogen (Horwath & Paul, 1994). Since it is composed of bacteria, fungi, actinomycetes, micro algae and microfauna, environmental alterations affect physical, chemical and biological soil properties, modifying microbial biomass composition. Therefore, microbial biomass also has been considered a sensitive

bioindicator of soil conditions (Doran *et al.*, 1994; Horwath & Paul, 1994; Me *et al.*, 2000; Manlay *et al.*, 2000; Chen, *et al.*, 2003; Feng *et al.*, 2003; Schloter *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2004; Perez *et al.*, 2004; Spedding *et al.*, 2004; Perez *et al.*, 2005). On the other hand, Manlay *et al.* (2000) studied the relationship of microbial biomass and soil nematode communities and did not observe any correlations between these two categories of soil quality indicators. However, the authors considered that the failure in correlation was due to the fact that termites and ants consumed too much roots, and not many roots were left for natural nutrient cycling.

Our hypothesis was that spatial and temporal variations in the citrus root zone would affect microbial biomass and the nematode community as well, due to input of organic matter of different quality and quantity. Therefore, the objectives of this work were to evaluate the nematode community horizontally and vertically in the citrus root zones in different seasons; to quantify carbon and nitrogen contents of microbial biomass in the citrus root zones; to determine and to compare total nitrogen and basal respiration between horizontal soil cores in the citrus root zone; to establish relations between variables of microbial biomass and soil nematode community in the citrus root zone.

Materials and Methods

Site location and sampling. The sampled field is located in Brazilian Federal District, at Fazenda Água Limpa (FAL) Experimental Station of Universidade de Brasília (UnB) at 15° 56'S, 47° 56'W, and altitude of 1,080 m. The average temperature and precipitation during the sampling period were respectively, 21.5 °C and 23.9 mm in September, 2003 (dry season); 22.4 °C and 296.9 mm in January, 2004 (rainy season). The soil is an allic red-yellow latosol, with sandy-loam texture. The ground coverage was a 25 years old orchard of Mandarin citrus, growing on different rootstocks and partially covered with brachiaria grass. The work was planned in randomized blocks with a factorial design of seven soil cores, two soil collecting seasons (dry season, on September 27, 2003, and rainy season, on January 27, 2004), two soil depths (0-10 and 10-20 cm), and four replicates (four trees). The

variables were evaluated in the citrus root zone using seven equidistant soil cores (0.7 m, 1.4 m, 2.1 m, 2.8 m, 3.5 m, 4.2, and 4.9 m from trunk to the mid-point of interrows).

Before each soil sample was collected, coarse plant residues were carefully removed to preserve fine organic matter on the soil surface. Approximately 2,000 g of soil was collected from each soil depth with a grub hoe. The collected samples were maintained under refrigeration until nematodes and microbial biomasses were extracted.

Laboratory analyses (nematodes). The modified method of decanting and sieving (Flegg & Hopper, 1970) combined with sugar flotation, adapted from Jenkins (1964), was used to extract nematodes from sub samples with 500 g of soil. The nematodes were heat-killed at 60 °C for 1 min., and preserved in formaldehyde (final concentration 3 %). Total abundance was calculated for each sample. Bulked specimens from each sample were glycerol infiltrated according to technique adapted from Seinhorst (1959). Permanent slide mounts with anhydrous glycerol were prepared with 120 nematodes randomly picked from each sample. The specimens were identified under compound light microscope according to taxonomic literature (Goodey, 1963; Goseco *et al.*, 1974; Thorne, 1974; Andrassy, 1983; Bongers, 1988; Smart & Nguyen, 1988; Jairapuri & Ahmad, 1993; May *et al.*, 1996). Nematode data were transformed into ecological indices and other parameters for further statistical analyses. The preserved nematodes are deposited in the Nematode Reference Collection of Universidade de Brasília.

Ecological analyses (nematodes). The following variables were calculated for ecological evaluation: absolute abundance (number of specimens of each taxon), relative abundance (% of specimens of each taxon per total abundance of nematodes in each sample), and total abundance of nematodes per soil sample of 500 g (Magurran, 1988); trophic structure, based on absolute (number) and relative (%) abundance of plant parasite (PP), fungal feeder (FF), bacterial feeder (BF), predator (PR) and omnivore (OM) nematodes per sample (Yeates *et al.*, 1993); trophic diversity [$T = 1 / \sum (pi)^2$], where pi is the

percentage of each trophic group (Heip *et al.*, 1988); patterns of decomposition of the organic matter [(FF+BF)/PP] (Wasilewska, 1994); Shannon–Weaver diversity index [$H' = -\sum pi \times \log (pi)$], where pi is the percentage of taxon “i” in total nematode population (Shannon–Weaver, 1949); evenness of Shannon diversity index ($J' = H' / H'_{max}$), where $H'_{max} = \log S$ (Elliot, 1990); Simpson’s diversity index [$Ds = 1 - \sum (pi)^2$] (Simpson, 1949); evenness of Simpson’s diversity index ($Es = Ds / Ds_{max}$) where $Ds_{max} = (S-1) / S$ (Elliot, 1990); the maturity index (MI) (Bongers, 1990) based on all trophic groups of soil nematodes, except plant parasites, and the plant parasite index (PPI) (Bongers, 1990) taking in account only plant-parasitic nematodes. These two last indices consider strategies of life of each nematode taxon, according to the scale colonizer (c) persister (p) that varies from 1 (colonizer) to 5 (persister). Both indices are calculated as follows: $\sum v(i) \times f(i)$, where v(i) is equivalent to the value c-p, that varies from 1 to 5 (Yeates *et al.*, 1993), and f(i) is equivalent to the frequency of taxon “i” in a given sample.

Laboratory analyses (basal respiration and microbial biomass). MBC was estimated by the fumigation-incubation technique and each sample of 20 g of soil sub sample with moisture equivalent to 80 % of field capacity (Jenkinson & Powlson, 1976). Using 0.3 M KOH over seven days, at room temperature (aprox. 22 °C), CO₂ was captured during the incubation to estimate BR. The sample was divided in two portions: one was fumigated with chloroform (CHCl₃) 48 h prior estimation of MBC. The fumigated (F) and the non-fumigated (NF) portions were incubated for 10 days with 0.3 M KOH to obtain MBC. The MBN was estimated in 20 g of soil sub sample with moisture equivalent to 80 % of field capacity, by the fumigation-extraction method (Brookes *et al.*, 1985), and collecting vapor according to Bremner & Mulvaney (1982). By using 0.5 M K₂SO₄ (pH 6.4-6.8) the nitrogen was extracted from soil. Half of the sub sample was fumigated with chloroform (CHCl₃) for 24 h prior nitrogen extraction. The MBC and the MBN were calculated by the formula: $MB = (F - NF) / Kc$ (where, Kc = 0.41 for C and 0.54 for N).

TN was estimated in sub samples equivalent to

0.2 g of dried-soil -TFSA by the Kjeldahl digestion method (Bremner & Mulvaney, 1982), using K_2SO_4 , $CuSO_4$ and H_2SO_4 in a digester block at 335 °C for 45 minutes. Forty-five minutes later, 1 ml of H_2O_2 was added, and after the cooled extract was completed with 10 ml of water for distillation. The distilled product was collected in an erlenmeyer with 10 ml of 2 % H_3BO_3 solution, then submitted to titration with H_2SO_4 0.14286 N, where the volume of acid applied corresponded to the percentage of nitrogen in the soil sample.

Statistical analyses. Analysis of variance (ANOVA) was used to detect significant differences among treatments, followed by comparison means using Tukey's test for all the ecological indices and parameters of soil nematode community, microbial biomass, basal respiration, soil humidity and total nitrogen. Pearson's correlation between variable factors was also performed with SAS/STAT (1992).

Results

There was no statistical difference among soil cores as far as MBC, MBN, BR, and TN are concerned (Table 1). While BR and TN were higher during the dry season, MBC and MBN had higher values during the rainy period. For all microbial analyses and soil

total nitrogen, higher values were recorded for the soil depth of 0-10 cm (Table 1).

There was significant negative correlation between microbial biomass (MBN and MBC) and the relative abundance of plant-parasitic nematodes (Table 2), although the correlation with the absolute abundance of plant parasites resulted in positive values close to zero. Plant-parasitic nematodes comprised the most abundant trophic group in the nematode community, and included taxa with different preferences for environmental conditions (Freitas, 2004; Freitas *et al.*, 2008). This diversity of environmental preferences among plant-parasitic nematodes reflected on the results of correlation analysis when the relative and the absolute abundance of this trophic group were considered, especially with *Trichodorus*, which was more abundant in rainy season (Freitas *et al.*, 2008), and had a strong negative correlation with microbial biomass. On the other side, a positive correlation occurred between microbial biomass and trophic diversity, and with other trophic groups of nematodes, as omnivores and predators (Table 2).

For BR, positive correlations were observed with fungal feeders, predators (especially *Ironus*) and bacterial feeders, and negative with the plant parasites, in special *Trichodorus* (Table 2). Strong negative

Table 1 – Microbial biomass (C and N), basal respiration, total soil nitrogen and soil moisture in seven equidistant soil cores in a diagonal projection from one plant trunk basis to the center of the nearest interrows of citrus plants in Fazenda Água Limpa, Distrito Federal, soil collected in September, 2003 and January, 2004, in 0-20 cm soil, and depth (0-10, 10-20 cm)

	Soil cores [distance (m) from the trunk]						
	1 (0.7)	2 (1.4)	3 (2.1)	4 (2.8)	5 (3.5)	6 (4.2)	7 (4.9)
MBC ^{NS}	359.02	337.97	374.35	333.44	299.88	336.95	280.91
MBN ^{NS}	32.22	33.44	35.69	31.75	35.02	36.99	31.67
BR ^{NS}	102.70	86.87	114.89	87.58	81.26	79.27	85.72
TN ^{NS}	0.39	0.40	0.41	0.38	0.42	0.37	0.39
SM ^{NS}	26.26	26.13	26.64	27.4	24.04	27.05	25.9

	Season		Soil depth	
	Dry	Rainy	0-10	10-20
MBC	294.9	368.64*	425.64*	237.94
MBN	31.64	36.01*	48.19 *	19.46
BR	107.1*	75.21	125.74 *	56.63
TN	0.41*	0.37	0.45 *	0.33
SM	21.74	31.55*	25.70	27.56*

*Mean values for same season or depth were significantly different by Tukey's test ($P < 0.05$).

^{NS}The values were not significantly different by Tukey's test ($P < 0.05$)

MBC = microbial biomass carbon (mg C / kg soil); MBN = microbial biomass nitrogen (mg N / kg soil); BR = basal respiration (mg C / kg soil / day); TN = total soil nitrogen (g N / kg soil); SM = soil moisture (%).

Table 2 – Correlation between microbial biomass (C and N), basal respiration (BR), total soil nitrogen (TN) and nematode abundance, ecological indices, trophic structure and nematode genera, in the root zone of citrus, Fazenda Água Limpa, Distrito Federal.

	BR	MBC	MBN	TN	SM
Basal Respiration (BR)		0.48339*	0.53625*	0.51616*	-0.40655*
Microbial Biomass Carbon (MBC)	0.48339*		0.64822*	0.37795*	0.18408
Microbial Biomass Nitrogen (MBN)	0.53625*	0.64822*		0.52337*	0.00507
Total Soil Nitrogen (TN)	0.51616*	0.37795	0.52337*		-0.30543
Soil Moisture (SM)	-0.40655*	0.18408	0.00507	-0.30543	
Total Abundante (TA)	0.47674*	0.15105	0.30630	0.36375*	-0.54699*
Trophic diversity	0.47385*	0.40974*	0.59240*	0.41667*	-0.01984
Plant Parasitic index	-0.39358*	-0.22930	-0.33997	-0.30633	0.40717*
Maturity index	0.28088	0.24062	0.36297*	0.16721	0.07145
Bacterial Feeders (Relative)	0.14579	-0.04880	0.01650	0.16429	-0.29033
Fungal Feeders (Relative)	0.39452*	0.19500	0.35724	0.19634	-0.19522
Omnivores (Relative)	0.16576	0.42981*	0.45370*	0.30939	0.32080
Plant Parasitic (Relative)	-0.45215*	-0.40631*	-0.57607*	-0.42728*	0.04586
Predators (Relative)	0.25935	0.37425*	0.47901*	0.27654	0.17276
Bacterial Feeders (Absolute**)	0.57197*	0.05170	0.22146	0.36799*	-0.63955*
Fungal Feeders (Absolute)	0.57256*	0.18821	0.35530	0.35538	-0.52090 *
Omnivores (Absolute)	0.41443*	0.40408*	0.47691*	0.47111*	-0.17529
Plant Parasitic (Absolute)	0.23947	0.01297	0.11457	0.18692	-0.46361*
Predators (Absolute)	0.52880*	0.31614	0.49354*	0.45018*	-0.31913
<i>Aphelenchus</i>	0.13538	-0.04344	-0.00305	0.12554	-0.45148*
<i>Cephalobus</i>	-0.17876	-0.27687	-0.36056*	-0.22338	-0.12457
<i>Dorylaimellus</i>	0.36556*	0.20379	0.35191	0.16963	-0.09967
<i>Ironus</i>	0.50926*	0.19288	0.29912	0.42157*	-0.37759*
<i>Meloidogyne</i>	-0.02128	-0.18546	-0.05242	0.03745	-0.40931*
<i>Trichodorus</i>	-0.51133*	-0.38006*	-0.58397*	-0.43517*	0.24919

*Values were statistically significant when Prob > |r| under H0: Rho = 0.

**Absolute abundance (per 500 g soil) and relative abundance of nematodes

correlations were also observed between soil moisture vs. total nematode abundance, bacterial feeders, and fungal feeder nematodes (Table 2).

Table 3 shows the relationships between genera of nematodes. Fungal feeders *Tylencholaimus* and *Aphelenchoides* correlated positively with *Aporcelaimium* and *Enchodellus*, both predator nematodes. The first fungal feeder correlated positively with plant parasite *Helicotylenchus*. Finally, the fungal feeder *Dorylaimellus* correlated positively with the predator *Aporcelaimellus*. Bacterial feeders *Acrobeloides* correlated positively with the plant parasite *Helicotylenchus* and with the predators *Prodorylaimus* and *Mononchium*. *Acrobelus* and *Eucephalobus* did the same, respectively, with the predators *Eudorylaimus* and *Lenonchium* (Table 3). Plant parasites *Pratylenchus* and *Helicotylenchus* had a positive correlation, respectively, with the predator *Nygolaimellus* and with the bacterial feeder *Acrobeloides*. The bacterial feeder *Panagrobellus* correlated positively with the fungal feeder *Boleodorus*, and the plant parasite *Trichodorus* correlated

negatively with the fungal feeder *Dorylaimellus* (Table 3).

Discussion

Differences in soil biodiversity and abundance have been mostly detected across landscapes and less in small scale plots such as between short distances in a plant root zone or between layers in the soil profile (McSorley & Frederick, 1996; Huang *et al.*, 1998; Jorge *et al.*, 1998; Manlay *et al.*, 2000; Ferris *et al.*, 2001; Freitas *et al.*, 2008). No statistical difference was detected between the seven soil cores in a five meter radius around the trunk of a citrus plant with respect the analyses of MBC, MBN, BR and TN. These results suggest uniform conditions in the space delimited for sampling. Higher values of BR and TN, and lower values of microbial biomass in the dry season were also found by M.L.G. Ramos (unpublished results). According to Ramos (personal information), these results may be explained by the high amount of dead

Table 3 - Pearson's coefficients between some nematodes genera present in seven equidistant cores in the root zone of citrus, in two depths (0-10 and 10-20cm) and in two seasons (dry and rainy), coming up to 112 observation cases.

	Acrob	Aphoides	Cepha	Crasso	Dismium	Doryelus	Doryoides	Encdellus	Eucepha	Eudory	Helico	Iro	Mesocri	Mesodo	Mononch	Nygo	Panabelus	Paratri	Prodo	Tylencho
<i>Acroboides</i> **											0.39				0.78					0.70
<i>Aphoides</i>								0.57												
<i>Apmellus</i>						0.43														
<i>Apmium</i>		0.57			0.63			0.99												0.43
<i>Boleo</i>																				0.97
<i>Cervi</i>			0.50																	
<i>Encdellus</i>					0.63															
<i>Eudory</i>	0.40*																			
<i>Discocri</i>													0.90							
<i>Dismium</i>				0.44																
<i>Labro</i>							0.58			0.51										
<i>Lenchium</i>								0.57												
<i>Paraxon</i>										0.38				0.48						
<i>Praty</i>																0.75				
<i>Prodo</i>															0.83					
<i>Thonus</i>				0.39							0.49									
<i>Tricho</i>						-0.47														0.40
<i>Tylencho</i>								0.43		0.40										

*Values were statistically significant when $\text{Prob} > |r|$ under $H_0 : \text{Rho} = 0$.

**Acrob=*Acrobeles*, Acroboides=*Acrobeloides*, Aphoides=*Aphelenchoides*, Apmellus=*Aporcelaimellus*, Apmium=*Aporcelaimium*, Boleo=*Boleodurus*, Cepha=*Cephalobus*, Cervi=*Cervidellus*, Crasso=*Crassolabium*, Discocri=*Discocricinemella*, Dismium=*Discalaimium*, Doryelus=*Dorylaimelus*, Doryoides=*Dorylaimoides*, Encdellus=*Enchodellus*, Eucepha=*Eucephalobus*, Eudory=*Eudorylaimus*, Helico=*Helicotylenchus*, Iro=*Ironus*, Labro=*Labronema*, Lenchium=*Lenonchium*, Mesocri=*Mesocricinema*, Mesodo=*Mesodorylaimus*, Mononch=*Mononchium*, Nygo=*Nygolaimellus*, Panabelus=*Panagrobelus*, Paratri=*Paratrichodorus*, Paraxon=*Paraxonchium*, Praty=*Pratylenchus*, Prodo=*Prodorylaimus*, Tylencho=*Tylencholaimus*, Thonus=*Thonus*, Tricho=*Trichodorus*, Tylencho=*Tylencholaimus*.

organisms in the dry soil, as well as by the death of soil organisms due cell lyses by changes on the osmotic potential after soil hydration shortly after the first rainfalls. Dead organisms serve as carbon source for remaining organisms, leading to increased respiration ratio. In these conditions, high uptake of carbon from dead microbial cells by remaining soil biota, the microbial biomass is reduced. In relation to the high values of TN, Turner *et al.* (2003) also mention that, in dry soils, there is more availability of nutrients, since cell lyses favor nutrient mineralization, mainly phosphorous.

Higher values of MBC and MBN in the rainy period suggest greater abundance of microorganisms (bacteria, fungi, etc.) favored by soil moisture and higher production of plant biomass. Yeates *et al.* (2004) observed that the microbial biomass and nematode abundance increased with increased plant biomass, and Manlay *et al.* (2000) suggested that microbial biomass depends on carbon storage in the

soil. In addition, when plant biomass is submitted to parasitism by plant nematodes, an increased release of plant exudates may occur and favor the multiplication of soil biota, and consequently higher values of microbial biomass (Bardgett *et al.*, 1998; Mikola *et al.*, 2001). Freitas *et al.* (2008) observed a tendency for higher abundance of some plant parasitic nematodes (*Trichodorus* and *Helicotylenchus*) during the rainy season, possibly in response to increased root biomass in that season. In the same season, the authors observed a tendency for higher populations of omnivore nematodes, contrarily to lower abundance of bacterial and fungal feeder nematodes, suggesting an efficient predator-prey relationship.

Higher values of microbial biomass in soil top layer indicate greater microbial activities as results of increased root activities and of higher ratios of organic matter from different sources on the top layer of soil. Although, root biomass was not measured, previous studies under similar situations pointed that chemical

and physical variations in the soil environment can affect plant and microbial biomass in the soil top layers (Bardgett *et al.*, 1998; Manlay *et al.*, 2000; Mikola *et al.*, 2001; Wardle *et al.*, 2001; Wardle *et al.*, 2003; Yeates *et al.*, 2004).

It is known that nitrogen mineralization is more associated with bacteria than fungi (Turner *et al.*, 2003). Contrarily to the expected, in this study organic matter transformations seem to be more charged by fungi than by bacteria, as MBN was better correlated with fungal feeder, rather than with bacterial feeder nematodes. Nevertheless, the dominance of fungal feeders indicates a bigger consumption of fungi, thus remaining more organic matter to be decomposed by bacteria. The positive correlations of basal respiration with bacterial feeders, fungal feeders, predators and omnivores, all of them are involved in the decomposition process of organic matter, suggest that the presence of decomposer organisms such as bacteria and fungi favors the development of bacterial and fungal feeder nematodes, respectively, leading to an increase of predators and omnivores populations. Therefore, through the time a structured soil food web develops, with higher microorganism activities and increased respiration (Huang & Cares, 2004).

Bacterial feeder nematodes correlated with total nitrogen, reinforcing their role on the process of nitrogen mineralization (Ferris *et al.*, 1997; Neher, 2001). Predators and omnivores, also correlated positively with TN, as they are important on the process of food mineralization and soil respiration (Neher, 2001; Huang & Cares, 2004), they may increase the ratio of soil nitrogen. A negative correlation between microbial biomass (MBN and MBN) and plant-parasitic nematodes may be explained considering that at both seasons, plant feeders comprised the most abundant trophic group in the nematode community (Freitas *et al.*, 2008), and included taxa, especially *Trichodorus*, with strong negative correlation with microbial biomass.

The tendency for negative relationships between plant parasitic nematodes and TN, may also be attributed to their spatial and temporal distribution. While the dominant plant feeders concentrated in the deeper layer of soil profile, and during the wet season,

TN was higher at the top soil layer, and during the dry season. A higher plant biomass production has as consequence, higher nutrient immobilization, therefore the living roots need more nutrients for their development, leading to increased root biomass, then to higher abundance of plant-parasitic nematodes, and to reduced nutrient availability.

According to Freitas *et al.* (2008), all trophic groups tended towards a negative correlation with soil moisture, although isolated taxa in each trophic group behaved in different ways in relation to soil moisture, mainly those plant parasites, omnivores and predators, which influenced the results of correlation analysis, suggesting that soil moisture beyond field capacity for extended period of time is not favorable for the majority of soil nematodes.

Remarks

Microbial biomass, basal respiration, and the soil total nitrogen did not vary horizontally in the citrus root zone. However, there was a gradient between these variables, with the different seasons, and within the soil profile. The microbial biomass was higher in the rainy season and in the upper soil layer, while the basal respiration and total nitrogen were higher in the dry season and also, in the upper layer of the soil. Although with low values of correlation, the nematode community correlated with microbial biomass. Microbial biomass, basal respiration and soil total nitrogen correlated negatively with plant parasites and positively with predators and omnivores. The basal respiration and the total nitrogen were also positively correlated with bacterial feeders and fungal feeders.

Acknowledgements

The authors acknowledge the technicians in the Soil Biology and in the Plant Pathology Laboratories of Universidade de Brasília, specially Fernanda Espíndola Leal and Marivaldo Farias for their help in collecting and processing soil samples.

Literature Cited

BARDGETT, R.D., D.A. WARDLE & G.W. YEATES, G.W. 1998. Linking above-ground and below-ground interactions: how plant responses to foliar herbivory influence soil organisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 30: 1867-1878.

- BONGERS, T. 1988. De nematoden van Nederland. Pirola School, Natuurhist. Biblioth. KNNV nr 46, 408 p.
- BONGERS, T. 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, 83: 14-19.
- BREMNER, J.M. & C.S. MULVANEY. 1982. Nitrogen total. In: PAGE, A.L., A.R. MILLER & D.S. KEENEY (ed). *Methods of Soil Analysis*. 2th. ed. American Society of Agronomy, Madison, p. 595-624.
- BROOKES, P.C., A. LANDMAN, G. PRUDEN & D.S. JENKINSON. 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 17: 837-842.
- CARES, J.E. & C.S. HUANG. 1990. Environmental factors affecting diversity of plant parasitic nematodes in the Brazilian Amazon. *Nematologica*, 36: 338.
- CARES, J.H. & S.P. HUANG. 1991. Nematode fauna in natural and cultivated cerrados of Central Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 16:199-209.
- CHEN, C.R., Z.H. XU, T.J. BLUMFIELD & J.M. HUGHES. 2003. Soil microbial biomass during the early establishment of hoop pine plantation: seasonal variation and impacts of site preparation. *Forest Ecology and Management*, 186: 213-225.
- CHEN, X., J. TANG, Z. FANG & K. SHIMIZU. 2004. Effects of weed communities with various species numbers on soil features in a subtropical orchard ecosystem. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 102: 377-388.
- DORAN, J.W., M. SARRANTONIO & R. JANKE. 1994. Strategies to promote soil quality and health in soil biota: management in sustainable farming systems. In: PANKHURST, C.E., B.M. DOUBE, V.V.S.R. GUPTA. & P.R. GRACE (ed). *Soil Biota*, CSIRO Cataloguing-in-publication Entry, Victoria (Australia).
- ELLIOT, C.A. 1990. Diversity indices. In: *Principles of Managing Forests for Biological Diversity*. 370 p.
- FENG, Y., A.C. MOTTA, D.W. REEVES, C.H. BURMESTER, E.V. SANTEN & J.A. OSBORNE. 2003. Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. *Soil Biology & Biochemistry*, 35:1693-1703.
- FERRIS, H., R.C. VENETTE & S.S. LAU. 1997. Population energetics of bacterial-feeding nematodes: carbon and nitrogen budgets. *Soil Biology & Biochemistry*, 29: 1183-1194.
- FERRIS, H., T. BONGERS & R.G.M. GOEDE. 2001. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology*, 18: 13-29.
- FLEGG, J.J. & D.J. HOPPER. 1970. Extraction of free-living stages from soil. In: J.F. SOUTHEY (ed). *Laboratory Methods for Work with Plant Soil Nematodes*. Commonwealth Agricultural Bureau, Harpenden, p. 5-22.
- FORGE, T.A., E. HOGUE, G. NEILSEN & D. NEILSEN. 2003. Effects of organic mulches on soil microfauna in the root zone of apple: implications for nutrient fluxes and functional diversity of the soil food web. *Applied Soil Ecology*, 22: 39-54.
- FREITAS, V.M. 2004. Relação entre comunidade de nematóides e biomassa microbiana na zona radicular de plantas de tangerina (*Citrus reticulata*) no Distrito Federal. (Dissertação de Mestrado). Universidade de Brasília.
- FREITAS, V.M., J.E. CARES, E.P. ANDRADE & S.P. HUANG. 2008. Influence of *Citrus* spp. on the community of soil nematodes in the dry and rainy seasons in Distrito Federal of Brazil. *Nematologia Brasileira*, 32: 20-32.
- GOMES, G.S., S.P. HUANG & J.E. CARES. 2003. Nematode community, trophic structure and population fluctuation in soybean fields. *Fitopatologia Brasileira*, 28: 258-266.
- GOODEY, T. 1963. *Soil and Freshwater Nematodes*. Methuen & Coltd, London. 595 p.
- GOSECO, C.G., V.R. FERRIS & J.M. FERRIS. 1974. Revision in Leptonchoidea (Nematoda: Dorylaimida). Purdue Nematode Collection Department of Entomology. Purdue University, West Lafayette (Indiana), 142 p.
- HEIP, C., P.M.J. HERMAN & K. SOETAERT. 1988. Data processing, evaluation and analysis. In: HIGGINS, R.P. & H. THIEL (ed). *Introduction to the Study of Meiofauna*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C., p. 179-231.
- HORWATH, W.R. & E.A. PAUL. 1994. Microbial biomass in methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties.
- HUANG, S.P. & J.H. CARES. 1995. Community composition of plant-parasitic nematodes in native and cultivated cerrados of Central Brazil. *Journal of Nematology*, 27: 237-243.
- HUANG, S.P., J.E. CARES & J.P. VIVAS, J.P. 1998. Nematode biodiversity of five different land use systems in two Brazilian tropical states, Rondônia and Acre. *Fitopatologia Brasileira*, 23: 305.
- HUANG, S.P. & J.E. CARES. 2004. The role of nematodes in maintaining soil fertility. BGBD Bi-annual Newsletter of the TSBF-CIAT 1, p. 14-16.
- HUANG, S.P., H.C.A. FREIRE & J.E. CARES. 1996. Grupos composicionais e tróficos dos nematóides associados à sucupira branca (*Pterodon pubescens*) em cerrado nativo. *Fitopatologia Brasileira*, 21: 156-160.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48: 62.
- JENKINSON, D.S. & D.S. POWLSON. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. a method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 8: 209-213.
- JORGE, C.L., S.P. HUANG & J.E. CARES. 1998. Influência do fogo na população e na estrutura trófica de nematóides do cerrado nativo. *Fitopatologia Brasileira*, 23: 305.

- MAGURRAN, A.E. 1988. Ecological Diversity and its Measurements. Cambridge University Press, 179 p.
- MANLAY, R.J., P. CADET, J. THIOULOUSE & J.L. CHOTTE. 2000. Relationships between abiotic and biotic soil properties during fallow periods in the Sudanian zone of Senegal. *Applied Soil Ecology*, 14: 89-101.
- MAY, W.F., P.G. MULLIN, H.H. LYON & K. LOEFFLER. 1996. Pictorial Key to Genera of Plant Parasitic Nematodes. 5th. ed. Cornell Univ. Press, 277 p.
- MCSORLEY, R. & J.J. FREDERICK. 1996. Nematode community structure in rows and between rows of a soybean field. *Fundamental Applied Nematology*, 19: 251-261.
- MIKOLA, J., G.W. YEATES, D.A. WARDLE, G.M. BARKER & K.I. BONNER. 2001. Response of soil food-web structure to defoliation of different plant species communities in an experimental grassland community. *Soil Biology and Biochemistry*, 33: 205-214.
- NEHER, D.A. 2001. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *Journal of Nematology*, 33:161-168.
- NEHER, D.A. & C.L. CAMPBELL. 1994. Nematode communities and microbial biomass in soils with annual and perennial crops. *Applied Soil Ecology*, 1: 17-28.
- PEN-MOURATOV, S., M. RAKHIMBAEV, G. BARNES & Y. STEINBERGER. 2004. Spatial and temporal dynamics of nematode populations under *Zygophyllum dumosum* in arid environments. *European Journal of Soil Biology*, 40: 31-46.
- PEREZ, K.S.S., M.L.G. RAMOS & C. MCMANUS. 2004. Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos cerrados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39: 567-573.
- PEREZ, K.S.S., M.L.C. RAMOS & C. MCMANUS. 2005. Nitrogênio da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos cerrados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40:137-144.
- SCHLOTTER, M., O. DILLY & J.C. MUNCH. 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 98: 255-262.
- SEINHORST, J.W. 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. *Nematologica*, 4: 67-69.
- SHANNON, C.E. & W. WEAVER. 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois, Urbana, 117 p.
- SIMPSON, E.H. 1949. Measurement of diversity. *Nature*, 163: 688.
- SMART, G.C. & K.B. NGUYEN. 1988. Illustrated Key for the Identification of Common Nematodes in Florida. Kinkos Copies Professor Publish, Gainesville (Florida), 91 p.
- SPEDDING, T.A., C. HAMEL, G.R. MEHUY & C.A. MADRAMOOTOO. 2004. Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 499-512.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS INSTITUTE, Inc. 1992. User's Guide. Version 8.0. SAS Institute Inc., Cary (NC).
- THORNE, G. 1974. Nematodes of the northern great plains. Part II. Dorylaimida (Nematoda-Adenophorea). Agricultural Experimental Station, South Dakota, 120 p.
- TURNER, B.L., J.P. DRIESSEN, P.M. HAYGARTH & I.D. MCKELVIE. 2003. Potential contribution of lysed bacterial cells to phosphorus solubilization in two rewetted Australian pasture soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 187-189.
- VESTERGARD, M. 2004. Nematode assemblages in the rhizosphere of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) dependent on fertilization and plant growth phase. *Pedobiologia*, 48: 257-265.
- VISHNEVETSKY, S. & Y. STEINBERGER. 1997. Bacterial and fungal dynamics and their contribution to microbial biomass in desert soil. *Journal of Arid Environments*, 37: 83-90.
- WARDLE, D.A., G.W. YEATES, R.N. WATSON & K.S. NICHOLSON. 1995. Development of the decomposer food-web, trophic relationships, and ecosystem properties during a three-year primary succession of sawdust. *Oikos*, 73: 155-166.
- WARDLE, D.A., G.M. BARKER, G.W. YEATES, K.I. BONNER & A. GHANI. 2001. Introduce browsing mammals in natural New Zealand forests: aboveground and below ground consequences. *Ecological Monographs*, 71: 587-614.
- WARDLE, D.A., G.W. YEATES, W. WILLIAMSON & K.I. BONNER. 2003. The response of a three trophic level soil food web to the identity and diversity of plant species and functional groups. *Oikos*, 102: 45-56.
- WASILEWSKA, L. 1994. The effects of age of meadows on succession and diversity in soil nematode communities. *Pedobiologia*, 38: 1-11.
- WILLIAMSON, W., D.A. WARDLE & G.W. YEATES. 2005. Changes in soil microbial and nematode communities during ecosystem decline across a long-term chronosequence. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 1289-1301.
- YEATES, G.W., T. BONGERS, R.G.M. DE GOEDER, D.W. FRECKMAN & S.S. GEORGIEVA. 1993. Feeding habits in soil nematodes families and genera- an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*, 25: 315-331.
- YEATES, G.W., D.A. WARDLE & R.N. WATSON. 1999. Responses of soil nematode populations, community structure and temporal variability to agricultural intensification over a seven-year period. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 1721-1733.
- YEATES, G.W., L.A. SCHIPPER & M.C. SMALE. 2004. Site condition, fertility gradients and soil biological activity in a New Zealand frost-flat heathland. *Pedobiologia*, 48: 129-137.

Patogenicidade de *Meloidogyne incognita* Raça 2 a Bananeira ‘Prata Anã’ em Diferentes Substratos*

Alnusa M. Jesus^{1,3**}, Sílvia R.S. Wilcken^{1**}, Cristiani Kano¹ & Hélio Grassi Filho^{2,3}

*Parte da tese de Doutorado da primeira autora, apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômica (FCA - UNESP), C. Postal 237, 18603-970 Botucatu (SP) Brasil.

¹Departamento de Proteção Vegetal, FCA – UNESP.

²Departamento de Recursos Naturais, FCA – UNESP.

³Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**Autoras para correspondência: alnusa@bol.com.br, serenata@fca.unesp.br

Recebido para publicação em 21 / 03 / 2007. Aceito em 07 / 08 / 2008

Editado por Claudio Marcelo Oliveira

Resumo - Jesus, A.M., S.R.S. Wilcken, C. Kano & H. Grassi Filho. 2009. Patogenicidade de *Meloidogyne incognita* raça 2 a bananeira ‘Prata Anã’ em diferentes substratos.

O presente trabalho objetivou estudar a reação de bananeira ‘Prata Anã’ à *Meloidogyne incognita* raça 2 em substratos com diferentes fertilidades. A infestação artificial foi feita com diferentes níveis populacionais iniciais (0, 2.000, 10.000 e 50.000 ovos e juvenis por planta) de *M. incognita* raça 2. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete repetições, em arranjo fatorial (4 × 5). Os substratos utilizados foram: substrato 1 (padrão: areia-solo-esterco na proporção 1:1:1; pH 7); substrato 2 (pH 5,6, sem adição de NPK); substrato 3 (substrato 2 com pH ajustado para 6,4); substrato 4 (substrato 3 com adição de NPK); e substrato 5 (substrato 2 com adição de NPK). A patogenicidade foi comprovada com base nos parâmetros: altura da planta (AP), diâmetro do pseudocaule (DP), número de folhas (NF), número de nematoides por grama de raiz (NGR), número total de nematoides do solo e da raiz (NTSR), fator reprodutivo (FR), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da parte aérea (MSPA). Durante os 135 dias da inoculação, não foram constatadas interações significativas entre níveis de populações iniciais de *M. incognita* raça 2 e fertilidade do substrato para os parâmetros AP, DP e MFR. Entretanto, a patogenicidade de *M. incognita* raça 2 em bananeira foi constatada a partir da população inicial de 2.000 ovos e juvenis, independentemente da fertilidade do substrato utilizado.

Palavras chaves: *Meloidogyne incognita* raça 2, patogenicidade, banana.

Summary - Jesus, A.M., S.R.S. Wilcken, C. Kano & H. Grassi Filho. 2009. Pathogenicity of *Meloidogyne incognita* on banana ‘Prata Anã’ in different substrates.

This work aimed to study the reaction of banana ‘Prata Anã’ to *Meloidogyne incognita* in substrates with different fertilities. Artificial infestation was accomplished using different initial population levels (0; 2,000; 10,000; and 50,000 eggs and juveniles per plant) of *M. incognita* race 2. The experimental design was completely randomized with seven replications, in a factorial arrangement 4 × 5. The substrates used were: substrate 1 [standard: mix of sand-soil-manure (1:1:1), pH 7]; substrate 2 (pH 5.6 without NPK fertilizer); substrate 3 (substrate 2 with pH adjusted to 6.4); substrate 4 (substrate 3 with NPK fertilizer); and substrate 5 (substrate 2 with NPK fertilizer). The pathogenicity was compared on the basis of the following parameters: plant height (PH) and pseudostem diameter (PD), number of leaves (NL), number of nematodes per gram of roots (NG), total number of nematodes (TN), reproductive factor (RF), fresh root weight (FRW) and dry shoot weight (DSW). After 135 days, significant interactions were not verified between the initial population levels and the substrate fertility for the parameters FRW, PH and PD. However, it was verified that *M. incognita* race

2 was pathogenic to banana plants from the initial population of 2,000 eggs and juveniles regardless the substrate used.

Key words: *Meloidogyne incognita* race 2, pathogenicity, banana.

Introdução

A bananeira (*Musa* spp.) é cultivada em mais de 80 países de clima tropical, alcançando produção anual de 71 milhões de toneladas. O Brasil é o segundo maior produtor de banana, apresentando área cultivada de 513 mil ha e produção estimada em 6,9 milhões de toneladas por ano. Porém, apresenta baixa exportação, cerca de 3,4 % do total nacional (Figueiredo *et al.*, 2005; Agriannual, 2005). A produtividade da bananeira é influenciada pela genética da cultivar utilizada, por fatores ambientais como clima, solo, manejo agrônomico adotado e danos causados por pragas e doenças na cultura (Silva *et al.*, 2003). Os fitonematoides apresentam efeito direto na absorção de água e nutrientes das plantas hospedeiras, causando em algumas áreas perdas significativas da produção (Gowen & Quénéhervé, 1990; Costa *et al.*, 1997; Brooks, 2004). Nas Filipinas, Davide & Marasigan (1992) observaram redução significativa de 45 a 57 % nas massas dos cachos devido à infecção de *M. incognita* em bananeira 'Cavendish'. Essa mesma espécie causou perdas de 31 % na produção em culturas de bananeira em Tamil Nadu, Índia (Jonathan & Rajedran, 2000).

Das 146 espécies de nematoides relatadas na cultura da bananeira, *Radopholus similis* (Cobb), *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White), *M. javanica* (Treub), *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann), *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb) e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira são as espécies mais comumente associadas a raízes de bananeira (Gowen & Quénéhervé, 1990). No Brasil, além das espécies citadas, *M. hapla* Chitwood e *M. arenaria* (Neal) também já foram encontradas em áreas brasileiras produtoras de banana. Porém, dos nematoides formadores de galhas, *M. incognita* e *M. javanica* são consideradas as mais patogênicas para a bananicultura nacional (Costa *et al.*, 1998; Gonzaga *et al.*, 1999; Costa, 2000). Informações sobre *Meloidogyne* spp. em bananeira ainda são escassas, tanto na determinação da reação como da patogenicidade destas espécies em diferentes

cultivares (Cofcewicz *et al.*, 2004a). Estudos nematológicos na cultura da bananeira têm se concentrado em levantamentos e estudos com *R. similis*, espécie considerada a mais patogênica à cultura (Sarah *et al.*, 1993; Fallas *et al.*, 1995; Hahn *et al.*, 1996; Fogain & Gowen, 1997; Araya *et al.*, 1999; Rajendran *et al.*, 2001). Embora as espécies de *Meloidogyne* sejam também consideradas de importância para a bananeira, poucos estudos têm sido desenvolvidos com essas espécies nessa cultura.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a reação da bananeira 'Prata Anã' à *M. incognita* raça 2, empregando-se as densidades iniciais de inóculo: 0, 2.000, 10.000 e 50.000 ovos e juvenis, em cinco substratos com diferentes fertilidades, a fim de determinar o substrato adequado para estudos de patogenicidade de *Meloidogyne* em bananeira.

Material e Métodos

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com sete repetições no esquema fatorial (4 x 5) constituído de quatro níveis de inóculo (0, 2.000, 10.000 e 50.000 ovos e juvenis infectantes) de *Meloidogyne incognita* raça 2 e cinco tipos de substrato: **substrato 1 (padrão)** = areia, solo e esterco na proporção 1:1:1, com textura arenosa (853 g de areia, 96 g de argila e 51 g de silte), 38 g de matéria orgânica (MO) / dm³ e pH 7; **substrato 2** = textura média (679 g de areia, 24 g de argila e 81 g de silte), 10 g de MO / dm³, pH 5,6; **substrato 3** = substrato 2 com pH ajustado para 6,4; **substrato 4** = substrato 3 com adição de NPK de acordo com o recomendado por Malavolta *et al.* (1997); e **substrato 5** = substrato 2 com adição de NPK. Todos os substratos foram previamente autoclavados a 110 °C por 2 horas.

Mudas micropropagadas de bananeira 'Prata Anã' provenientes da BIONOVA Mudanças e Plantas Ltda., Ribeirão Preto SP, foram padronizadas quanto à altura, diâmetro do pseudocaule e número de folhas, por ocasião do transplante para vasos de plásticos de 10

litros, contendo os diferentes substratos. A população de *M. incognita* raça 2 foi obtida de raízes de cafeeiro proveniente do município de Oswaldo Cruz (SP) e multiplicada em tomateiro 'Rutgers' em casa de vegetação na FCA – UNESP, Botucatu SP. A confirmação da espécie foi feita pela observação do padrão perineal e também pela técnica de eletroforese de esterase (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985) e a raça determinada pela técnica de hospedeiros diferenciadores (Hartman & Sasser, 1985). A infestação do substrato com 0, 2.000, 10.000 e 50.000 ovos e juvenis infectantes foi realizada uma semana após o transplante das mudas para os diferentes substratos.

Os parâmetros de altura das plantas (base do pseudocaule até o início da saída das folhas), diâmetro do pseudocaule (na altura do solo) e o número de folhas funcionais foram avaliados aos 27, 56, 89 e 119 dias após a inoculação durante 135 dias, fase final do experimento. Neste período, foram avaliados o índice de galhas e de massa de ovos, número de nematoides por grama de raiz (NGR), número total de nematoides do solo e da raiz (NTSR), fator reprodutivo (FR), a massa fresca da raiz (MFR) e a massa seca da parte aérea (MSPA), sendo esse último parâmetro realizado após a desidratação do material vegetal em estufa a 60 °C por 10 dias. A população final dos nematoides foi obtida das raízes e do solo pelas metodologias de Coolen & D'Herde (1972) e Jenkins (1964) e determinada em lâmina de Peters, sob microscópio óptico para obtenção do fator reprodutivo ($FR = Pf / Pi$) (Oostenbrink, 1966).

Os dados de FR, NTSR e NGR foram transformados para $\sqrt{x+1}$ e as análises estatísticas foram conduzidas utilizando-se o programa computacional STAT e SISVAR. Por meio da análise de variância com o teste F significativo a nível de 5 e 1 %, foi verificada a análise de regressão para os níveis de inóculo e aplicado o teste de Tukey de (5 %) para as comparações das médias.

Resultados e Discussão

Não foi verificada interação significativa entre os tipos de substratos e os níveis de inóculo para os parâmetros altura das plantas, diâmetro do pseudocaule e MFR. Pela média geral, o efeito negativo do nematoide foi verificado apenas nas plantas

inoculadas com 50.000 ovos e juvenis infectantes.

A equação $y = 7,73 - 0,00003x$ mostra o efeito negativo de *M. incognita* raça 2 sobre a alturas das plantas inoculadas a partir de 2.000 nematoides, quando avaliadas aos 27 dias após a inoculação (DAI) (Figura 1). Aos 56 DAI, o efeito negativo do nematoide foi constatado apenas nas populações iniciais de 10.000 e 50.000 ovos e juvenis, ajustando-se ao modelo linear $y = 13,73 - 0,000056x$. Aos 89 e 119 DAI, *M. incognita* raça 2 afetou negativamente o desenvolvimento vegetativo apenas quando as plantas receberam 50.000 ovos e juvenis.

De acordo com a análise de regressão, a altura das plantas no substrato 1 diferiu estatisticamente das demais aos 119 DAI, ajustando-se ao modelo linear $y = 41,92 - 0,00012x$. Tais resultados são concordantes com aqueles encontrados por Pinto *et al.* (2005), em que plantas de bananeira inoculadas com *M. incognita* apresentaram crescimento inferior àquelas não inoculadas. Os substratos 2 e 3, pouco férteis, não proporcionaram o desenvolvimento adequado das plantas aos 89 e 119 DAI, ao contrário dos demais substratos utilizados.

No substrato 1, plantas inoculadas com 50.000 ovos e juvenis apresentaram altura reduzida nas três últimas avaliações. Neste substrato, que contém fertilidade elevada, foi necessária uma alta população do nematoide para mostrar seu efeito negativo nas plantas. Em solos com baixa fertilidade, mesmo baixas densidades populacionais (2.000 ovos) induziram danos às plantas, que se apresentaram raquíticas e pouco desenvolvidas.

O diâmetro do pseudocaule avaliado aos 27 DAI mostrou efeito negativo do nematoide quando as plantas foram inoculadas com 10.000 e 50.000 ovos e juvenis, como mostra a equação $y = 1,09 - 0,00003x$. Porém, aos 56 DAI, ficou evidenciada a patogenicidade do nematoide a partir de 2.000 ovos e juvenis por planta ajustando-se ao modelo linear $y = 1,86 - 0,000005x$. Aos 89 e 119 DAI, as plantas inoculadas com 50.000 nematoides apresentaram redução do equações $y = 2,93 - 0,0000061x$ e $y = 3,49 - 0,0000073x$, respectivamente (Figura 2). Independentemente do substrato utilizado, as plantas apresentaram diminuição do diâmetro do pseudocaule a partir de 10.000 ovos e juvenis infectivos.

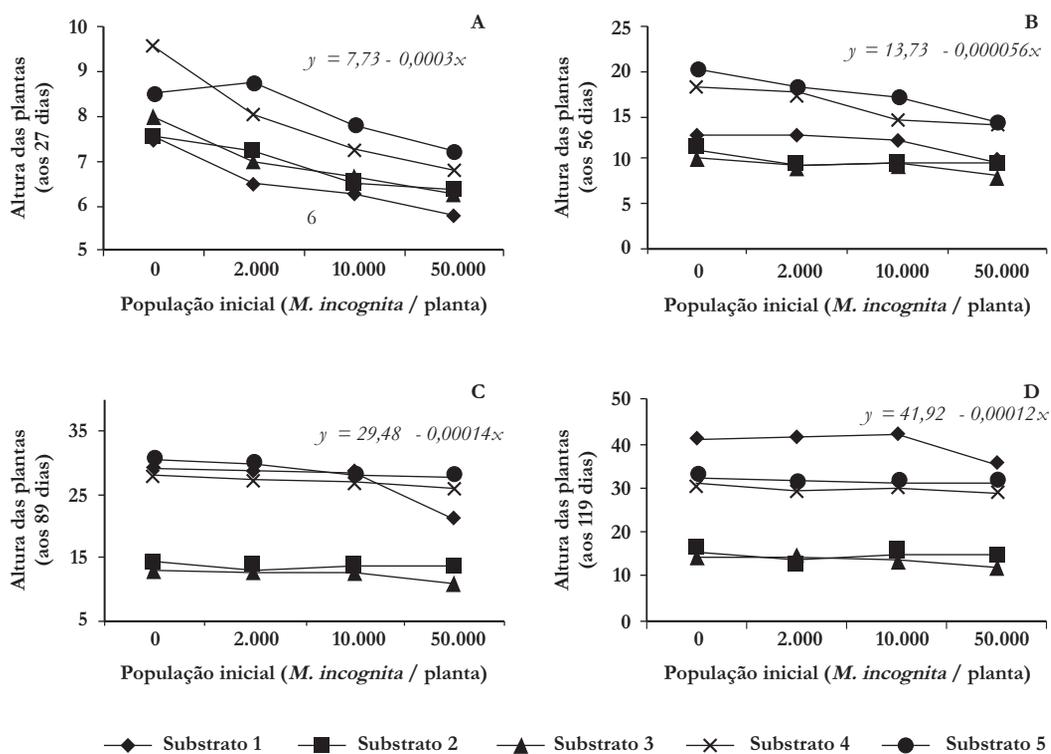


Figura 1 - Altura média (cm) das plantas de bananeira infestadas e não infestadas por *M. incognita* raça 2, aos 27 (A), 56 (B), 89 (C) e 119 (D) dias após a inoculação, com diferentes níveis populacionais em cinco substratos.

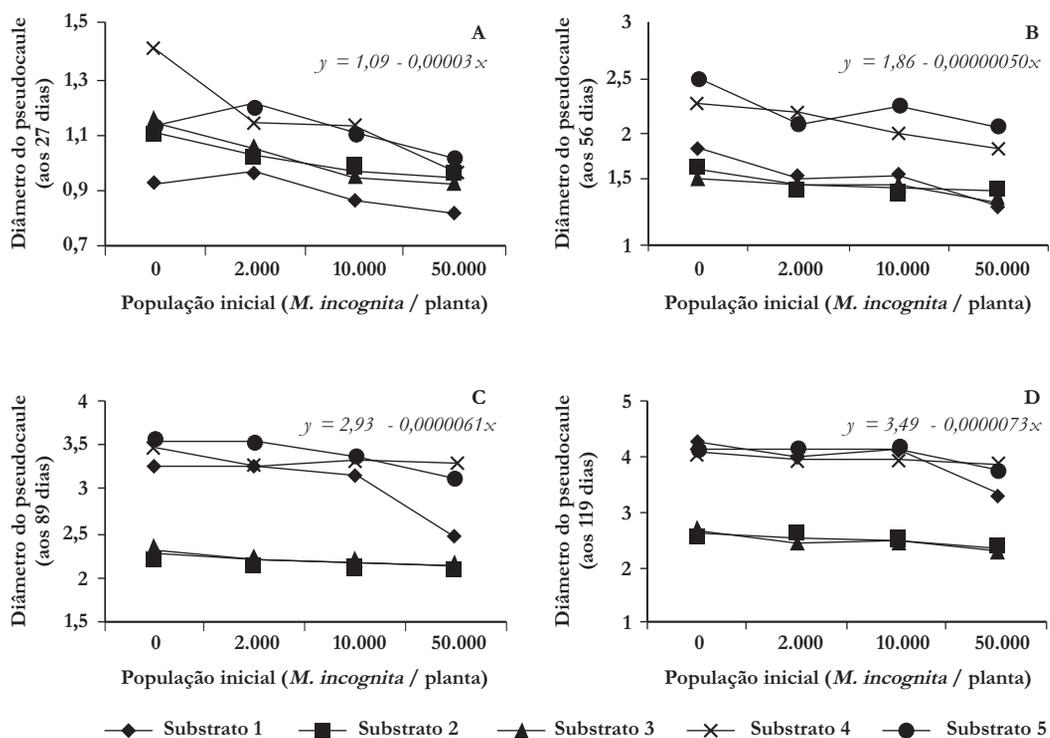


Figura 2 - Diâmetro médio do pseudocaule (cm) de bananeira infestada e não infestadas por *M. incognita* raça 2, aos 27 (A), 56 (B), 89 (C) e 119 (D) dias após a inoculação, com diferentes níveis populacionais em cinco substratos.

Os dados de número de folhas não foram consistentes de forma a determinar a reação da bananeira 'Prata Anã' à *M. incognita* raça 2 em todas as épocas de avaliação, apesar da interação significativa entre os dois fatores nas avaliações realizadas aos 89 e aos 119 DAI. As plantas cultivadas no substrato 1 apresentaram menor índice de galhas (3,4 a 4,1) e de massas de ovos (2,0 a 2,8) de *M. incognita* raça 2, proporcionando menor FR do nematoide. Nos demais substratos as plantas apresentaram alta taxa de multiplicação de *M. incognita* raça 2, demonstrada pelos índices de galhas e de massas de ovos iguais a 5,0 (Tabela 1).

Foi constatada interação significativa entre os tipos de substratos e os níveis de inóculo para a massa seca da parte aérea, sendo observado sua redução no substrato 1, na população inicial de 50.000 ovos e juvenis por planta, (Tabela 2) demonstrado pela equação $y = 80,44 - 0,0008x$, sendo y a massa seca da parte aérea em gramas e x o nível de inóculo inicial (nematóide / planta).

Altas taxas de multiplicação do nematoide foram observadas em todos os substratos principalmente em 4 e 5, que apresentaram maior número de nematoides por grama de raiz e maior fator reprodutivo (Tabela 2). As plantas mantidas no substrato 1 apresentaram menores populações finais de *M. incognita* raça 2, com FR inferior a um (0,54) naquelas inoculadas com 50.000 ovos e juvenis infectivos. Este fato pode ser explicado por vários fatores, entre eles o alto número de indivíduos inoculados (50.000), sendo desta forma a quantidade de sítios de penetração insuficiente para o parasitismo dos nematoides, havendo mortalidade de parte dos juvenis inoculados, diminuindo assim, o FR (Peixoto,

1991). O pH elevado (7) deste substrato pode não ter sido adequado para a reprodução e desenvolvimento do nematoide, de acordo com Davide (1992), o pH adequado para a multiplicação de nematoides varia de 5,0 a 5,6. A fertilidade elevada e, conseqüentemente o rápido crescimento das plantas, comparado ao desenvolvimento do nematoide neste substrato também pode ter interferido na multiplicação do mesmo. Segundo Silva *et al.* (2001) e Cavalcante *et al.* (2005), a bananeira é altamente eficiente em produzir grande quantidade de biomassa em curto período de tempo. Para Borges (1998), o solo ideal para o cultivo da bananeira é aquele rico em matéria orgânica, como verificado no substrato 1.

Independentemente do substrato utilizado, o maior FR foi verificado nas plantas inoculadas com 2.000 ovos e juvenis (Tabela 2). Provavelmente, tal fato se deve à quantidade de raízes disponíveis em proporção ao número de nematoides inoculados, havendo melhor relação entre ambos (Gonçalves, 1998). Kheir *et al.* (2004) observaram que a população final de *M. incognita* aumentou proporcionalmente com o inóculo inicial (100, 1.000, 5.000 e 10.000 juvenis por planta) em bananeiras. No entanto, o FR do nematoide correlacionou-se negativamente com a população inicial.

Os resultados encontrados por Grammatikaki & Tzortzakakis (1998) discordam parcialmente com aqueles encontrados neste estudo, pois, segundo estes autores, o número de ovos de *M. incognita* por grama de raiz não diferiu nas cultivares Goldfinger (FHIA 01) e Dwarf Cavendish, quando inoculadas com 1.000 ou 5.000 ovos.

De acordo com os resultados obtidos, é possível

Tabela 1 - Índice médio de galhas (IMG) e de massa de ovos (IMO) de *M. incognita* raça 2 em bananeira 'Prata Anã' infestadas com diferentes níveis populacionais, em cinco substratos com diferentes fertilidades.

Substrato	Níveis de inóculo							
	0		2.000		10.000		50.000	
	IMG	IMO	IMG	IMO	IMG	IMO	IMG	IMO
1	0	0	4,0	2,4	4,1	2,8	3,4	2,0
2	0	0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
3	0	0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
4	0	0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
5	0	0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Tabela 2 - Massa seca (g) da parte aérea de plantas de bananeira infestadas e não infestadas por *M. incognita* raça 2, número de nematoides por grama de raiz, número total de nematoides do solo e raiz e fator reprodutivo (FR) em diferentes níveis populacionais aos 135 após a inoculação, em cinco substratos.

Substrato	Níveis de inóculo			
	0	2.000	10.000	50.000
Massa seca da parte aérea				
1	75,9 Aa	80,1 Aa	77,6 Aa	43,4 Ba
2	11,8 Ac	9,5 Ac	11,4 Ac	11,9 Ab
3	11,1 Ac	9,8 Ac	15,0 Ac	11,9 Ab
4	36,5 Ab	31,3 Ab	35,9 Ab	34,0 Aa
5	36,4 Ab	31,0 Ab	34,1 Ab	32,2 Aa
CV = 37 %	F(sub.) = 112,8**	F(nív.) = 3,51*	F(sub. x nív.) = 3,12**	
Número de nematoides / g raiz				
1	0 Aa	179 Ad	287 Ac	158 Ac
2	0 Ba	7.556 Abc	4.888 Ab	6.200 Ab
3	0 Ba	6.362 Ac	6.318 Ab	3.966 Ab
4	0 Ca	27.544 Aa	19.252 ABa	18.209 Ba
5	0 Ba	16.059 Aab	8.319 Ab	16.491 Aa
CV = 41 %	F(sub.) = 47,3**	F(nív.) = 81,9**	F(sub. x nív.) = 6,26**	
Número total de nematoides				
1	0 Aa	57.826 Ab	87.323 Ac	28.218 Ab
2	0 Ba	653.018 Ab	421.767 Abc	503.531 Ab
3	0 Ba	704.982 Ab	563.337 Abc	236.244 ABb
4	0 Ca	5.711.725 Aa	5.096.881 ABa	3.418.624 Ba
5	0 Ca	3.502.567 Aa	1.535.515 Bb	2.987.529 ABa
CV = 54 %	F(sub.) = 43,7**	F(nív.) = 51,7**	F(sub. x nív.) = 5,68**	
FR				
1	-	28,9 Ad	8,7 Ac	0,6 Aa
2	-	326,5 Ac	42,2 Bbc	10,1 Ba
3	-	352,5Ac	56,3 Bbc	4,7 Ba
4	-	2.855,9Aa	509,7 Ba	68,4 Ca
5	-	1.751,3 Ab	153,5 Bb	59,7 BCa
CV = 50 %	F(sub.) = 49,3**	F(nív.) = 162,9**	F(sub. x nív.) = 17,3**	

concluir que o substrato 1, o mais fértil dos substratos estudados, proporcionou melhor observação dos danos causados pelo nematoide *M. incognita* raça 2, quando avaliada a massa seca da parte aérea. Embora nos demais substratos (2, 3, 4 e 5) a população do nematoide tenha mostrado maior FR, os danos causados por *M. incognita* raça 2 não foram visualizados. Diversas referências bibliográficas comprovam a patogenicidade de *M. incognita* em diferentes cultivares de bananeira (Brooks, 2004; Jonathan & Rajedran, 2000), entretanto a cultivar Prata Anã tem sido designada como moderadamente resistente (Boas *et al.*, 2002; Tenente *et al.*, 2000). Quanto à resistência moderada de 'Prata Anã', é necessário que algumas considerações sejam feitas.

De acordo com Boas *et al.* (2002), a cultivar Prata Anã, clone CPA 54 mostrou diferença estatística nos parâmetros de massa da raiz (inoculada: 206 g; não inoculada: 269 g) e da parte aérea entre plantas inoculadas (inoculada: 264 g; não inoculada: 371 g) com 20.000 ovos e juvenis de *M. incognita* raça 2. Entretanto, o FR do nematoide foi baixo nesta cultivar (FR = 0,199). Segundo a definição de resistência proposta por Dropkin & Nelson (1960) tal cultivar deveria ser designada como intolerante a *M. incognita* raça 2, uma vez que proporcionaram baixa multiplicação do nematoide. No entanto, apresentaram menor desenvolvimento da parte aérea que plantas não inoculadas. Se for seguido a proposta de Cook & Evans (1987), a cultivar Prata Anã deveria ser designada

como resistente e sensível a *M. incognita* raça 2.

Tenente *et al.* (2000) estudaram várias cultivares de bananeiras em relação a *M. incognita*, analisando apenas o FR do nematoide, constataram que tais cultivares apresentaram reações variadas a este nematoide, sendo 'Prata Anã 54' considerada moderadamente resistente, quando inoculada com 20.000 nematoides. Apesar de Boas *et al.* (2002) e Tenente *et al.* (2000) apontarem dados comprovando a tolerância de bananeira 'Prata Anã' a nematoides em condições controladas, existem relatos de áreas restritas onde as espécies de *Meloidogyne* parasitam esta cultivar em condições de campo, como por exemplo, no norte de Minas Gerais (Dias *et al.*, 2001).

De acordo com Cofcewicz *et al.* (2004), a discrepância dos resultados obtidos por diferentes autores pode estar relacionada à variabilidade genética, ao tempo de avaliação do experimento após a inoculação e aos diferentes níveis de inóculo utilizados nos diversos trabalhos, interferindo diretamente no FR. Os autores do presente trabalho concordam com tal argumento e ressaltam a importância da variabilidade genética nas cultivares comercializadas, uma vez que informações sobre os clones de origem, rotineiramente, não são fornecidas ao agricultor.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Prof. Marta Maria Mischan (Departamento de Bioestatística, FMVZ – UNESP, Botucatu SP), pela orientação nas análises estatísticas.

Literatura Citada

- AGRIANUAL - Anuário da Agricultura Brasileira. 2005. São Paulo, p. 220-229.
- ARAYA, M., R. VARGAS & A. CHEVES. 1999. Nematode distribution in roots of banana (*Musa* AAA cv. Valery) in relation to plant height, distance from the pseudostem and soil depth. *Nematology*, 1 (7): 711-716.
- BOAS, L.C.V., R.C.V. TENENTE., V. GONZAGA., S.P. SILVA NETO & H.S. ROCHA. 2002. Reação de clones de bananeira ao nematóide *Meloidogyne incognita* raça 2. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24 (3): 690-693.
- BORGES, A.L. 1998. A Cultura da Bananeira. 2ª. ed. Embrapa SPI e Embrapa CNPMP, Brasília (DF) e Cruz das Almas (BA), 94 p.
- BROOKS, F.E. 2004. Plant parasitic nematodes of banana in American Samoa. *Nematropica*, 34 (1): 65-72.
- CAVALCANTE, M.J.B, D.S, SHARMA & J.E. CARES. 2005. Nematóides associados a genótipos de bananeira em Rio Branco. *Nematologia Brasileira*, 29 (1):91-94.
- COFCEWICZ, E.T., R.M.D.G. CARNEIRO., P. CASTAGNOSE-SERENO & P. QUÉNEHÉRVÉ. 2004a. Reação de cultivares de bananeira a diferentes espécies de nematóides das galhas. *Nematologia Brasileira*, 28 (1): 11-32.
- COOK, R. & EVANS. 1987. Resistance and tolerance. In: BROWN, R.H. & B.R. KERRY. (ed). *Principles and Practice of Nematode Control in Crops*. Academic Press, p.179-231.
- COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A Method for Quantitative Extration of Nematodes from Plant Tissue. State Nematology Research Station, Merebelke (Bélgica), 77 p.
- COSTA, D.C. 2000. Doenças causadas por nematóides. In: CORDEIRO, Z.J. (ed). *Banana e Fitossanidade: Frutas do Brasil*. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas BA, p. 66-77.
- COSTA, D.C., S.O. SILVA., F.R. ALVES. 1998. Reação de genótipos de bananeira (*Musa* spp.) a *Radopholus similis* e *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira*, 22 (2): 49-57.
- COSTA, D. da C., S.O. SILVA., F.R. ALVES & A.C. SANTOS. 1997. Avaliação de danos e perdas à bananeira cv. Nanica causados por *Meloidogyne incognita* na região de Petrolândia-PE. *Nematologia Brasileira*, 21 (1): 21.
- DAVIDE, R.G. 1992. Influence of cultivars, age, soil texture, and pH on *Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis* in banana. *Philippine Agriculture and Resources Research Foundation*, p. 65-70.
- DAVIDE, R.G. & L.Q. MARASIGAN. 1992. Yield loss assessment and evaluation of resistance of banana cultivars to the nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne incognita*. *Philippine Agriculture and Resources Research Foundation*, p. 79-93.
- DIAS, M.S.C. & P.M. RIBEIRO JÚNIOR. 2001. Nematoides na Bananicultura. In: SIMPÓSIO NORTE MINEIRO SOBRE A CULTURA DA BANANA, I, Nova Porteira. Resumos, p. 279.
- DROPKIN, V.H., & P.E. NELSON. 1960. The histopathology of root-knot nematode infections in soybeans. *Phytopathology*, 50: 442.
- ESBENSHADE, P.R. & A.C. TRIANTAPHYLLOU. 1985. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). *Journal of Nematology*, 17: 6-20.
- FALLAS, G.A., J.L. SARAH & M. FARGETTE. 1995. Reproductive and pathogenicity of eight *Radopholus similis* isolates on banana plants (*Musa* AAA cv. Poyo). *Nematropica*, 25 (2): 135-141.
- FIGUEIREDO, F.P., F.G. OLIVEIRA. & M.C.T. PEREIRA. 2005. Efeitos de diferentes lâminas de irrigação na produtividade da bananeira 'Prata Anã' cultivada no norte de Minas Gerais. *Revista Ceres*, 52 (301): 429-433.
- FOGAIN, R. & S.R. GOWEN. 1997. Damage to roots of *Musa* cultivars by *Radopholus similis* with and without

- protection of nematodes. *Nematropica*, 27: 27-32.
- GONÇALVES, W. 1998. Efeito de diferentes níveis de inóculo na avaliação precoce da reação do cafeeiro a *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira*, 2 (1):75-78.
- GONZAGA, V., D.C. COSTA., R.C.V. TENENTE & A.L. BARBARÁ. 1999. Fitonematóides na cultura da bananeira. *Informe Agropecuário*, 20 (196): 63-66.
- GOWEN, S.R. & P. QUÉNÉHERVÉ. 1990. Nematodes parasites of banana, plantains and abaca. In: LUC, M., R.A. SIKORA. & J. BRIDGE (ed). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical Agriculture*. CAB International, Wallingford, p. 431-460.
- GRAMMATIKAKI, G., E.A. TZORTZAKAKIS. 1998. Reproduction of populations of *Meloidogyne* species on *in vitro* produced banana plantlets. *Nematologia Mediterranea*, 26 (2): 161-163.
- HAHN, M.L., J.L. SARAH., M. BOISSEAU., N.J. VINES., D.J. WRIGHT. & P.R. BURROWS. 1996. Reproductive fitness and pathogenicity of selected *Radopholus* populations on two banana cultivars. *Plant Pathology*, 45 (2): 1-9.
- HARTMAN, K.M & SASSER, 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. In: BRAKER, K.R, C.C. CARTER & J.N. SASSER (ed). *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 2. North Carolina State University Graphics, Raleigh (NC) EUA, p. 69-77.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifuga-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48: 692.
- JONATHAN, E.I., G. RAJEDRAN. 2000. Assessment of avoidable yield loss in banana due to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Indian Journal of Nematology*, 30: 162-164.
- KHEIR, A.M., A.W. AMINH.H., HENDY & M.S. MOSTAFA. 2004. Interrelationships between certain banana cultivars and *Meloidogyne incognita* under stress of different inoculation levels. *Pakistan Journal of Nematology*, 22 (1): 91-102.
- MALAVOLTA, E., G.C. VITTI. & S.A. OLIVEIRA. 1997. Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba SP, 319 p.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededelingen Landbouwhogeschool*, 66: 3-46.
- PEIXOTO, J.R. 1991. Melhoramento do pimentão (*Capsicum annum* L.) visando a resistência aos nematóides do gênero *Meloidogyne* spp. (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras MG, 103 p.
- PINTO, A.C.B.V., M. BORZUK., A.I.M SOUZA., R.C.V. TENENTE., S.P. SILVA NETO & O.A. CARRIJO. 2005. Busca de clones de bananeira com resistência ao nematóide *Meloidogyne incognita*. *Summa Phytopathologica*, 31 (S): 176-177.
- RAJEDRAN. G., I. CANNAYANE & N. SHOBANA. 2001. Pathogenicity of *Radopholus similis* on banana cv. Robusta. *Research on Crops*, 2 (2): 185-186.
- SARAH, J.L., C. SABATINI & M. BOISSEAU. 1993. Differences in pathogenicity to banana (*Musa* spp. cv. Poyo) among isolates of *Radopholus similis* from different production areas of the world. *Nematropica*, 3 (1): 75-79.
- SILVA, J.T.A., A.L. BORGES., J.G. CARVALHO & J.F.A. DAMASCENO. 2003. Adubação com potássio e nitrogênio em três ciclos de produção da bananeira cv. Prata Anã. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25 (1): 152-555.
- TENENTE, R.C.V., L.V. BOAS, V. GONZAGA & G.F. SANT'ANA. 2000. Resistência de clones de bananeira ao nematóide *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira*, 24 (1): 121-122.

Efeito de Bactérias Endofíticas sobre *Meloidogyne javanica* e Métodos de Inoculação em Tomateiro

Alisson S. de Oliveira*, Vicente P. Campos, Juliana R.C. Silva, Márcia S. Oliveira & Ricardo Magela de Souza

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Fitopatologia, C. Postal 3037,
37200-000, Lavras (MG) Brasil.

*Autor para correspondência: alissonso@hotmail.com

Editado por Luiz Carlos Ferraz

Recebido em 08 / 05 / 2008. Aceito em 10 / 09 / 2008

Resumo - Oliveira, A.S., V.P. Campos, J.R.C. Silva, M.S. Oliveira & R.M. Souza. 2009. Efeito de bactérias endofíticas sobre *Meloidogyne javanica* e métodos de inoculação em tomateiro.

Objetivou-se avaliar, *in vitro*, o efeito dos filtrados de 14 isolados bacterianos endofíticos, obtidos de plantas de tomate e pimentão, sobre a motilidade e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne javanica* e, *in vivo*, o efeito de filtrados de oito isolados na redução dos números de galhas e de ovos do nematoide em casa de vegetação, além de se comparar três métodos de inoculação. Cultivaram-se as bactérias em meio *tryptic soy agar* (TSA) por 2 dias a 28 °C. Em seguida, obtiveram-se suspensões bacterianas, por meio da adição de 4 ml de água destilada e esterilizada à cultura e realização de esfregaço com auxílio de alça de Drigalski. Filtraram-se as suspensões bacterianas em membrana *millipore* de 0,22 µm de abertura. Colocaram-se cerca de 20 µl de cada suspensão por célula da placa Elisa e nela adicionaram-se aproximadamente 25 J₂ de *M. javanica*. Após 24 horas, com manutenção da temperatura constante a 28 °C, foram contados os números de J₂ mortos. Entre os 14 isolados bacterianos endofíticos estudados, cinco mereceram destaque por proporcionarem mortalidade de J₂ superior a 90 %, a saber, *Acinetobacter johnsonii* (Tom 1), *Bacillus pumilus* (Pim 12), *A. johnsonii* (Tom 10), *A. johnsonii* (Tom 9) e Tom 2. Em casa de vegetação, testaram-se oito isolados e três métodos de inoculação: microbilitação de sementes, irrigação de substrato com isolado bacteriano endofítico e bacterização de raízes. Quinze dias após a semeadura, adicionaram-se 400 ovos de *M. javanica* em suspensão aquosa ao redor de cada plântula. Trinta dias após a infestação do substrato com o nematoide, contaram-se os números de galhas e de ovos por grama de raízes. Todos os isolados testados diferiram da testemunha quanto ao número de galhas por grama de raízes, com percentuais de redução entre 20,33 e 59,20 %, bem como variação entre 43,21 e 72,82 % para o número de ovos por grama de raízes. A bacterização de raízes reduziu tanto o número de galhas como de ovos do nematoide, sendo tido como o melhor método entre os testados.

Palavras chaves: bactérias endofíticas, *Meloidogyne javanica*, controle biológico.

Summary - Oliveira, A.S., V.P. Campos, J.R.C. Silva, M.S. Oliveira & R.M. Souza. 2009. Effect of endophytic bacteria on *Meloidogyne javanica* and inoculation methods in tomato.

This work aimed to assess, *in vitro*, the effect of filtrates of 14 endophytic bacterium isolates obtained from tomato and pepper roots on the motility and mortality of second-stage juveniles (J₂) of *Meloidogyne javanica* and, *in vivo*, their effect on the numbers of tomato root galls and *M. javanica* eggs when three inoculation methods were used and compared. The bacteria were cultivated in tryptic soy agar (TSA) medium per 2 days at 28 °C. The suspensions were obtained by adding 4 ml of sterilized distilled water to the culture and rubbing the medium surface with Drigalski rods. The suspensions were filtrated in millipore membranes of 0.22 µm for pore opening. 20 µl of the bacterium suspension was poured into each cell of Elisa plate plus 25 J₂ of *M. javanica*. They were maintained at 28 °C for 24 hours and then the number of dead J₂ was counted. Five out of

14 endophytic bacterium isolates tested caused mortality of J_2 above 90 %, i.e., *Acinetobacter johnsoni* (Tom 1), *Bacillus pumillus* (Pim 12), *A. johnsoni* (Tom 9), *A. johnsoni* (Tom 10) and Tom 2. Under greenhouse conditions, eight endophytic bacterium isolates and three inoculation methods (microbilization of tomato seeds, irrigation of the substratum with endophytic bacterium filtrates and bacterization of tomato roots) were tested. Fifteen days after seeding, 400 *M. javanica* eggs in water suspension were placed around each seedling. Thirty days after substratum infestation with J_2 , the numbers of galls and eggs per gram of root were assessed. All tested isolates, except for *B. pumilus* (Tom 3), significantly differed from control based on the reduction in the numbers of galls and nematode eggs per gram of root, with values ranging respectively from 20.33 to 59.20 % and 43.21 to 72.82 %. The bacterization of roots, which reduced both the number of galls and of nematode eggs, was considered the best method.

Key words: endophytic bacteria, *Meloidogyne javanica*, biological control.

Introdução

A busca por táticas de controle ambientalmente sustentáveis, como a utilização de inimigos naturais de fitonematóides, tem sido enfatizada por vários pesquisadores; entretanto, os resultados ainda são insatisfatórios no campo, como por exemplo no caso de organismos predadores e parasitas de fitonematóides (Zacheo, 1993). Dessa forma, necessita-se ampliar estudos com outros organismos. Uma possibilidade bastante promissora consiste na utilização de bactérias endofíticas que, em princípio, podem ser empregadas diretamente no campo ou na produção de novas substâncias nematicidas. Os primeiros relatos consideravam as bactérias endofíticas como contaminantes resultantes da desinfestação superficial incompleta ou patógenos latentes (Hollis, 1951; Thomas & Graham, 1952). Porém, as bactérias endofíticas já foram detectadas em várias espécies de plantas e em diferentes tecidos. De Bóer e Coperman (1974) estudaram a população endofítica bacteriana da batata e isolaram vários gêneros bacterianos de tubérculos e hastes, sendo que *Micrococcus*, *Pseudomonas* e *Bacillus* foram os mais freqüentemente encontrados. Também Samish *et al.* (1963) encontraram vários gêneros de bactérias, com maior freqüência dentro de frutos de tomate, pepino, ervilha e feijão verde e, com menor freqüência, em melão e banana. Gardner *et al.* (1982) isolaram *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium* e *Serratia* do fluido xilemático de raízes de citros.

Pesquisas mais recentes têm demonstrado que bactérias endofíticas podem promover tanto o crescimento de plantas como reduzir sintomas

causados por diversos fitopatógenos (Van Peer e Schipper 1989; Frommel *et al.* 1991; Kloepper *et al.* 1992; Pleban *et al.*, 1995). Os efeitos nematicida e nematostático de filtrados de culturas bacterianas foram inicialmente demonstrados por Lizuka *et al.* (1962) trabalhando com 134 isolados de *Pseudomonas*, dos quais 69 mostraram forte atividade nematicida contra *Meloidogyne* sp. Os mesmos autores demonstraram que filtrados de cultura de nove isolados de *Enterobacter* apresentaram alta atividade nematicida. Filtrados de cultura de *Bacillus cereus* Frankland & Frankland, crescida em meio *tryptic soy broth*, mostraram atividade nematicida a juvenis do segundo estágio (J_2) e ovos de *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 (Oka *et al.*, 1993). Carneiro *et al.* (1998) testaram 21 isolados de *Bacillus* spp. em J_2 de *M. javanica* em ensaios *in vitro*. A cultura total e o sobrenadante de *Bacillus thuringiensis brasiliensis* Berliner e *B. lateosporus* Laubarch mataram J_2 recém eclodidos após 24 e 48 h, enquanto *B. thuringiensis aizawai* Heimpel, *B. thuringiensis morrisoni* Bonnefoi & Barjac e *B. circulans* Jordan causaram apenas imobilização ou redução de movimento dos juvenis.

Dessa forma, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito *in vitro* de filtrados bacterianos endofíticos obtidos de plantas de tomate e pimentão, sobre a motilidade e mortalidade de J_2 de *M. javanica*, e, *in vivo*, sobre os números de galhas e de ovos desse nematoide em casa de vegetação, bem como comparar três métodos de inoculação: microbilização de sementes, irrigação de substrato com isolado bacteriano endofítico e bacterização de raízes.

Material e Métodos

As bactérias endofíticas foram isoladas de plantas de tomate e pimentão. As raízes sadias foram cuidadosamente lavadas em água de torneira para eliminar o solo aderido. A seguir foram transferidas para frascos contendo solução tampão fosfato-potássio (PB) 0,02 M esterilizada (pH 7,0) e submetidas a agitação vigorosa em agitador orbital por 1 hora, sendo essa operação repetida 4 vezes, após troca da solução PB. Em câmara de fluxo laminar, procedeu-se à desinfestação superficial das raízes com álcool 50 % por 30 segundos e hipoclorito de sódio 1 % por 3 minutos, seguida de três lavagens de 1 minuto em solução PB. Para desalojar da superfície bactérias epifíticas remanescentes, as raízes foram então transferidas para frascos contendo solução PB esterilizada e submetidas a banho de ultrassom por 10 minutos. Nova desinfestação superficial das raízes foi feita com hipoclorito de sódio 1 % por 3 minutos, seguida de três lavagens em solução PB esterilizada. A seguir, as raízes foram novamente transferidas para frascos contendo solução PB esterilizada e submetidas a um banho de ultrassom por 10 minutos. A trituração das raízes foi feita em almofariz e pistilo esterilizados contendo PB e o triturado foi submetido a um banho de ultrassom por 10 minutos para desagregação das partículas e células bacterianas. Procedeu-se à homogeneização do triturado e posterior diluição em série em solução PB com fator de diluição 1 : 10. Retiraram-se, então, alíquotas de 100 µl das diluições 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, que foram transferidas para placas de Petri contendo meio *tryptic soy agar* (TSA - Difco®) e espalhadas com auxílio de alça de Drigalski. Foram preparadas cinco placas para cada diluição, que foram mantidas a 28 °C durante 48 horas em câmara de crescimento. Após esse tempo, as colônias bacterianas que apresentavam características morfológicas diferentes dentro de uma mesma amostra foram repicadas em meio TSA pelo método de estrias em T, para obtenção de colônias isoladas. Posteriormente, foram transferidas para tubos de ensaio com TSA inclinado e conservadas em câmara fria a 10 °C, sendo realizadas repicagens periódicas.

Para verificar a eficiência da desinfestação superficial das raízes, após cada banho de ultrassom,

como controle, alíquotas de 100 µl da solução de PB utilizada para aquela operação foram transferidas para placas de Petri contendo meio TSA, que foram incubadas nas mesmas condições descritas para as placas preparadas com as diluições dos triturados. Não havendo crescimento bacteriano nessas placas dentro de 48 horas, os isolados obtidos pela trituração das raízes foram considerados endofíticos.

Na identificação dos isolados, utilizou-se a análise de ésteres metílicos dos ácidos graxos (EMAG) (De Boer & Sasser, 1996; Gitaitis & Beaver, 1990; Rizzo *et al.*, 1987) das culturas bacterianas, seguindo sistema desenvolvido na Universidade de Auburn (Alabama, EUA), utilizando-se cromatógrafo a gás acoplado a computador com base de dados de 1.300 espécies de gêneros endofíticos, além de 4.500 de solo. Na preparação para a análise EMAG, os isolados bacterianos congelados foram repicados para TSA, incubados por 24 horas a 28 °C, observada a pureza de cada cultura. Alça plástica com extremidade em círculo foi usada para raspar a superfície da colônia, retirando-se uma porção completa do círculo contendo 40 mg, que foi colocada no fundo do tubo de vidro. A saponificação foi conduzida pela adição, em cada tubo, de 1,0 ml de reagente saponificante (45 g de hidróxido de sódio, 150 ml de metanol, 150 ml de água deionizada), agitado por 10 segundos, novo aquecimento por 25 minutos em banho-maria a 100 °C, agitado novamente por 10 segundos e novo aquecimento por 25 minutos. Os tubos foram então resfriados em água à temperatura ambiente. A metilização foi conseguida pela adição de 2,0 ml de reagente (325 ml de 6 N de HCl, mais 275 ml de metanol) no mesmo tubo, agitado por 10 segundos e aquecido por 10 minutos em banho-maria a 80 °C. Após o resfriamento em temperatura ambiente, os EMAG foram removidos da fase aquosa ácida e transferidos para a fase orgânica pela adição de 1,25 ml de extratos solventes [200 ml de hexano, 200 ml éter metil butil terciário (EMBT)], misturados em agitador rotatório por 10 minutos, descartando-se a fase aquosa inferior com pipeta Pasteur. A fase orgânica foi lavada em 3 ml da solução básica (10,8 g NaOH, 900 ml de água deionizada) sob agitação em agitador rotatório por 5 minutos. Dois terços da fase

solvente superior foram removidos para análise EMAG. As amostras foram estocadas a - 20° C até o momento da análise no cromatógrafo a gás.

Os EMAG foram analisados em um cromatógrafo a gás da marca Hewlett-Packard série II modelo 5890®, equipado com uma coluna capilar de fenil metil silicone. As amostras foram processadas com um sistema de identificação microbiana (SIM) da MIDI® (Newark, DE EUA), que calibrou o cromatógrafo a gás com uma mistura EMAG comercial antes de processar as amostras e após o processamento de dez delas. Os picos EMAG foram determinados pelo programa SIM e os isolados foram identificados, sempre que possível, usando a “Biblioteca Aeróbica” do SIM.

Para a realização do ensaio *in vitro*, 14 isolados bacterianos endofíticos (Tabela 1), dos quais dois obtidos de tomateiro não completamente identificados (Tom 2 e Tom 4), foram cultivados em placas de Petri contendo o meio TSA por 2 dias, a 28 °C. Em seguida, obtiveram-se suspensões bacterianas, através da adição de 4 ml de água destilada e esterilizada às placas com crescimento bacteriano e realização de um esfregaço com auxílio de alça de Drigalski. As suspensões bacterianas obtidas foram filtradas em membrana millipore de 0,22 µm de diâmetro de poro, com o auxílio de uma bomba de

sucção a vácuo. Por esse processo, obtiveram-se os filtrados bacterianos, que foram armazenados em *freezer* até o momento de utilização.

Os ovos de *M. javanica* foram extraídos de raízes de tomateiro ‘Santa Clara’ cultivado em casa de vegetação como proposto por Hussey e Barker (1973). Para tanto, raízes de tomateiro com galhas foram cuidadosamente lavadas com água de torneira em bandeja e, em seguida, cortadas em pedaços de 0,5 cm de comprimento e trituradas em liquidificador com aproximadamente 200 ml de hipoclorito de sódio 0,5 % por 1 minuto. Após a trituração, a suspensão foi vertida em um conjunto de peneiras dispostas na seguinte seqüência de abertura de malha: 0,5 mm sobre 0,18 mm sobre 0,025 mm. O material retido na peneira de 0,025 mm de abertura foi coletado num béquer com auxílio de pisseta com água. Para a obtenção dos J₂, a suspensão de ovos, obtida conforme descrito acima, foi colocada em câmara de eclosão preparada em funil de vidro com diâmetro de 15 cm. Uma tela metálica foi colocada no fundo do funil e coberta com papel extra-fino em folhas duplas. Sobre a tela metálica foram adicionadas aproximadamente 50 ml de suspensão de ovos e, após 24 horas, foi coletada a suspensão de J₂.

Para a montagem do ensaio *in vitro*, em cada célula da placa tipo Elisa, foram colocados 20 µl de uma

Tabela 1 - Efeito de isolados bacterianos endofíticos na motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos (isolados)	Motilidade (%)	Mortalidade (%)
Testemunha (Água)	97,68 f	2,32 a
Testemunha (TSA)	80,30 e	19,70 b
<i>Bacillus megaterium</i> (Tom 7)	78,47 e	21,53 b
<i>Staphylococcus aureus</i> (Pim 18)	26,50 c	11,78 b
<i>Bacillus subtilis</i> (Pim 19)	15,93 b	12,60 b
<i>Pseudomonas putida</i> (Pim 17)	49,93 d	23,78 b
<i>Paenibacillus macerans</i> (Pim 15)	0,00 a	30,45 c
Tom 4	0,00 a	49,82 c
<i>Bacillus pumilus</i> (Tom 8)	29,83 c	62,51 d
<i>Bacillus cereus</i> (Pim 13)	0,00 a	68,53 d
<i>Bacillus pumilus</i> (Tom 3)	0,67 a	76,03 d
Tom 2	0,00 a	91,17 e
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 1)	0,00 a	94,23 e
<i>Bacillus pumilus</i> (Pim 12)	0,00 a	100,00 e
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 10)	0,00 a	100,00 e
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 9)	0,00 a	100,00 e

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott & Knott a 5 % de probabilidade.

suspensão contendo de 20 a 30 J₂ de *M. javanica*, 100 µl de filtrado bacteriano e 30 µl de uma suspensão aquosa de pentabiótico a 3.000 ppm. Como testemunhas foram utilizadas água e uma suspensão aquosa de TSA. Após 24 horas a 28 °C, com auxílio de estereoscópio, contaram-se os números de J₂ imobilizados e mortos, utilizando-se 6 repetições. Foram considerados mortos os nematoides que, após realização do teste de KOH (Chen *et al.*, 2000), não apresentaram movimentos. O ensaio foi montado em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram transformados em percentagem e submetidos à análise de variância, ao nível de 5 % de significância.

Para a realização do ensaio *in vivo*, os isolados de bactérias endofíticas preservados em meio líquido peptona-glicerol em freezer, a - 80 °C, foram transferidos para placas de Petri contendo meio TSA e colocados a 28 °C em câmara de crescimento (BOD). Após 48 horas, foram preparadas suspensões com os isolados bacterianos, adicionando-se água destilada às placas e homogeneizando-as com auxílio de alça de Drigalski. A concentração das suspensões foi ajustada, em espectrofotômetro, para T580 nm – 20 %. A inoculação com bactérias endofíticas pela microbilização foi feita em sementes de tomateiro ‘Santa Clara’, desinfestadas superficialmente por imersão em hipoclorito de sódio 1 % durante 5 minutos e enxaguadas três vezes em água destilada esterilizada. Após secagem com auxílio de papel de filtro, as sementes foram imersas nas suspensões bacterianas por 30 minutos e semeadas em tubetes de polietileno de 50 cm³ contendo substrato Plantmax. Colocaram-se quatro sementes por célula, sendo feito o desbaste 7 dias após a semeadura, deixando-se uma plântula por célula. Para o método de irrigação do substrato, distribuíram-se 10 ml de suspensão bacteriana por célula. Após a homogeneização do substrato, quatro sementes de tomateiro ‘Santa Clara’ desinfestadas superficialmente foram semeadas em cada célula, sendo feito desbaste 7 dias após a semeadura, deixando uma plântula por célula. Finalmente, para o método de bacterização de raízes, as mudas foram obtidas de sementes de tomate desinfestadas. As sementes foram semeadas em bandejas de plástico contendo areia autoclavada a

120 °C durante 2 horas. As bandejas foram colocadas em casa de vegetação, protegidas por sombrite, e irrigadas diariamente até se completarem 15 dias, quando as mudas se encontravam com duas folhas verdadeiras. As plântulas foram cuidadosamente retiradas da areia e suas raízes colocadas em suspensões bacterianas por 30 minutos. A seguir, foi transplantada uma muda por célula de 50 cm³ contendo substrato Plantmax.

Os ovos de *M. javanica* foram obtidos como descrito anteriormente. A suspensão de ovos foi quantificada sob estereoscópio e o volume ajustado para 200 ovos por ml. Quinze dias após a inoculação com bactérias, 400 ovos de *M. javanica* em suspensão aquosa foram colocados em cada célula, através de dois orifícios feitos no substrato, próximos ao colo da plântula, em lados opostos, com auxílio de bastão de vidro. Trinta dias após a infestação do substrato com o nematoide, contaram-se os números de galhas e de ovos do nematoide por grama de raízes. Para isto, os sistemas radiculares foram cuidadosamente lavados em água parada em bandeja. Após secagem, procedeu-se à contagem das galhas. Em seguida, as raízes foram cortadas em pedaços de 0,5 cm de comprimento e trituradas em liquidificador com cerca de 200 ml de hipoclorito de sódio 0,5 % por 1 minuto. Após a trituração, a suspensão foi vertida em um conjunto de peneiras (0,5 mm sobre 0,18 mm sobre 0,025 mm). O material retido na peneira de 0,025 mm foi coletado em recipiente de vidro com auxílio de pisseta com água e realizada a contagem dos ovos em câmara de Peters sob estereoscópio. O ensaio foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados em esquema fatorial 8 x 3, mais um tratamento adicional, constituído da testemunha, cujo substrato foi infestado apenas com o nematoide. Foram testados oito isolados bacterianos (Tabelas 2 a 4) e três métodos de inoculação de bactérias endofíticas: microbilização de sementes, irrigação do substrato e bacterização de raízes. Cada tratamento foi repetido seis vezes. Os dados obtidos foram transformados para raiz quadrada de x + 0,5, submetidos à análise de variância e as médias de cada tratamento foram agrupadas pelo teste de Scott & Knott (1974), ao nível de 5 % de significância.

Resultados e Discussão

Seleção de isolados bacterianos endofíticos através de testes *in vitro* e *in vivo*. No ensaio *in vitro*, no qual se avaliou o efeito dos filtrados bacterianos na motilidade e mortalidade de J₂ de *M. javanica*, os 14 isolados estudados propiciaram valores de motilidade reduzidos em relação aos das testemunhas (água e TSA). Com relação à mortalidade, dez isolados proporcionaram valores superiores aos das testemunhas após 24 horas, variando de 2,32 a 100 % (Tabela 1), sendo para cinco deles superiores a 90 %. As testemunhas (água e TSA), juntamente com os isolados *Bacillus megaterium* (Tom 7), *B. pumilus* (Pim 12), *Acinetobacter johnsonii* (Tom 9 e Tom 10), apresentaram complementariedade entre os valores de motilidade e mortalidade. Os demais isolados, *Staphylococcus aureus* (Pim 18), *Bacillus subtilis* (Pim 19), *Pseudomonas putida* (Pim 17), *Paenibacillus macerans* (Pim 15), Tom 4, *B. pumilus* (Tom 8), *Bacillus cereus* (Pim 13), *B. pumilus* (Tom 3), Tom 2 e *A. johnsonii* (Tom 1), não apresentaram valores complementares entre motilidade e mortalidade, evidenciando terem produzido substâncias que apenas inibiram temporariamente a motilidade dos J₂, pois no teste de KOH não se comprovou o estado de morte deles (Tabela 1).

Carneiro *et al.* (1998), trabalhando com isolados de *Bacillus*, observaram que *B. thuringiensis aizawai*, *B. thuringiensis morrisoni* e *B. circulans* causaram imobilização ou redução de movimento em J₂ recém eclodidos de *M. javanica*. A cultura total e o sobrenadante de *B. thuringiensis brasiliensis* e *B. lateosporus* mataram J₂ recém eclodidos após 24 e 48 horas. Lizuka *et al.* (1962), cultivando *Bacillus cereus* em meio TSB, demonstraram atividade nematocida a J₂ de *M. javanica*.

No ensaio *in vivo* em casa de vegetação, em que se determinaram os números de galhas e de ovos de *M. javanica*, todos os oito isolados proporcionaram redução significativa no número de galhas por grama de raízes em relação à testemunha, variando de 20,33 a 59,21 % (Tabela 2). Apenas *B. pumilus* (Tom 3) não diferiu da testemunha, enquanto os demais reduziram ($P \leq 0,05$) o número de ovos por grama de raízes, variando de 26,60 a 72,83 % (Tabela 2). Os isolados que mais se destacaram no conjunto dos testes *in vitro* e *in vivo* foram *B. pumilus* (Pim 12) e *A. johnsonii* (Tom

1, Tom 9 e Tom 10) (Tabelas 1 e 2).

Hallmann *et al.* (1995), trabalhando com bactérias endofíticas, relataram reduções de até 50 % no índice de galhas produzidas por *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 em pepino. Coimbra *et al.* (2005) observaram reduções entre 17,38 e 45,09 % no número de galhas por grama de raízes e 40,32 a 100 % no número de ovos de *M. javanica* por grama de raízes, em tomateiros cujas raízes foram bacterizadas com rizobactérias.

Além dos efeitos sobre nematoides, há relato de bactérias endofíticas selecionadas *in vitro* para o controle de *Ceratocystis fagacearum*, agente causal da murcha do carvalho, com redução de 39 % de plantas doentes (Brooks *et al.* 1994). Bactérias endofíticas também mostraram controle significativo de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) W.C. Snyder & H.N. Hans em algodoeiro (Chen *et al.* 1995), *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold e *Rhizoctonia solani* Kühn em batata (Nowak *et al.* 1995) e *R. solani* em algodoeiro (Pleban *et al.* 1995).

Comparação entre três métodos de inoculação com bactérias endofíticas. Não houve interação entre os três métodos de inoculação testados. Contudo, a bacterização de raízes e a microbilitação de sementes promoveram maior redução do número de galhas por grama de raízes quando comparados com a irrigação de substrato (Tabela 3). Quando utilizada a bacterização de raízes, os isolados que proporcionaram maiores reduções no número de galhas por grama de raízes foram *A. johnsonii* (Tom 9) e *B. pumilus* (Tom 6). Quando as sementes foram microbilitadas, os isolados Tom 3 e Tom 6 de *B. pumilus* apresentaram as maiores reduções do número de galhas por grama de raízes. Todavia, quando se utilizou o método de irrigação de substrato, o isolado que proporcionou maior redução do número de galhas por grama de raízes foi Tom 9 de *A. johnsonii* (Tabela 3).

Em relação à reprodução de *M. javanica* (Tabela 4), o método de bacterização de raízes promoveu sempre maior redução no número de ovos por grama de raízes de tomateiro, em comparação com os demais. *A. johnsonii* (Tom 1) foi o que mais reduziu a reprodução do nematoide por meio desse método de inoculação. Quando as sementes de tomateiro

Tabela 2 - Efeito de isolados bacterianos endofíticos sobre o número de galhas e de ovos de *Meloidogyne javanica* por grama de raízes de tomateiro.

Isolados	Número de galhas / g de raiz	Número de ovos / g de raiz
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 9)	2,77 a	3,05 a
<i>Bacillus pumilus</i> (Tom 6)	3,16 a	2,34 a
<i>Bacillus pumilus</i> (Tom 3)	3,25 a	6,32 b
<i>Bacillus pumilus</i> (Pim 12)	3,91 a	3,52 a
Tom 4	4,46 b	3,76 a
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 10)	4,53 b	4,12 a
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 1)	4,70 b	4,89 a
<i>Bacillus megaterium</i> (Tom 7)	5,41 b	3,65 a
Testemunha	6,79 c	8,61 c

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott & Knott a 5 % de probabilidade.

Tabela 3 - Número de galhas radiculares em tomateiro causadas por *Meloidogyne javanica* em função dos métodos de inoculação dos isolados bacterianos endofíticos.

Isolados	Métodos de inoculação		
	Bacterização de raízes	Microbilização de sementes	Irrigação de substrato
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 1)	2,56 a	6,54 b	5,00 b
<i>Bacillus pumilus</i> (Tom 3)	3,94 b	1,53 a	4,29 b
Tom 4	3,18 a	4,76 b	5,41 b
<i>Bacillus pumilus</i> (Tom 6)	2,44 a	1,61 a	5,44 b
<i>Bacillus megaterium</i> (Tom 7)	3,62 a	6,21 b	6,40 b
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 9)	2,09 a	3,03 a	3,19 a
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 10)	3,18 a	3,38 b	5,02 b
<i>Bacillus pumilus</i> (Pim 12)	3,50 a	2,47 a	5,76 b
Médias	3,07	3,69	5,07

Médias seguidas pela mesma letra, em cada linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott & Knott a 5 % de probabilidade.

Tabela 4 - Número de ovos de *Meloidogyne javanica* por grama de raízes de tomateiro em função dos métodos de inoculação dos isolados bacterianos endofíticos.

Isolados	Métodos de inoculação		
	Bacterização de raízes	Microbilização de sementes	Irrigação de substrato
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 1)	1,75 a	9,22 b	3,70 c
<i>Bacillus pumilus</i> (Tom 3)	2,66 a	8,40 b	7,89 b
Tom 4	2,37 a	3,07 a	5,84 b
<i>Bacillus pumilus</i> (Tom 6)	2,27 a	2,63 a	2,11 a
<i>Bacillus megaterium</i> (Tom 7)	2,49 a	4,49 a	4,48 a
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 9)	2,29 a	4,28 a	2,69 a
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (Tom 10)	4,20 a	5,44 a	2,74 a
<i>Bacillus pumilus</i> (Pim 12)	2,97 a	3,05 a	4,55 a
Médias	2,65	5,07	4,25

Médias seguidas pela mesma letra, em cada linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott & Knott a 5 % de probabilidade.

foram microbilizadas, as maiores reduções no número de ovos foram promovidas por *B. pumilus* (Tom 6 e Tom 12). Utilizando a irrigação do substrato, as maiores reduções ocorreram por meio de *B. pumillus* (Tom 6) e *A. johnsonii* (Tom 9).

Dessa forma, considerando-se tanto as reduções nos números de galhas como de ovos de *M. javanica*

por grama de raízes, o melhor método foi a bacterização de raízes. Em relação aos métodos testados, *B. pumilus* (Tom 6) sempre se destacou como o melhor isolado, tanto pela redução de galhas como de ovos, seguido por *A. johnsonii* (Tom 9). Entretanto, para *A. johnsonii* (Tom 1), o melhor método para avaliar a redução da reprodução de *M. javanica* foi a

bacterização de sementes, enquanto para *B. pumilus* (Tom 12) foi a microbilitação de sementes. Da mesma forma, para avaliação da redução do número de galhas pelo *B. pumilus* (Tom 3), o melhor método foi a microbilitação de sementes (Tabelas 3 e 4), concluindo-se que para algumas espécies bacterianas os métodos de inoculação têm eficácia variável.

Resultados semelhantes foram observados por Musson *et al.* (1995), que, testando vários métodos de inoculação de tecidos vegetais com bactérias endofíticas, concluíram que o método de inoculação é específico para cada isolado. Naves *et al.* (2002), trabalhando com 40 isolados de bactérias endofíticas, relataram reduções de até 58 % no número de galhas por grama de raízes produzidas por *M. javanica* e de 64 % no número de ovos por grama de raízes em plantas de tomateiro, não observando diferença significativa entre os métodos de inoculação (microbilitação de sementes e irrigação do substrato). Vale destacar que bactérias da rizosfera e do rizoplane também têm demonstrado potencial no controle de fitonematoides (Coimbra *et al.* 2005; Halman *et al.* 1995).

Portanto, os isolados de bactérias endofíticas tiveram efeito adverso sobre a formação de galhas e a reprodução de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro. A bacterização de raízes foi o melhor método de inoculação dos isolados bacterianos, causando redução tanto no número de galhas como de ovos do nematoide.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. Joseph Kloepper (Universidade do Alabama, EUA) pela identificação das espécies bacterianas endofíticas e pelo estágio concedido à Juliana Resende Campos Silva em seu laboratório. O primeiro autor agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de iniciação científica concedida.

Literatura Citada

BROOKS, D.S., C.F. GONZALES, D.N. APPPEL & T.H. FILER, 1994. Evolution of endophytic bacteria as potential biological control agent for oak wilt. *Biological Control*, 4 (3): 373-381.

CARNEIRO, R.M.D.G., I.S. SOUZA & L.C. BELARMINO 1998. Nematicidal activity of *Bacillus spp.* strains on juveniles of *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, 22 (1): 12-21.

COIMBRA, J.L., V.P. CAMPOS & R.M. SOUZA 2005. Rizobactérias antagonistas a *Meloidogyne javanica*. *Magistra*, 17 (2): 85-95.

CHEN, C., E.MBAUSKE, G. MUSSON, R. RODRÍGUEZ-KÁBANA & J.W. KLOEPPER 1995. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria. *Biological Control*, 5 (1): 83-91.

CHEN, J., G.S. ABAWI & B.M. ZUCKERMAN. 2000. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paeclomyces marquandii*, and *Streptomyces costaricanus* with and without organic amendments against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. *Journal of Nematology*, 32 (1): 70-77.

CHITWOOD, B.G. 1949. Root-Knot Nematodes-Part I. 1887. A revision of the genus *Meloidogyne* Goldi. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 16: 90-104.

DE BOER, S.H. & R.J. COPERMAN. 1974. Endophytic bacterial flora in *Solanum tuberosum* and its significance in bacterial ring rot diagnosis. *Canadian Journal of Plant Science*, 54 (1): 115-122.

DE BOER, S.H. & M. SASSER 1986. Differentiation of *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* and *E. carotovora* ssp. *atrasseptica* on the basis of fatty acid composition *Canadian Journal of Microbiology*, 3 (10): 796-800.

FROMMEL, M.I., J. NOWAK & G. LÁZAROVITS 1991. Growth enhancement and developmental modifications of in vitro grow potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) as affected by nonfluorescent *Pseudomonas sp.* *Plant Physiology*, 96 (3): 928-936.

GARDNER, J. M., A.W. FELDMAN & R.M. ZABLOTOWSCZ 1982. Identity and behavior of xylem-residing bacteria in rough lemon of Florida citrus trees. *Applied and Environmental Microbiology*, 43 (6): 1335-1342.

GITAITIS, R.D. & R.W.BEAVER 1990. Characterization of fatty acid methyl ester content of *Clavibacter michiganensis* susp. *Michiganensis*. *Phytopathology*, 80 (3): 318-321.

HALLMANN, J., J.W. KLOEPPER, R. RODRÍGUEZ-KÁBANA & R.A. SIKORA. 1995. Endophytic rhizobacteria as antagonists of *Meloidogyne incognita* in cucumber. *Phytopathology*, 85: 1136.

HUSSEY, R.S. & K.R. BARKER 1973. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne spp.* including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57: 1025-1028.

KLOEPPER, J. W., R. RODRÍGUEZ-KÁBANA, J. A. McINROY & R.W. YOUNG. 1992. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: Identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. *Plant and Soil*, 139 (1): 75-84.

- LIZUKA, H., T. KOMAGATA, Y. KUNII & M. SHIBUYA 1962. Nematocidal action of microorganisms. *Agricultural and Biological Chemistry*, 26 (2): 99.
- MUSSON, G., J.A. MCINROY & J.W. KLOPPER. 1995. Development of delivery systems for introducing endophytic bacteria into cotton. *Biocontrol Science and Technology*, 5 (2): 407-416.
- NAVES, R.L., V.P. CAMPOS & R.M. SOUZA. 2002. Antagonismo de bactérias endofíticas a formação de galhas e a reprodução de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, 26 (1): 13-19.
- NOWAK, J., S.K. ASIEDU, G. LAZAROVITS, V. PILAY, A. STEWART, C. SMITH & Z. LIU 1995. Enhancement of in vitro growth and transplant stress tolerance of potato and vegetables plantlets co-cultured with a plant growth promoting pseudomonad bacterium. In: CARRE, F. & P. CHAGVARDIEFF (ed). *Ecophysiology and Photosynthetic in Vitro Cultures*. Commissariat à L'Energie Atomique, France, p. 173-179.
- OKA, Y., L. CHET & Y. SPIEGEL. 1993. Control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. *Biocontrol Science and Technology*, 3 (2): 115-126.
- PLEBAN, S., F. INGEL & I. CHET 1995. Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in the greenhouse using endophytic *Bacillus spp.* *European Journal of Plant Pathology*, 101 (3): 665-672.
- RIZZO, A.F., H. KORKEALA & I. MONEN 1987. Gas chromatography analysis of cellular fatty acids and neutral monosaccharides in the identification of lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*, 53 (12): 2883-2888.
- SAMISH, Z., R. ETINGER-TULCZYNSKA & M. BICK 1963. The microflora within the tissue of fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 28 (3): 259-266.
- SCOTT, A., J. & M. KNOTT 1974. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30 (3): 507-512.
- VAN PEER, R. & B. SCHIPPERS. 1989. Plant growth responses to bacterization with selected *Pseudomonas spp.* strains and rhizosphere microbial development in hydroponic cultures. *Canadian Journal of Microbiology*, 35 (1): 456-463.
- ZACHEO, G. 1993. Introduction. In: KHAN, M.W. (ed). *Nematode Interactions*. Chapman & Hall, London, p. 1-25.

Efeito de Bactérias Endofíticas no Controle de *Meloidogyne incognita* e sua Capacidade de Colonização de Raízes de Tomateiro

Renata S.C. Pinho^{1*}, Vicente P. Campos¹, Ricardo Magela de Souza¹, Juliana R.C. Silva², Márcia S. Oliveira¹, Giselle C.S. Pimentel¹ & Lílian S.A.S. Costa¹

¹Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, C. Postal 3037, 37200-000 Lavras (MG) Brasil.

²Campos Carregal Pesquisa e Tecnologia Agrícola Ltda., Rua CL3, Quadra C, Lote 23 – Residencial Lausane, 75907-454 Rio Verde (GO) Brasil.

*Autora para correspondência: canutors@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 06 / 06 / 2008. Aceito em 29 / 09 / 2008

Editado por Claudio Marcelo Oliveira

Resumo – Pinho, R.S.C., V.P. Campos, R.M. Souza, J.R.C. Silva, M.S. Oliveira, G.C.S. Pimentel & L.S.A.S. Costa. 2009. Efeito de bactérias endofíticas no controle de *Meloidogyne incognita* e sua capacidade de colonização de raízes de tomateiro.

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito de bactérias endofíticas na reprodução de *Meloidogyne incognita* e sua capacidade de colonização de raízes de tomateiro, pela técnica do Phytigel[®]. Para isso, sementes de tomateiro foram microbiolizadas em suspensões bacterianas ajustadas para OD₅₄₀ = 0,5 por 24 horas. A seguir essas sementes foram semeadas em copos de 300 cm³ com substrato Plantmax[®]. Após quinze dias, as mudas foram inoculadas com 400 ovos de *M. incognita*. Trinta dias após a inoculação, avaliou-se o número de galhas, massas de ovos e ovos por grama de raiz. No ensaio de colonização, as sementes microbiolizadas em suspensões bacterianas foram colocadas para germinar em tubos de ensaio esterilizados contendo Phytigel[®]. Os tubos foram mantidos em câmara de crescimento sem luz, a 28 °C. As avaliações consistiram de inspeções diárias para detectar a formação do crescimento bacteriano. As espécies *Acinetobacter johnsonii* (T9 e T10), *Curtobacterium luteum* (P16), *Bacillus pumilus* subg. B (T27), *B. pumilus* (T26) e *B. amyloliquefaciens* (T36) proporcionaram o melhor controle de *M. incognita*, as quais também colonizaram as raízes de tomateiro.

Palavras chaves: controle biológico, nematóide das galhas, colonização de raízes.

Summary - Pinho, R.S.C., V.P. Campos, R.M. Souza, J.R.C. Silva, M.S. Oliveira, G.C.S. Pimentel & L.S.A.S. Costa. 2009. Effect of endophytic bacteria on the control of *Meloidogyne incognita* and their capacity of root colonization of tomato.

This work aimed to evaluate the effect of bacteria on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and their capacity to colonize the tomato root using the Phytigel[®] technique. Tomato seeds were embedded into bacterial suspension OD₅₄₀ = 0.5 for 24 hours. Then, the inoculated seeds were sown in 300 cm³ cups filled with Plantmax[®] substract. Fifteen days later, seedlings were inoculated with 400 eggs of *M. incognita*. Thirty days later, the numbers of galls, egg-masses and eggs per gram of roots were evaluated. For the colonization assay, the tomato seeds were embedded in bacterial suspension and then placed to germinate in sterile tubes with Phytigel[®]. The tubes were kept in growth chamber without light, at 28 °C. The tubes were checked daily for bacterial growth. The species that gave better control of *M. incognita* were: *Acinetobacter johnsonii* (T9 e T10), *Curtobacterium luteum* (P16), *Bacillus pumilus* subg. B (T27), *B. pumilus* (T26) e *B. amyloliquefaciens* (T36), which also colonized the tomato roots.

Key words: biological control, root-knot nematodes, root colonization.

Introdução

A busca por bactérias antagonistas a fitonematóides tem se intensificado nas últimas décadas, com maior ênfase para as endofíticas, já que têm capacidade de colonizar os tecidos internos do hospedeiro e promoverem o crescimento de plantas (PGPR) (Siddiqui *et al.* 2003). Vários métodos têm sido empregados no estudo *in vitro* da colonização de raízes por bactérias, como o uso de Phytigel® (Queiroz *et al.*, 2006), ágar Noble (Habe *et al.*, 2000) e ágar-ágar (Romeiro *et al.*, 1999). Devido à sua simplicidade, esses métodos facilitam a seleção de um grande número de isolados rizobacterianos (Queiroz *et al.*, 2006). Silva *et al.* (2003) constataram boa relação entre colonização de raízes e eficiência no controle de bactérias fitopatogênicas. Segundo Freitas (2003), para que uma rizobactéria seja eficiente em condições reais de cultivo, ela deve colonizar o sistema radicular da planta hospedeira e ser capaz de competir com bactérias nativas dos mais diversos tipos de solos.

Visando ampliar o conhecimento sobre o espectro de ação das bactérias endofíticas em estudo e investigar sua relação com raízes, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito dessas bactérias na reprodução de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e a relação desse antagonismo com a capacidade de colonização de raízes de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) pela técnica do Phytigel.

Material e Métodos

Efeito de isolados bacterianos endofíticos no número de galhas, massas de ovos e ovos por grama de raiz de tomateiro. Para realização dos ensaios foram utilizados 39 isolados ou espécies de bactérias endofíticas obtidas em trabalho anterior de Silva (2004), isoladas de caules e hastes de tomateiro e pimentão (*Capsicum annum* L.).

Preparo do inóculo bacteriano. Os isolados foram preservados em meio líquido peptona-glicerol em *freezer* a - 80 °C e transferidos para as placas de Petri contendo meio *Tryptic Soy Agar* (TSA) e incubados a 28 °C em câmara de crescimento (BOD). Após 48 horas, foram preparadas suspensões bacterianas, adicionando-se às placas solução salina de NaCl a 0,85 % e homogeneizando-as com uma alça de Drigalsky. A concentração das suspensões foi ajustada, em

espectrofotômetro, para $OD_{540} = 0,5$ (10^8 ufc / ml).

Obtenção dos ovos de *Meloidogyne incognita*. O inóculo foi preparado com suspensão de ovos de *M. incognita* extraídos de raízes de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. 'Kada'), mantidas em vaso contendo solo esterilizado, em condições de casa de vegetação, conforme metodologia de Hussey & Barker (1973).

Montagem e avaliação dos ensaios. Sementes de tomateiro 'Kada' foram esterilizadas superficialmente pela imersão em etanol (50 %) por 30 segundos, em seguida hipoclorito de sódio (2 %) por 3 minutos, seguidas de três lavagens em água esterilizada. Essas sementes foram microbiolizadas em 5 ml de cada suspensão bacteriana por 24 horas e colocadas para germinar em copos plásticos, com volume de 300 cm³, contendo substrato Plantmax®. Em seguida, os copos foram levados para sala climatizada com temperatura de 27 °C (± 2) e fotoperíodo de 12 h. Quinze dias após a semeadura, foram inoculados 400 ovos de *M. incognita* em solução aquosa em cada copo, em dois orifícios de 2 cm de profundidade no substrato, próximos ao colo da plântula, feitos com um bastão de vidro. Trinta dias após a infestação do substrato com os ovos do nematóide, avaliaram-se as seguintes variáveis: matéria fresca do sistema radicular, número de galhas, massas de ovos e ovos por grama de raiz. Cada planta foi retirada cuidadosamente e cortada na altura do coleto para separação da parte aérea e raízes. Após separadas da parte aérea, as raízes foram cuidadosamente lavadas em água parada e secas com papel absorvente, sendo em seguida pesadas. A contagem do número de galhas foi feita visualmente em todo o sistema radicular. Para contagem de massas de ovos foi realizada a coloração em solução contendo corante artificial empregado na fabricação de sucos, conforme a técnica descrita por Rocha *et al.* (2005). Todo sistema radicular foi cortado em pedaços de 0,5 cm de comprimento e os ovos extraídos pela técnica de Hussey & Barker (1973). Os ovos foram quantificados em caixa de contagem reticulada em microscópio estereoscópico. Os números totais de galhas, massas de ovos e ovos foram divididos pelo peso da matéria fresca do sistema radicular, calculando-se, então, o número de galhas, massas de ovos e ovos / grama de raiz.

Delineamento experimental. Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos casualizados, com três repetições. Os dados relativos a número de galhas, massas de ovos e ovos por grama de raiz foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$. A análise de variância e as médias de cada tratamento foram agrupadas pelo teste de Scott & Knott (1974), ao nível de 5 % de significância.

Colonização de raízes de tomateiros com bactérias endofíticas. Empregaram-se os mesmos isolados bacterianos utilizados no ensaio anterior, bem como o mesmo método de preparo, concentração do inóculo e esterilização das sementes. As sementes de tomateiro 'Kada' foram microbiolizadas em 5 ml de suspensão bacteriana por 24 h, e colocadas para germinar em tubos de ensaio esterilizados contendo Phytigel® (0,8 %), conforme descrito por Queiroz *et al.* (2006). Os tubos foram mantidos em câmara de crescimento sem luz, a 28 °C. O ensaio foi disposto em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Diariamente cada tubo foi colocado sobre um fundo com luz fluorescente até que fosse observada a colonização radicular pela bactéria. Uma camada de aspecto leitoso contrastando com o meio Phytigel® ao longo do sistema radicular do tomateiro em formação indicava crescimento bacteriano, recebendo o sinal de (+). Quando não se observou tal camada, considerou-se que o crescimento bacteriano não ocorreu e assim recebeu o sinal (-).

Resultados e Discussão

As espécies *Acinetobacter johnsonii* (3 isolados), *Curtobacterium luteum*, *Bacillus pumilus* subg. B., *B. pumilus* (2 isolados), *B. aureus*, P11 (espécie não identificada), *Staphylococcus aureus*, *B. amyloliquefaciens* (4 isolados) e *Paenibacillus gordonae* reduziram concomitantemente o número de galhas, massa de ovos e ovos por grama de raiz (Tabelas 1 e 2), totalizando 15 dos 39 isolados bacterianos endofíticos avaliados. As reduções variaram de 14 a 58 % para número de galhas por grama de raiz, 28 a 77 % para número de massas por grama de raiz e de 15 a 55 % para número de ovos por grama de raiz. Com exceção das espécies

Curtobacterium luteum (P16) e *Staphylococcus aureus* (P18) e o isolado P11 isolados do pimentão, todas as bactérias que reduziram concomitantemente o número de galhas, massas de ovos e ovos por grama de raiz foram isolados do tomateiro (Tabelas 1 e 2).

Dos 39 isolados e espécies bacterianas endofíticas testados, 67 % colonizaram as raízes de tomateiro. Das espécies que colonizaram raízes de tomateiro 69 % reduziram o número de galhas, massas de ovos ou ovos por grama de raiz. Dos 15 isolados que reduziram concomitantemente galhas, massas de ovos e ovos por grama de raiz, apenas três não colonizaram as raízes de tomateiro: P11 (espécie não identificada) e *B. amyloliquefaciens* (T21 e T28), correspondendo a 80 % a relação entre controle e a colonização de raízes. Esta relação sobe para 85 % quando se considera separadamente as três variáveis de eficácia de controle. Os isolados T2, T4, *B. sphaericus* (P53), *B. cereus* (P3), *Paenibacillus gordonae* (T37), *B. marinus* (T44), *B. amyloliquefaciens* (T50) e *B. sphaericus* (T54) colonizaram as raízes, mas não causaram redução de galhas, massas de ovos ou ovos por grama de raiz, correspondendo 31 % das bactérias colonizadoras de raiz. Das bactérias isoladas do pimentão, apenas *B. pumilus* (P20) não colonizou as raízes de tomateiro, mas não causou também redução de galhas, massas de ovos ou ovos por grama de raiz. As demais colonizadoras de raízes de tomateiro e isoladas de pimentão, três delas causaram redução do número de galhas, massas de ovos e / ou ovos por grama de raízes e duas nada causaram (Tabelas 1 e 2).

As espécies que proporcionaram o melhor controle de *M. incognita* em condições de casa-de-vegetação foram *Acinetobacter johnsonii* (T9 e T10), *Curtobacterium luteum* (P6), *B. pumilus* subg. B (T27), *B. pumilus* (T26) e *B. amyloliquefaciens* (T36), as quais colonizaram, também, as raízes de tomateiro (Tabelas 1 e 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Naves (2000), que constatou reduções de 19 a 59 % no número de galhas por grama de raiz e de 21 a 65 % no número de ovos por grama de raiz, em tomateiros infectados com *M. javanica*, tratadas com bactérias endofíticas. Halmann *et al.* (1995) também verificaram uma redução em até 50 % da infecção causada por *M. incognita* em plantas de pepino.

Tabela 1 - Efeito da microbiolização de sementes de tomateiro ‘Santa Cruz Kada’ com bactérias endofíticas sobre o número de galhas, massas de ovos e ovos de *Meloidogyne incognita* por grama de raiz de tomateiro. Primeiro ensaio.

Espécie ou isolado	Galhas / g de raiz		Massas de ovos / g de raiz		Ovos / g de raiz		Colonização radicular ³
	Número	% Redução ²	Número	% Redução ²	Número	% Redução ²	
Testemunha	80,0 b	-	62,7 b	-	19.077 b	-	-
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (T9)	34,0 a	57,5	27,0 a	56,9	9.824 a	48,5	+
<i>A. johnsonii</i> (T10)	41,0 a	48,8	29,7 a	52,6	12.488 a	34,5	+
<i>Bacillus cereus</i> (P13)	102,7 c	-	60,0 b	4,3	19.963 b	-	+
<i>B. pumilus</i> subg. B (T27)	47,7 a	40,4	36,0 a	42,6	11.101 a	41,8	+
<i>B. pumilus</i> (T39)	176,7 d	-	106,3 c	-	42.348 c	-	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T41)	72,3 b	9,6	54,7 b	12,8	16.201 b	15,1	-
<i>B. sphaericus</i> (T42)	76,3 b	4,6	35,7 a	43,1	15.149 b	20,6	+
<i>B. sphaericus</i> (T43)	69,3 b	13,4	31,7 a	49,4	9.762 a	48,8	+
<i>B. marinus</i> (T44)	132,7 d	-	61,3 b	2,2	18.764 b	1,6	+
<i>B. sphaericus</i> (T45)	58,3 b	27,1	41,7 a	33,5	17.218 b	9,7	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T50)	150,7 d	-	85,0 c	-	22.540 b	-	+
<i>B. sphaericus</i> (T54)	82,3 b	-	74,3 c	-	24.262 b	-	+
<i>Cartobacterium luteum</i> (P16)	48,7 a	39,1	27,7 a	55,8	11.074 a	42,0	+
T30 ¹	79,3 b	0,9	43,7 a	30,3	14.397 a	24,5	+
T35 ¹	65,0 b	18,8	42,0 a	33,0	18.221 b	4,5	-
<i>Paenibacillus gordonae</i> (T37)	158,0 c	-	120,3 c	-	23.628 b	-	+
<i>P. gordonae</i> (T40)	86,0 b	-	52,0 b	17,1	17.243 b	9,6	-
T38 ¹	80,7 b	-	41,7 a	33,5	18.769 b	1,6	-
CV (%)	11,9		14,4		15,4		-

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade. ¹Espécie não identificada. ²Calculada com base na testemunha. ³(+) colonizado ou (-) não colonizado.

Tabela 2 - Efeito da microbiolização de sementes de tomateiro ‘Santa Cruz Kada’ com bactérias endofíticas sobre o número de galhas, massas de ovos e ovos de *Meloidogyne incognita* por grama de raiz de tomateiro. Segundo ensaio.

Espécie ou isolado	Galhas / g de raiz		Massas de ovos / g de raiz		Ovos / g de raiz		Colonização radicular ³
	Número	% Redução ²	Número	% Redução ²	Número	% Redução ²	
Testemunha	131,3 b	-	82,3 c	-	13.547 b	-	-
<i>Acinetobacter johnsonii</i> (T1)	96,7 a	26,4	54,7 b	33,5	6.141 a	54,7	+
T2 ¹	267,7 c	-	77,3 c	6,1	21.990 c	-	+
T4 ¹	126,3 b	3,8	66,7 c	19,0	21.077 c	-	+
P11 ¹	113,0 a	13,9	44,3 b	46,2	8.515 a	37,1	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (P18)	114,0 a	13,2	58,0 b	29,5	7.516 a	44,5	+
<i>Bacillus cereus</i> (T6)	100,0 a	23,8	49,7 b	39,6	6.500 a	52,0	+
<i>B. subtilis</i> (P19)	148,7 b	-	88,7 c	-	9.984 a	26,3	+
<i>B. pumilus</i> (P20)	136,3 b	-	80,7 c	1,9	16.429 b	-	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T21)	89,0 a	32,2	46,0 b	44,1	7.761 a	42,7	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T22)	84,7 a	35,5	54,3 b	34,0	8.933 a	34,1	+
<i>B. pumilus</i> (T26)	68,7 a	47,7	24,0 a	70,8	6.705 a	50,5	+
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T28)	90,0 a	31,5	33,7 a	59,1	14.261 b	-	-
<i>B. subtilis</i> (T31)	210,7 c	-	89,3 c	-	16.493 b	-	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T36)	78,0 a	40,6	33,0 a	59,9	8.200 a	39,5	+
<i>B. pumilus</i> (T48)	168,7 c	-	68,3 c	17,0	13.003 b	4,0	-
<i>B. pumilus</i> (T49)	89,7 a	31,7	59,3 b	27,9	9.959 a	26,5	+
<i>B. pumilus</i> (T51)	73,7 a	56,1	45,0 b	45,3	8.739 a	35,5	+
<i>B. pumilus</i> (T52)	151,7 b	-	77,3 c	6,1	13.657 b	-	-
<i>B. sphaericus</i> (P53)	162,3 c	-	89,3 c	-	31.607 d	-	+
<i>Microbacterium liquefaciens</i> (T34)	126,0 b	4,0	67,3 c	18,2	11.167 a	17,6	+
<i>P. macerans</i> (T47)	84,7 a	35,5	53,7 b	34,8	9.878 a	27,1	+
CV (%)	9,5		11,1		15,8		-

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade. ¹Espécie não identificada. ²Calculada com base na testemunha. ³(+) colonizado ou (-) não colonizado.

Dentre os isolados mais promissores no controle de *M. incognita*, 53 % das espécies aqui estudadas foram do gênero *Bacillus* (Tabelas 1 e 2). Naves (2000), trabalhando com bactérias endofíticas isoladas de raízes de diversas plantas, selecionou sete isolados, todos *Bacillus*, que proporcionaram as maiores reduções no número de galhas e de ovos de *M. javanica* em tomateiro. Sikora (1988) relatou reduções na infecção de *M. arenaria*, *M. incognita* em torno de 60 a 65 % com o tratamento de sementes de várias culturas com *Bacillus subtilis*. Em alguns estudos com bactérias do gênero *Bacillus* foram obtidos resultados tão promissores que Bchir & Bchir (2000) decidiram patentear uma combinação de *Bacillus thuringiensis* e *B. sphaericus*, denominada NOVO-BIOTECH – 7996, para o controle de fitonematóides. O uso de *Bacillus firmus* foi também patenteado para o controle de fitonematóides, especialmente os do gênero *Meloidogyne* (Feldman *et al.*, 1999).

A alta ocorrência de bactérias colonizadoras da rizosfera (67 %) dentre as bactérias endofíticas testadas pela técnica do Phytigel[®], alta relação entre eficácia de controle de *M. incognita* e colonização de raízes (85 %) e a inclusão do grupo mais eficaz no controle de *M. incognita* como colonizadora de raiz (80 %), sustentam a recomendação do teste de colonização de raízes como primeira seleção antes de se testar o antagonismo ao fitonematóide, reduzindo o número de isolados e economizando tempo e esforços nos testes futuros *in vitro* e em casa de vegetação. A alta relação entre colonização de raízes por bactérias endofíticas e eficácia no antagonismo a fitopatógenos também têm sido encontradas em outros patossistemas. Silva *et al.* (2003) verificaram uma relação de 100 % entre colonização de raízes por rizobactérias e eficiência de controle de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* em tomateiro e indicaram esse teste para seleção massal de rizobactérias. Apesar de não se poder afirmar que um isolado que tem a capacidade de colonizar raízes *in vitro* o faça também em campo, trabalhos mostram que bactérias que colonizam o sistema radicular apresentam significativo controle de espécies de *Meloidogyne*. Halmann *et al.* (1998), trabalhando com bactérias endofíticas de algodão, observaram redução significativa do número de galhas

em raízes de algodoeiro causadas por *M. incognita* e uma correlação com o estabelecimento dessas bactérias dentro das raízes. Em trabalhos utilizando *Pseudomonas aeruginosa* isolado IE-6 e um mutante resistente à estreptomicina IE-6⁺ capazes de colonizar os tecidos internos de raízes de tomateiro, foi observada redução da população de *M. javanica* sob condições de campo e casa-de-vegetação (Siddiqui *et al.*, 2000; Siddiqui & Ehteshamul-Haque, 2001).

Embora neste estudo grande relação ocorresse entre as bactérias colonizadoras de raízes de tomateiro e o antagonismo a *M. incognita*, espécies não colonizadoras também manifestaram antagonismo a esse nematóide. A relação diversificada da bactéria endofítica com a rizosfera e antagonismo a *M. incognita* aqui constatado, sugere diferentes modos de atuação dessas bactérias com relação ao antagonismo a *M. incognita*. Ao que tudo indica a colonização de raízes por bactérias endofíticas está ligada à habilidade na utilização de exsudatos da planta. Segundo Kloepper *et al.* (1985), os isolados de rizobactérias com maior habilidade na utilização de exsudatos de sementes possuem vantagem seletiva na colonização de raízes, pois durante o processo de germinação de sementes ocorre liberação de carboidratos e aminoácidos em abundância na forma de exsudatos (Subrahmanyam *et al.*, 1983). Um outro modo de ação dessas rizobactérias envolve a transformação do exsudato radicular em subproduto do seu metabolismo, impedindo que o nematóide reconheça o estímulo quimiotrópico, levando-o a perder suas reservas energéticas e a infectividade (Bergerson, 1959; Christophers *et al.*, 1997). Além disso, o processo de reconhecimento da planta pelo nematóide é controlado por interações entre lectinas na superfície da raiz e os carboidratos na cutícula do nematóide (Zuckerman, 1983) e, acredita-se que as rizobactérias se ligam às lectinas na superfície das raízes, interferindo nesse processo de reconhecimento da planta hospedeira pelo fitonematóide (Stirling, 1991). Isto pode explicar a atuação do grande grupo antagonista a *M. incognita* e colonizadora de raízes relativas aos dados obtidos nos ensaios aqui relatados.

As espécies *A. jonhsonii*, *S. aureus*, *P. gordonae*, *B. pumilus* e o isolado P11 que reduziram a reprodução

de *M. incognita*, também, segundo os dados de Silva (2004) reduziram a severidade de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* em tomateiro, o que ampliou o conhecimento sobre o espectro de ação dessas bactérias.

Conclui-se, portanto, que o teste de colonização de raízes deve anteceder à seleção de bactérias endofíticas candidatas a antagonismo de fitonematóides.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos para a primeira autora e a bolsa de apoio técnico concedida ao laboratorista que auxiliou neste trabalho.

Literatura Citada

- BCHIR, M.M. & M.M. BCHIR. 2000. Live bacterial composition for biological control of nematodes – comprising *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* strains, having synergistic activity. Patente número JP2000511204-W, 29 de agosto de 2000.
- BERGESON, G.B. 1959. The influence of temperature on the survival of some species of the genus *Meloidogyne*, in the absence of a host. *Nematologica*, 4 (3): 344-354.
- CHRISTOPHERS, A.E.P., M.N. PATEL, J.A. BENSON, J. V.W. SAKA, A.A.F. EVANS, & D.J. WRIGHT. 1997. A rapid field-laboratory bioassay to assess the infectivity of *Meloidogyne* spp. second stage juveniles. *Nematologica*, 43 (1): 117-120.
- FELDMAN, K., I. PELEG & J.H. HANDELMAN. 1999. New bacterial strains of species *Bacillus firmus* – have nematicidal activity, used for controlling plant pathogenic nematodes, particularly nematodes causing root-knot disease. Patente número BR9608204-A, 07 de dezembro de 1999.
- FREITAS, L.G. 2003. Rizobactérias *versus* nematóides. <<http://www.ufv.br/dfp/lab/nematologia.pdf>> acesso em 2 de maio de 2006.
- HABE, M.H. & UESUGI, C.H. 2000. Métodos *in vitro* para avaliar a capacidade colonizadora de bactérias em raízes de tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, 25 (4): 657-660.
- HALMMAN, J., A. QUADT-HALLMANN, L. RODRIGUEZ-KABANA. & J. KLOEPPER. 1998. Interaction between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. *Soil Biology Biochemistry*, 30 (7): 925-937.
- HALLMANN, J., J. KLOEPPER, R. RODRÍGUEZ-KÁBANA, & R.A. SIKORA. 1995. Endophytic rhizobacteria as antagonists of *Meloidogyne incognita* on cucumber. *Phytopathology*, 85 (10): 11-36.
- HUSSEY, R.S. & K.R. BARKER. 1973. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57 (12): 1025-1028.
- KLOEPPER, J.W., F.M. SCHER, M. LALIBERTE & I. ZALESKA. 1985. Measuring the spermosphere colonizing capacity (spermosphere competence) of bacterial inoculants. *Canadian Journal of Microbiology*, 31 (10): 926-929.
- QUEIROZ, B.P.V., C.I. AGUILAR-VILDOSO & I.S. MELO. 2006. Visualização *in vitro* da colonização de raízes por rizobactérias. *Summa Phytopatologica*, 32 (1): 95-97.
- NAVES, R.L. 2000. Bactéria endofíticas do sistema radicular: isolamento e potencial para o controle biológico de fitonematóides (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Lavras (MG), 113 p.
- ROCHA, F.S., M.F.S. MUNIZ & V.P. CAMPOS. 2005. Coloração de fitonematóides com corantes usados na indústria alimentícia brasileira. *Nematologia Brasileira*, 29 (2): 293-297.
- ROMEIRO, R.S., A. TAKATSU, C.H. UESUGI, A.B. MOURA & H.S.A. SILVA. 1999. Um método simples para seleção de rizobactérias com capacidade de promover colonização de raízes e sua implicação na indução de resistência sistêmica e enfermidades e na promoção do crescimento de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, XXXII, Brasília. Resumos, p. 255.
- SCOTT, A.J. & M. KNOTT. 1974. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30: 507-512.
- SIDDIQUI, I. A. & S.S. SHAUKAT. 2003. Endophytic bacteria: prospects and opportunities for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Nematologia Mediterranea*, 31(3): 111-120.
- SIDDIQUI, I.A. & S. EHTESHAMUL-HAQUE. 2001. Suppression of the root rot-root knot disease complex by *Pseudomonas aeruginosa* in tomato: influence of inoculum density, nematode population, moisture and other plant-associated bacteria. *Plant Soil*, 237 (1): 81-89.
- SIDDIQUI, I.A. & S. EHTESHAMUL-HAQUE. 2000. Use of *Pseudomonas aeruginosa* for the control of root rot-root knot disease complex in tomato. *Nematologia Mediterranea*, 28 (2): 189-192.
- SIKORA, R.A. 1988. Interrelationship between plant health promoting rhizobacteria, plant parasitic nematodes and soil microorganisms. *Med. Fac. Kandbouww. Rijksuniv*, 53 (2b): 867-878.
- SILVA, H.S.A., R.S. ROMEIRO & A. MOUNTEER. 2003. Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agents. *Journal of Phytopathology*, 151 (1): 42-46.
- SILVA, J.R.C. 2004. Bactérias endofíticas no controle da mancha (*Xanthomonas vesicatoria*) e da pinta (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) bacterianas do tomateiro (Dissertação

- de Mestrado). Universidade Federal de Lavras (MG), 160 p.
- STIRLING, G.R. 1991. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes: Progress, Problems and Prospects. CAB International, Wallingford (UK), 282 p.
- SUBRAHMANYAN, P., M.N. REDDY & A.S. RAO. 1983. Exudation of certain organic compounds from seeds of groundnut. *Seed Science and Technology*, 11 (2): 267-272.
- ZUCKERMAN, B.M. 1983. Hypotheses and possibilities of intervention in nematode chemoresponses. *Journal of Nematology*, 15 (2): 173-183.

Reação de Cultivares de Mamona (*Ricinus communis* L.) e Girassol (*Helianthus annuus* L.) a *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *M. paranaensis**

Cláudia R. Dias-Arieira^{1**}, Simone M. Santana^{1,5}, Marcelo L. Silva¹, Cleber Furlanetto², Regina C.F. Ribeiro³ & Everaldo A. Lopes⁴

*Projeto financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

¹Universidade Estadual de Maringá (UEM) – *Campus* Regional de Umuarama, 87507-190 Umuarama (PR) Brasil.

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85960-000 Marechal Cândido Rondon (PR) Brasil.

³Universidade Estadual de Montes Claros, *Campus* de Janaúba, C. Postal 91, 39440-000 Janaúba (MG) Brasil.

⁴Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa (MG) Brasil.

⁵Bolsista PIBIC-CNPq / Fundação Araucária / UEM.

**Autora para correspondência: cdiasarieira@brturbo.com.br

Recebido para publicação em 16 / 06 / 2008. Aceito em 06 / 10 / 2008

Editado por Guilherme Asmus

Resumo - Dias-Arieira, C.R., S.M. Santana, M.L. da Silva, C. Furlanetto, R.C.F. Ribeiro & E.A. Lopes. 2009. Reação de cultivares de mamona (*Ricinus communis* L.) e girassol (*Helianthus annuus* L.) a *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *M. paranaensis*.

A busca por combustíveis alternativos ao petróleo tornou-se, nos últimos anos, alvo de pesquisas em diversos países. Neste contexto, o Paraná assumiu um importante papel, pelo fato de que espécies comprovadamente eficientes para a produção de biocombustível, como girassol e mamona, são adaptadas às condições edafoclimáticas das áreas agrícolas do Estado. Contudo, com a expansão destas culturas, diversos patógenos podem tornar-se limitantes à produção, dentre eles os nematóides formadores de galhas, os quais se encontram disseminados em praticamente todas as regiões agrícolas do país. Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar a suscetibilidade de sete cultivares de mamona e girassol aos nematóides *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. paranaensis*. Mudanças das cultivares previamente germinadas em bandejas foram transplantadas para vasos com capacidade para três litros e, após três dias, foram inoculadas com 4.000 nematóides. Aos 60 dias da inoculação, procedeu-se à avaliação determinando-se o número de galhas e ovos por sistema radicular, e calculando-se o fator de reprodução (FR). O tomateiro ‘Santa Cruz Kada’ foi utilizado como testemunha. As sete cultivares de mamona avaliadas comportaram-se como não hospedeiras (FR < 1) às três espécies do nematóide. Todas as cultivares de girassol foram suscetíveis a *M. javanica*. Quanto a *M. incognita* o número de galhas das cultivares de girassol, exceto BRHS 05, foi inferior à testemunha ($P < 0,05$), no entanto FR > 1 foi observado em todas as cultivares. Para *M. paranaensis*, todos os genótipos de girassol apresentaram número de ovos inferior à testemunha ($P < 0,05$), e com FR < 1 para BRHS 01, BRHS 09, Catissol 01 e Embrapa 122.

Palavras chaves: nematóide das galhas, biodiesel, oleaginosas, suscetibilidade.

Abstract - Dias-Arieira, C.R., S.M. Santana, M.L. da Silva, C. Furlanetto, R.C.F. Ribeiro & E.A. Lopes. 2009. Reaction of castor bean (*Ricinus communis* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars to *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* and *M. paranaensis*.

The necessity for alternative fuels in replacement of petroleum has become, in the last few years, the research target in several countries. In this context, Paraná state plays an important role for biodiesel production. In this state, the soil and the climatic conditions benefit the cultivation of oilseed crops such as sunflower and castor bean. However, sunflower and castor bean crops are parasited by different pathogens which may severally limit the yield of these crops. Among these pathogens are included the root-knot nematodes, which

are widespread over the Brazilian agricultural regions. Therefore, the aim of this work was to assess the susceptibility of castor bean and sunflower cultivars to *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. paranaensis*. Seeds of sunflower and castor bean cultivars were previously germinated on trays and plantlets were transplanted to 3 l-pots filled with sterilized soil. After three days, the seedlings were inoculated with 4,000 nematodes. After 60 days from the inoculation, the plant roots were evaluated according to the number of galls and eggs, and also had the reproduction factor (RF) calculated. Tomato ‘Santa Cruz Kada’ was the control crop. The seven castor bean cultivars showed a RF < 1 to the three species studied. All the sunflower cultivars were susceptible to *M. javanica*. Considering *M. incognita*, all the sunflower cultivars, except BRHS 05, produced less galls per root than the control ($P < 0.05$). For *M. paranaensis*, all the sunflower cultivars produced less eggs per root than the control crop ($P < 0.05$) and the cultivars BRHS 01, BRHS 09, Catissol 01 and Embrapa 122 also presented a RF < 1.

Key words: root-knot nematodes, biodiesel, oil crops, susceptibility.

Introdução

O biodiesel consiste em combustível obtido a partir de óleos vegetais, gorduras animais, resíduos industriais e esgoto sanitário. Contudo, nem todo óleo vegetal pode ser destinado para este fim, devido alguns dos seus componentes não serem adequados para a combustão. Dentre as oleaginosas com potencial para a produção de biodiesel destacam-se o girassol (*Helianthus annuus* L.), a mamona (*Ricinus communis* L.), a soja [*Glycine max* (L.) Merr.], o amendoim (*Arachis hypogaea* L.), o milho (*Zea mays* L.), o dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.) e o babaçu (*Orbignya* spp.) (Knothe *et al.*, 2007).

O emprego do biodiesel como combustível apresenta inúmeras vantagens pelo fato de ser uma fonte de energia renovável e biodegradável, além de ser obtido a partir de diferentes espécies vegetais (Knothe *et al.*, 2007). Com o incentivo ao cultivo de espécies oleaginosas no Paraná, visando à produção de biodiesel, diversas áreas agrícolas na região noroeste desse Estado estão sendo destinadas ao cultivo de algumas dessas espécies. Entretanto, é importante realçar que, por tratar-se de uma região com predominância de solo arenoso e com histórico de cultivo de café, a presença de fitonematóides pode constituir-se em fator limitante à produção de culturas como o girassol e a mamona. Dentre as espécies de *Meloidogyne* relatadas no Paraná, *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. paranaensis* Carneiro *et al.*, 1996, estão amplamente disseminadas

e são economicamente importantes (Roese *et al.*, 2001; Franzener *et al.*, 2005; Portz *et al.*, 2006).

Até 1973, apenas *M. javanica* havia sido relatado parasitando o girassol no Brasil (Lordello, 1973). Posteriormente, alguns trabalhos confirmaram a suscetibilidade dessa espécie aos nematóides de galhas, *M. javanica* e *M. incognita* (Santos & Rao, 1987; Asmus *et al.*, 2005). Em 2004, Sharma & Amabile relataram a ocorrência de nematóides associados à cultura do girassol na região do cerrado, constatando *M. javanica* em 100 % das amostras avaliadas. A suscetibilidade do girassol a *M. incognita* foi comprovada por Asmus *et al.* (2005). No entanto, o girassol foi indicado por Rao *et al.* (1986) como alternativa para emprego em sistema de rotação de culturas buscando o controle de *M. graminicola* Golden & Birchfield, 1965, em arroz.

A literatura carece de investigações mais detalhadas sobre a interação entre nematóides de galhas e mamona. A maioria dos trabalhos sobre o assunto envolve a avaliação da eficiência das tortas e outros produtos derivados da mamona para o controle desses patógenos, e poucos avaliam a suscetibilidade dessa espécie aos mesmos. Lordello (1973) cita a mamona como suscetível a *M. javanica* e *M. incognita*. Existem também relatos da suscetibilidade dessa planta a *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, e *M. hapla* Chitwood, 1949 (Whitehead, 1998). Contudo, no trabalho desenvolvido por McSorley (1999), a mamona ‘Iron Clay’ comportou-se como resistente a *M. incognita* raça 1, *M. arenaria* raça 1 e *M. javanica*. Essa cultura também foi relatada por Rao *et al.* (1986) como

resistente a *M. graminicola*.

Tendo como base essas informações, há a necessidade de novas avaliações com o objetivo de se conhecer o comportamento de diferentes genótipos de mamona e girassol frente a populações de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. paranaensis*, apesar de que, para este último, o parasitismo a essas culturas ainda não tenha sido estudado.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em estufa plástica do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Maringá, *Campus* Avançado de Umuarama. As plântulas das cultivares de girassol e mamona foram obtidas a partir da germinação em bandejas contendo substrato do tipo Plantmax®. Após 18 dias da germinação, cada plântula foi transplantada para vasos com capacidade para três litros contendo solo esterilizado. Decorridos três dias, as mesmas foram inoculadas com suspensão de nematóides calibrada para 4.000 juvenis e / ou ovos em 4 ml de água. A inoculação foi realizada ao final da tarde e a suspensão de nematóides foi uniformemente distribuída em quatro orifícios abertos no solo ao redor de cada planta.

O inóculo foi obtido a partir de populações puras dos nematóides *M. incognita*, *M. javanica* e *M. paranaensis*, cedidas pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), e multiplicadas em raízes de tomateiro 'Santa Cruz Kadá' durante três meses. Posteriormente, os ovos e / ou juvenis dos respectivos nematóides foram extraídos das raízes, utilizando-se a metodologia de Hussey & Barker adaptada por Boneti & Ferraz (1981).

A avaliação foi realizada aos 60 dias da inoculação, quando as plantas foram cuidadosamente retiradas dos vasos e o sistema radicular foi lavado sob água corrente para retirar o excesso de solo. Cada sistema radicular foi acomodado em saco plástico devidamente identificado e armazenado em geladeira a 4 °C até o momento das avaliações. O número de galhas foi determinado por contagem direta em cada sistema radicular. Em seguida, procedeu-se à extração (conforme descrito anteriormente) e quantificação dos ovos de cada raiz, utilizando-se lâmina de Peters. O fator de reprodução (FR) foi calculado com o emprego da fórmula $FR = (Pf / Pi)$, onde Pf

corresponde a população final e Pi a população inicial (Oostenbrink, 1966). Plantas com $FR > 1$ foram classificadas como suscetíveis, sendo consideradas resistentes aquelas com $FR < 1$ (Oostenbrink, 1966).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições para cada tratamento. Os tratamentos foram constituídos por sete cultivares de mamona (Íris, Coti, Guarani, Pernambuco, Sangue de Boi, Savana e IAC-80), oito cultivares de girassol (BRSG 02, BRSG 07, BRHS 01, BRHS 05, BRHS 09, Catissol 01, Hélio 358, Embrapa 122) e tomateiro 'Santa Cruz Kada', utilizado como testemunha suscetível. Os dados obtidos foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Resultados e Discussão

Todas as cultivares de mamona avaliadas comportaram-se como resistentes às espécies de nematóides de galhas, com FR variando de 0,0 a 0,06, enquanto as testemunhas apresentaram $FR = 6,36$ para *M. paranaensis*, $FR = 3,91$ para *M. javanica* e $FR = 3,07$ para *M. incognita*. Comportamento semelhante foi observado para as variáveis número de ovos e de galhas por sistema radicular, em que todos os tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha, independente da espécie do nematóide (Tabela 1).

Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por McSorley (1999), no qual a mamona 'Iron Clay' comportou-se como resistente a *M. javanica*, *M. incognita* raça 1 e *M. arenaria* raça 1. Esta cultura também foi relatada como resistente a *M. graminicola* (Rao *et al.*, 1986). Diversos trabalhos têm comprovado o efeito da mamona no controle de nematóides, podendo ser usada em rotação de culturas e na obtenção de extratos e torta de óleo (Rodríguez-Kábana, 1988 a,b; Ritzinger & McSorley, 1998) para aplicação a campo. Mesmo havendo a existência de relatos na literatura da suscetibilidade dessa planta a *M. arenaria* e *M. hapla* (Whitehead, 1998), no trabalho realizado por Rodríguez-Kábana & Canullo (1992) foi observado que apenas dois meses de cultivo da mamona antes do amendoim foi suficiente para reduzir a população de *M. arenaria* no solo. Rodríguez-Kábana *et al.* (1988a, 1988b) citam a mamona como espécie alternativa para

Tabela 1 - Número de galhas (NG), número de ovos (NO) e fator de reprodução (FR) de três espécies de *Meloidogyne* em cultivares de mamona.

Tratamentos	<i>M. paranaensis</i>			<i>M. javanica</i>			<i>M. incognita</i>		
	NG	NO	FR	NG	NO	FR	NG	NO	FR
Íris	14 a	93 a	0,02	4 a	48 a	0,01	11 a	55 a	0,01
Coti	11 a	46 a	0,01	11 a	59 a	0,01	21 a	74 a	0,02
Guarani	5 a	8 a	0,00	5 a	41 a	0,01	2 a	4 a	0,00
Pernambucana	17 a	427 a	0,11	10 a	50 a	0,01	13 a	38 a	0,00
Sangue de Boi	14 a	35 a	0,01	6 a	19 a	0,00	6 a	41 a	0,01
Savana	4 a	68 a	0,02	7 a	19 a	0,00	8 a	10 a	0,00
IAC-80	7 a	226 a	0,06	10 a	30 a	0,01	12 a	19 a	0,00
Tomateiro	516 b	25.446 b	6,36	337 b	15.641 b	3,91	300 b	12.289 b	3,07

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 2 - Número de galhas (NG), número de ovos (NO) e fator de reprodução (FR) de três espécies de *Meloidogyne* em cultivares de girassol.

Tratamentos	<i>M. paranaensis</i>			<i>M. javanica</i>			<i>M. incognita</i>		
	NG	NO	FR	NG	NO	FR	NG	NO	FR
BRSG 02	130 a	4.598 a	1,57	85 ^{ns}	12.675 ^{ns}	3,17	144 a	27.722 ab	6,93
BRSG 07	161 a	4.468 a	1,12	106	12.292	3,07	126 a	21.779 ab	5,44
BRHS 01	95 a	2.628 a	0,66	95	4.453	1,11	157 a	32.647 ab	8,16
BRHS 05	117 a	4.598 a	1,15	120	7.205	1,80	222 ab	35.351 ab	8,84
BRHS 09	166 a	3.753 a	0,94	161	15.692	3,92	162 a	16.729 a	4,18
Catissol 01	162 a	3.495 a	0,87	198	12.528	3,13	127 a	21.469 ab	5,37
Hélio 358	222 ab	4.247 a	1,06	124	8.185	2,05	173 a	33.346 ab	8,34
Embrapa 122	129 a	3.595 a	0,90	175	9.887	2,47	111 a	27.078 ab	6,77
Tomateiro	423 b	30.782 b	7,67	243	10.368	2,59	330 b	60.088 b	15,02

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

ns = diferenças não significativas entre os tratamentos.

rotação de cultura visando o controle de *M. arenaria* em áreas de cultivo de soja, no Alabama.

Quanto ao girassol, os dados obtidos mostram que todos os genótipos avaliados comportaram-se como suscetíveis a *M. javanica*, ou seja, com FR superior a um (Tabela 2). Os números de ovos e galhas observados foram estatisticamente iguais à testemunha suscetível ($P \leq 0,05$). A associação de *M. javanica* à cultura do girassol foi relatada por Sharma & Amabile (2004), na região do Cerrado brasileiro, onde os autores observaram que *M. javanica* estava presente em 100 % das amostras avaliadas. Apesar da suscetibilidade comprovada do girassol ao *Meloidogyne* spp., Rich & Green (1981) não observaram redução significativa na produção de girassol, quando o mesmo foi inoculado com *M. javanica*. No entanto, no trabalho realizado por Di Vito *et al.* (1996), esta espécie afetou a produção da cultura e o efeito do nematóide sobre a planta pode ser visualizado uma semana após a inoculação, com amarelecimento e redução no

crescimento das mesmas. Os autores observaram, ainda, que algumas plantas morreram duas semanas após a inoculação e que a redução no crescimento e produção, em geral, foi diretamente proporcional ao aumento no nível de inóculo. Tais resultados corroboram aqueles obtidos por Lawn *et al.* (1988), quando em solo naturalmente infestado a produção de girassol foi significativamente afetada pela população de *M. javanica* e o incremento na produção chegou a 56 %, quando tal espécie foi controlada pela fumigação do solo.

A suscetibilidade de girassol também foi observada para *M. incognita* (Tabela 2), para o qual, o FR das cultivares avaliadas variou de 4,18 a 8,84. No entanto, com exceção da cultivar BRHS 05, todas as demais apresentaram número de galhas inferiores ao observado para o tomateiro ($P \leq 0,05$). A cultivar BRHS 09 apresentou número de ovos significativamente inferior à testemunha. Porém, não diferiu estatisticamente dos demais genótipos de

girassol. A reprodução desse nematóide em girassol também foi confirmada por Asmus *et al.* (2005), que observaram que o fator de reprodução de *M. incognita* raça 2 na cv. IAC Uruguai foi de 15,63, enquanto que para a raça 4 foi igual a 3,28. Anteriormente, a cv. Issanka e outro material de girassol não especificado foram relatados entre os mais suscetíveis a *M. incognita* raça 3 e *M. javanica* (Santos & Ruano, 1987).

Quanto a *M. paranaensis*, observou-se que o número de ovos foi significativamente inferior à testemunha para todas as cultivares avaliadas, contudo o índice de galhas da cv. Hélio 358 foi igual ao tomateiro. Fator de reprodução superior a um foi observado para as cultivares BRSG 02, BRSG 07, BRHS 05 e Hélio 358 (Tabela 2). Para as demais cultivares, o fator de reprodução variou de 0,66 a 0,94.

Além da suscetibilidade comprovada a *M. incognita* e *M. javanica*, o girassol comportou-se também como suscetível aos nematóides *M. arenaria* e *M. hapla* (Bernard & Keyserling, 1985). No trabalho realizado por Ferris *et al.* (1993) foi avaliada a suscetibilidade de 12 cultivares de girassol a *M. chitwoodi*. Os autores classificaram tais cultivares como boas a excelentes hospedeiras do nematóide, com FR em condição controlada variando de 8,09 a 20,26. Os mesmos autores observaram que no campo, a população do nematóide aumentou em doze vezes após uma estação de cultivo do girassol 'Sunwheat 102'.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que todas as cultivares de mamona avaliadas são resistentes aos nematóides das galhas *M. javanica*, *M. incognita* e *M. paranaensis*, podendo ser cultivadas em áreas nas quais esses nematóides estejam presentes. Em áreas em que ocorram *M. javanica* e *M. incognita* não é recomendado o cultivo de girassol, devido à suscetibilidade de cultivares dessa cultura aos nematóides das galhas. Por outro lado, o cultivo de girassol em áreas de ocorrência de *M. paranaensis*, deverá levar em consideração que há diferenças de suscetibilidade entre as cultivares.

Literatura Citada

ASMUS, G.L., M.M. INOMOTO, C.S.S. SAZAKI, M.A. FERRAZ. 2005. Reação de algumas culturas utilizadas no sistema plantio direto a *Meloidogyne incognita*.

Nematologia Brasileira, 29 (1): 47-52.

BERNARD, E.C. & M.L. KEYSERLING. 1985. Reproduction of root-knot, lesion, spiral and soybean cysts nematodes on sunflower. Plant Disease, 69: 103-105.

BONETTI, J.I.S. & S. FERRAZ. 1981. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, 6: 553.

DI VITO, M., G. ZACCHEO, C. DELLA GATTA & F. CATALANO. 1996. Relationship between initial population densities of *Meloidogyne javanica* and yield of sunflower in microplots. Nematologia Mediterranea, 24 (1): 109-112.

FERRIS, H., H.L. CARLSON, D.R. VIGLIERCHIO, B.B. WESTERDAHL, F.W. WU, C.E. ANDERSON, A. JUURMA & D.W. KIRBY. 1993. Host status of selected crops to *Meloidogyne chitwoodi*. Journal of Nematology, 25 (4S): 849-857.

FRANZENER, G., J.R. UNFRIED, J.R. STANGARLIN & C. FURLANETTO. 2005. Nematóides formadores de galha e de cisto patogênicos a cultura da soja em municípios do Oeste do Paraná. Nematologia Brasileira, 29 (2): 261-265.

KNOTHE, G., J. KRAHL, J.V. GERPEN & L.P. RAMOS. 2007. Manual de Biodiesel. Editora Edgard Blücher, São Paulo, 352 p.

LAWN, D.A., G.R. NOEL & J.B. SINCLAIR. 1988. Plant-parasitic nematodes associated with sunflower and maize in the Republic of Zambia. Nematropica, 18 (2): 143-154.

LORDELLO, L.G.E. 1973. Nematóides das Plantas Cultivadas. 2ª. ed. Nobel, São Paulo, 197 p.

McSORLEY, R. 1999. Host suitability of potential cover crops for root-knot nematodes. Supplement Journal of Nematology, 31 (4): 619-623.

MOURA, R.M. 1997. O gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose - parte II. Revisão Anual de Patologia de Plantas, 5: 281-315.

OOSTENBRINK, R. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededeelingen der Landbouw-Hoogeschool, Wageningen, 66: 1-46.

PORTZ, R.L., J.R. STANGARLIN, G. FRANZENER, M.I. BALBI-PENA & C. FURLANETTO. 2006. *Meloidogyne* spp. associadas à cafeicultura em municípios do Oeste do Paraná. Nematologia Brasileira, 30 (1): 23-27.

RAO, Y.S., J.S. PRASAD & M.S. PANWAR. 1986. Nematode problems in rice: crop losses, symptomatology and management. In: SWARUP, G. & D.R. DASGUPTA (ed). Plant Parasitic Nematodes of India. Problems and Progress. India Agriculture Research Institute, New Delhi, p.279-299.

RICH, J.R. & V.E. GREEN. 1981. Influence of *Meloidogyne javanica* on growth and yield of oilseed sunflower. Nematropica, 11: 11-16.

RITZINGER, C.H.S.P. & R. McSORLEY. 1998. Effect of fresh and dry organic amendments on *Meloidogyne*

- arenaria* in greenhouse experiments. *Nematropica*, 28: 173-185.
- ROESE, A.D., R.D. ROMANI, C. FURLANETTO, J.R. STANGARLIN & R.L. PORTZ. 2001. Levantamento de doenças na cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill, em municípios da região Oeste do estado do Paraná. *Acta Scientiarum*, 23 (5): 1293-1297.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. & G.H. CANULLO. 1992. Cropping systems for the management of phytonematodes. *Phytoparasitica*, 20 (2): 211-224.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., P.S. KING, D.G. ROBERTSON, C.W. WEAVER & E.L. CARDEN. 1988a. New crops with potential for management of soybean nematodes. *Nematropica*, 18 (1): 45-52.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., P.S. KING, D.G. ROBERTSON & C.F. WEAVER. 1988b. Potential of crops uncommon to Alabama for management of root-knot and soybean cyst nematodes. *Annals of Applied Nematology*, 2: 116-120.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., W.A. GAZAWAY, D.W. WEAVER, P.S. KING & C.F. WEAVER. 1998. Host suitability of selected tropical legumes and other crops for the reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940. *Nematropica*, 28 (2): 195-203.
- SANTOS, M.A. & O. RUANO. 1987. Reação de plantas usadas como adubos verdes a *Meloidogyne incognita* raça 3 e *M. javanica*. *Nematologia Brasileira*, 11:184-197.
- SHARMA, R.D. & R.F. AMABILE. 2004. Nematóides associados ao girassol em áreas de Cerrado do Distrito Federal. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, 125. 13p.
- WEISS, E.A. 1971. Castor, Sesame, and Safflower. Leonard Hill, London. 171 p.
- WHITEHEAD, A.G. 1998. Plant Nematode Control. CAB International, New York. 384 p.

Controle Populacional de *Pratylenchus zae* em Cana-de-açúcar em Dois Ambientes Edáficos no Nordeste do Brasil

Romero M. de Moura* & Idjane S. de Oliveira

Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680 Vitória de Santo Antão (PE) Brasil

*Autor para correspondência: romeromoura@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 07 / 11 / 2007. Aceito em 26 / 09 / 2008

Editado por Mário Inomoto

Resumo - Moura, R.M. & I.S. Oliveira. 2009. Controle populacional de *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar em dois ambientes edáficos no Nordeste do Brasil.

O nematoide das lesões da cana-de-açúcar (*Pratylenchus zae*) e o das galhas (*Meloidogyne* spp.) podem ser considerados dois dos mais importantes fatores indutores de baixas produtividades no Nordeste. Devido a este fato, foram estudados cinco métodos de controle para *P. zae*, em dois antigos campos de cana-de-açúcar, com ambientes edáficos diferentes, na Zona da Mata Norte do Estado de Pernambuco. As áreas encontravam-se naturalmente infestadas pelo nematoide. A variedade de cana-de-açúcar utilizada foi SP 70 1011 e o delineamento experimental foi do tipo blocos ao acaso, com seis tratamentos e seis repetições, sendo iguais para os dois ambientes. Observou-se que as condições de solo não influenciaram os resultados obtidos, especialmente a ação dos nematicidas, que foi equivalente nos dois experimentos e efetiva apenas até o terceiro mês após o plantio. O pousio reduziu satisfatoriamente a população de *P. zae* e as leguminosas antagonicas foram altamente eficientes, suprimindo a população do nematoide.

Palavras chaves: nematoide das lesões, rotação de culturas, nematicidas.

Summary - Moura, R.M. & I.S. Oliveira. 2009. Control of *Pratylenchus zae* population on sugarcane, in two edaphic environments in Northeast of Brazil.

The sugarcane lesion nematode (*Pratylenchus zae*) and the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) can be considered two of the most important factors affecting sugarcane yield in the northeast of Brazil. Therefore, this investigation was planned to study the effectiveness of five different methods to control *P. zae*, using two old sugarcane fields, naturally infested by the nematode, with two different soil types, located in the north area of the Rain Forest Zone of the state of Pernambuco, Brazil. The sugarcane variety used was SP 70 1011 and the experimental design was a completely randomized block, with six treatments and six replications. There was no influence of the soil conditions on the efficiency of the nematicides. The nematicides were effective in controlling the nematode population until three months after applications. The fallow strongly reduced the nematode population and the treatments involving two antagonistic legumes promoted an excellent control, suppressing the nematode population.

Key words: lesion nematode, crop rotation, nematicides.

Introdução

O cultivo da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) encontra-se em franca expansão no Brasil, mercê das altas demandas pelo açúcar e pelo álcool carburante. O Estado de Pernambuco, com longa tradição no

cultivo desta gramínea, tem sistematicamente perdido posições no *ranking* nacional dos estados produtores, devido à baixa produtividade agrícola, que é da ordem de 50 toneladas por hectare (IBGE, 1999). Entre as causas do que se pode denominar “síndrome da baixa

produtividade da cana-de-açúcar” participam diversos fatores entre os quais o efeito patogênico dos nematoides (Moura, 2005a). A lista dos fitonemátoides parasitos da cana-de-açúcar assinalados é extensa e diversa (O’Reilly & Millian, 1971; Prasad, 1973; Dick & Harris, 1975; Brathwaite, 1976; Spaul, 1981; Birchfield, 1984; Bridge, 1988; Moura, 2005b). Moura & Almeida (1981) foram os primeiros a fazer um estudo de levantamento nematológico em canaviais nordestinos, associando esses parasitos à baixa produtividade agrícola. As pesquisas têm apontado que no Nordeste, ao modo do que ocorre em todo o mundo açucareiro, dois fitonemátoides são prevalentes e responsáveis pelas maiores perdas impostas à cultura: o nematoide das lesões (*Pratylenchus zea* Graham) e o das galhas (*Meloidogyne* spp.). Esse fato tornou-se evidente quando Moura *et al.* (2000) por meio da análise nematológica de 1.200 amostras de solos e raízes, coletadas nos Estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Alagoas, constataram a presença dos dois nematoides em praticamente todas as amostras. Na atualidade, o controle desses fitopatógenos tem seguido duas vertentes. A primeira, por meio do uso de nematicidas sistêmicos, aplicados no fundo do sulco, antes do plantio. Essa prática vem sendo utilizada por produtores na região, mas sua praticidade é questionada pela inconstância de resultados positivos (Moura, 2005a; Moura & Macedo, 2005). Em contraste, na região sudeste, as pesquisas sobre o controle químico dos fitonemátoides têm demonstrado que o uso dos nematicidas sistêmicos é positivo, gerando benefícios para o agricultor, por ocasião da colheita da cana-planta (Novaretti *et al.*, 1998). Esse fato levou os pesquisadores a dirigirem suas pesquisas para a proteção das socas (Alonso *et al.*, 1987; Dinardo-Miranda *et al.*, 2000). Por outro lado, de acordo com pesquisas publicadas no Brasil, existem perspectivas favoráveis para o controle alternativo dos nematoides da cana-de-açúcar, principalmente por meio do uso da rotação de culturas e plantas antagonicas (Moura, 2005a). O objetivo do presente trabalho foi estudar comparativamente métodos de controle de *P. zea*, em dois ambientes edáficos, localizados na Zona da Mata Norte do Estado de Pernambuco, onde esse fitonematoide

induz permanentes perdas agrícolas.

Material e Métodos

Para estudar o efeito de cinco tratamentos na redução populacional de *P. zea* em cana-de-açúcar, agente etiológico da pratilencose da cana (Figura 1A,B) foram selecionadas duas áreas para instalação de dois campos experimentais na Zona da Mata Norte do Estado de Pernambuco. A primeira, foi a Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina (EECAC), município de Carpina, pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), e a segunda a Usina Santa Teresa, no município de Goiana, mais próxima do litoral. Em Carpina, o solo era escuro, com alto teor de matéria orgânica e condições adequadas de fertilidade. Em Goiana, o solo era arenoso, branco-cinza, baixo teor de matéria orgânica e baixa fertilidade. Ambas as áreas estavam naturalmente infestadas pelo nematoide das lesões, com densidades populacionais mais baixas em Carpina. Essas populações foram estimadas após a instalação dos campos experimentais, por meio de análises nematológica do solo, em todas as parcelas, antes do plantio, constituindo-se a população inicial (P_i). A área em Carpina encontrava-se em pousio havia um ano e meio, devido às baixas produtividades (< 30 t / ha), ocasionadas pelo cultivo contínuo com cana-de-açúcar. A área da Usina Santa Teresa estava em fase de renovação, após uma última colheita de 30 t / ha e com populações de *P. zea* consideradas altas. Essas informações foram fornecidas pela EECAC e pelo Grupo Técnico de Pesquisa da Usina Santa Teresa, respectivamente. As áreas escolhidas foram limpas, aradas, gradeadas e sulcadas. Em seguida, foram marcadas as parcelas, de acordo com o desenho experimental de blocos ao acaso, previamente estabelecido, com seis tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram: **1)** testemunha: cana sem tratamento; **2) e 3)** nematicidas sistêmicos carbofuran (formulação 350 SC) e terbufós (formulação 50 G), respectivamente, aplicados no fundo do sulco, antes do plantio da cana; **4)** pousio, permitindo-se o crescimento livre da cobertura florística; **5)** plantio da leguminosa mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy) seguido pelo plantio da também leguminosa *Crotalaria juncea* L., a cada 3 meses, com incorporação

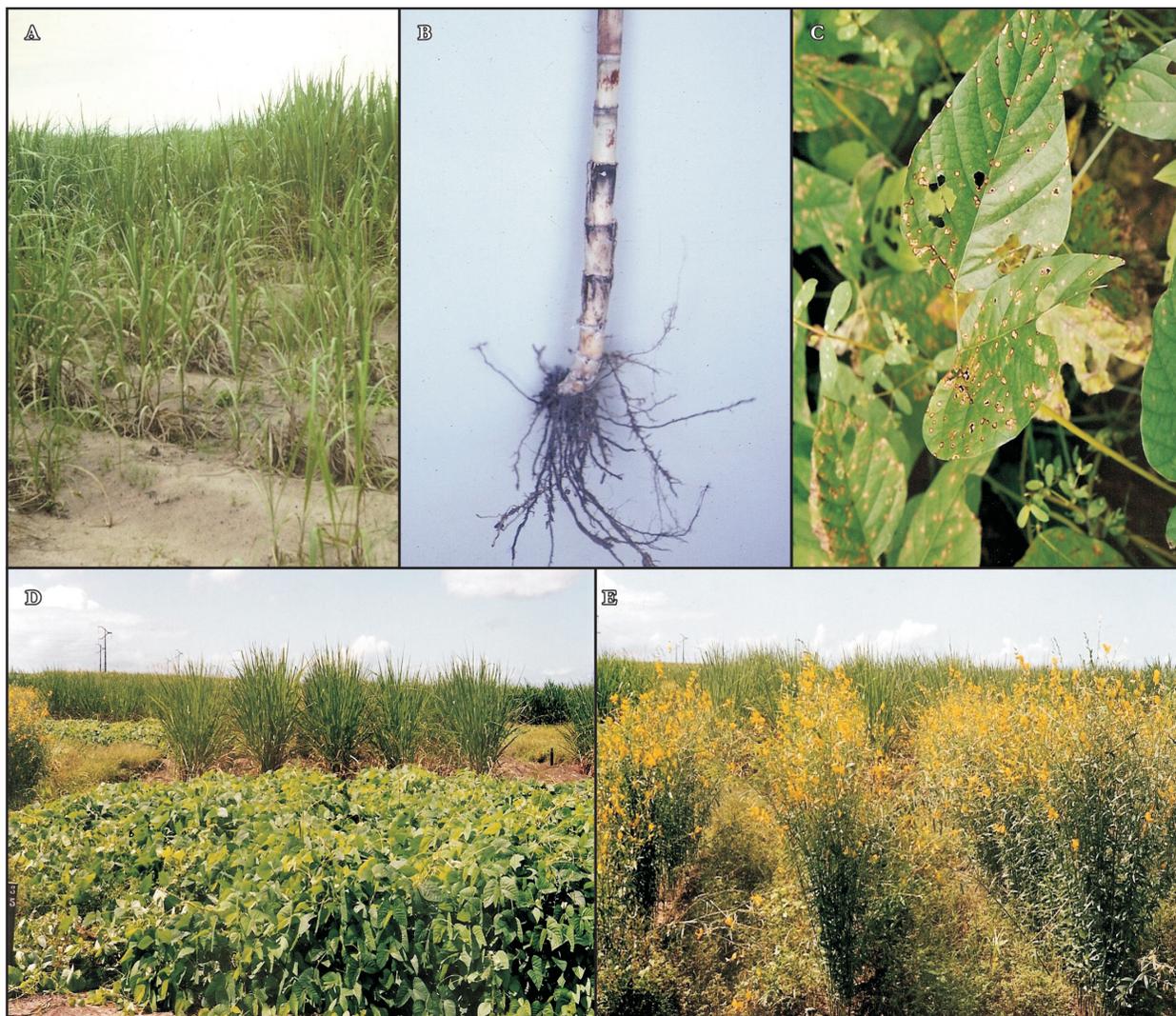


Figura 1 - Campo experimental em Goiana (PE), em solo arenoso. Sintomas da pratylenose em cana-planta, variedade SP 70 1011, formando reboleira com irregularidade de crescimento (A) e provocando sistema radicular reduzido e necrosado em cana-planta (B). Cercosporiose em mucuna preta é fator limitante do adubo verde (C). Parcela experimental de mucuna-preta, vendo-se a densa massa foliar sobre o solo (D). Parcela experimental com *Crotalaria juncea*, em floração, momentos antes da incorporação (E).

por ocasião da floração. O tratamento 6 foi igual ao 5, apenas com a inversão da sequência das leguminosas. As parcelas eram constituídas por três linhas centrais de 10 metros, onde os dados foram coletados, havendo duas linhas iguais de bordaduras. O espaçamento foi de 1,5 metros entre linhas e 3 entre blocos. Os mesmos tratos culturais foram aplicados aos dois experimentos, que tiveram a duração de dois anos (2004-2006). Os nematicidas foram o carbofuran, um carbamato, com solubilidade de 700 ppm, em formulação líquida, aplicado na dose de 2,1 litros de ia / ha, e o terbufós, organofosforado, em formulação granulada, solubilidade de 5 ppm, na dose de 10,0 kg de ia / ha. Foram estudados esses dois nematicidas de diferentes solubilidades porque

os experimentos iniciaram-se em duas épocas do ano, correspondentes a baixa precipitação pluviométrica (agosto) e ausência de chuvas (dezembro). O pousio foi usado permitindo-se o crescimento da vegetação nativa, com eliminação das raras soqueiras remanescentes das antigas plantações, que apareceram ao longo do período experimental. Quanto aos tratamentos com plantas antagonistas, no tratamento 5, fez-se o plantio da mucuna-preta no mês de março, com incorporação no fim de maio. O mês de junho foi utilizado para acelerar a mineralização da matéria orgânica incorporada. O plantio da *C. juncea* foi feito no mês de julho, com incorporação em outubro. Houve pequenas diferenças em datas de incorporação devido às florações retardadas. Durante o período de

novembro a março, as parcelas desses dois tratamentos ficaram em alqueive, por meio de limpas mecânicas. O tratamento 6 foi semelhante ao 5, com a inversão da seqüência das culturas, pelo fato de ocorrer nos meses de maio e junho incidência da cercosporiose (Figura 1C), o que provoca altos índices de desfolha. O experimento em Carpina foi implantado em agosto, com as chuvas finais do período e temperaturas do solo ainda amenas, variando entre 28 e 40 °C, nos primeiros quatro meses da cultura. O experimento em Santa Teresa foi implantado em dezembro, sem chuvas e com temperaturas do solo entre 35 e 55 °C, durante os quatro primeiros meses da cultura. Na testemunha e parcelas com aplicação de nematicidas, plantou-se cana-de-açúcar variedade SP 70 1011, suscetível ao nematoide das lesões e uma das mais cultivadas na região. Ambas as áreas só foram irrigadas por meio de pivô central e quando necessária à sobrevivência das plantas. No que concerne ao nematoide, após a marcação das parcelas, foram feitas coletas de nove subamostras, a uma profundidade de 30-40 cm, resultando numa amostra composta de aproximadamente 1,0 kg de solo por parcela. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas no mesmo dia ao laboratório, para processamento. O mesmo procedimento repetiu-se aos 3, 12 e 24 meses após o plantio, porém, nesses casos, foram incluídas aproximadamente 100 g de raízes. A extração dos nematoides do solo foi feita pelo método da flotação-centrífuga, segundo Jenkins (1964). Para as raízes, usou-se a trituração de 50 g em liquidificador, imersas em igual volume de água, seguida do peneiramento do macerado em peneira de 60 acoplada à de 400 *mesh*. O resíduo retido na segunda peneira foi recolhido e submetido ao método de Jenkins (1964). As suspensões finais contendo os nematoides foram transferidas para béqueres de 50

ml, completando-se o volume da suspensão para 20ml, adicionando-se água. Alíquotas de 3 ml foram transferidas para caixas de acrílico transparentes, devidamente calibradas, efetuando-se a contagem do número de espécimes de *P. zeae* por amostra, com auxílio de um microscópio de luz. Com as leituras foram obtidas, para cada parcela, a população inicial (P_i) e dos meses 3, 12, 24 (P_3 , P_{12} , P_{24}), correspondentes, respectivamente, ao fim do efeito residual do nematicida, colheita da cana-planta e primeira soca. Calcularam-se os fatores de reprodução (FR) pela relação P_f / P_i e, a partir daí, por meio de cálculo percentual, foram estabelecidas as reduções dos fatores de reprodução do nematoide, em relação à testemunha (RFR%). Para o diagnóstico, foram considerados os critérios da Tabela 1.

Resultados e Discussão

A condição de boa hospedeira da variedade SP 70 1011 para *P. zeae* foi confirmada pelos altos FR obtidos nas testemunhas dos dois experimentos, que foram: 22,40; 47,60 e 37,52 em Carpina e 5,49; 6,89 e 6,45 em Goiana, aos 3, 12 e 24 meses após o plantio, respectivamente (Tabela 2 e 3). O fato dos menores FR de *P. zeae* ter ocorrido na Usina Santa Teresa, onde o solo era arenoso e conseqüentemente mais favorável ao nematoide (NAS, 1968) pode estar relacionado ao período de crescimento inicial das plantas. Em Carpina a fase inicial do experimento ocorreu de agosto a novembro, quando havia chuvas escassas e temperaturas do solo ainda amenas (28 a 40 °C), condições que favorecem as plantas e os nematoides, os quais se multiplicam livremente, na presença de muitas raízes. Em Goiana, esse período ocorreu de dezembro a março, sem chuvas e com temperaturas do solo atingindo 35 a 55°C, que são desfavoráveis às plantas e ao nematoide. Temperaturas do solo

Tabela 1 – Caracterização dos efeitos dos tratamentos experimentais sobre as populações de *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar variedade SP 70 1011, para os experimentos de controle executados na Estação Experimental de Carpina, em Carpina (PE), e na Usina Santa Teresa, em Goiana (PE), em função do RFR% [redução do fator de reprodução (FR) em termos percentuais e em relação à testemunha].

RFR%	Efeitos do tratamento
0 a 25	Nulo: não diminuiu o FR; a diferença em relação à testemunha é considerado efeito do acaso
26 a 50	Baixo: diminuiu muito pouco o FR; o efeito não foi considerado satisfatório
51 a 75	Alto: diminuiu efetivamente o FR; o efeito foi considerável, mas pouco satisfatório
76 a 100	Muito alto: diminuiu efetivamente o FR; o efeito foi satisfatório ou suprimiu a população do nematoide

Tabela 2 - Número de *Pratylenchus zeae* em 300 cm³ de solo + 50 g de raízes (Pi = população inicial; P3 = aos 3 meses; P12 = aos 12 meses; P24 = aos 24 meses) e redução do fator de reprodução (RFR% aos 3, 12 e 24 meses), em diferentes tratamentos experimentais de controle, Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina, município de Carpina (PE).

Tratamentos	Pi	P3	P3 / Pi	RFR%3	P12	P12 / Pi	RFR%12	P24	P24 / Pi	RFR%24
Testemunha	33	739	22,40	-	1.572	47,60	-	1.238	37,52	-
Carbofuran	38	341	8,98	59,91	1.027	27,03	43,22	904	23,79	36,60
Terbufós	50	643	12,86	42,59	1.096	21,90	41,39	949	18,98	49,42
Pousio	24	44	1,84	91,79	47	1,96	95,89	122	5,09	86,44
Mucuna + crotalária	24	72	3,00	86,61	11	0,46	99,04	0,00	0,00	100,00
Crotalária + mucuna	22	2	0,09	99,60	8	0,37	99,23	0,00	0,00	100,00

Tabela 3 - Número de *Pratylenchus zeae* em 300 cm³ de solo + 50 g de raízes (Pi = população inicial; P3 = aos 3 meses; P12 = aos 12 meses; P24 = aos 24 meses) e redução do fator de reprodução (RFR% aos 3, 12 e 24 meses), em diferentes tratamentos experimentais de controle, Usina Santa Teresa, município de Goiana (PE).

Tratamentos	Pi	P3	P3 / Pi	RFR%3	P12	P12 / Pi	RFR%12	P24	P24 / Pi	RFR%24
Testemunha	316	1.733	5,49	-	2.177	6,89	-	2.038	6,45	-
Carbofuran	367	542	1,48	73,05	2.157	5,88	14,66	2.455	6,69	0,00
Terbufós	400	691	1,73	68,49	3.629	9,08	0,0	4.170	10,43	0,00
Pousio	326	181	0,56	89,80	69	0,21	96,96	67	0,21	96,75
Mucuna + crotalária	403	105	0,26	92,27	13	0,04	100	0	0,00	100
Crotalária + mucuna	341	151	0,45	91,81	0	0,00	100	0	0,00	100

maiores que 35 °C prolongam o ciclo de vida dos nematoides e reduzem a fecundidade (ovos / fêmea) (Croll & Matthews, 1977). É importante ser ressaltado que as plantas vegetaram em condições de ambiente natural e as irrigações só eram efetuadas quando as plantas se aproximavam do ponto de murcha permanente. Outro aspecto a se considerar é que as Pi foram muito mais altas em Goiana do que em Carpina. Nessas circunstâncias, é de se esperar uma maior competição por alimentos nas poucas raízes existentes nos três primeiros meses, o que afeta a reprodução do nematoide. Essas observações podem ter relação com os resultados não positivos obtidos com os trabalhos com nematicidas realizados no Nordeste por Moura *et al.*, (1998), Barros *et al.* (2000); Rosa *et al.* (2003) e Moura & Macedo (2005).

Em Carpina, onde os FR foram mais altos do que em Goiana, o tratamento com carbofuran, aos três meses, proporcionou controle alto (RFR% = 59,91), mas foi baixo nas demais observações. O controle aos três meses quase sempre se reflete em ganho na produtividade da cana-planta, por proporcionar maior número de perfilhos e início da formação do sistema radicular com maior vigor e melhores condições sanitárias (Moura *et al.*, 1998). Entretanto, aos 12 meses, momento da colheita, as

populações das parcelas tratadas e não tratadas com o nematicida se equivaleram, conforme já observado por Moura *et al.* (1998). Esta equivalência populacional pode ser justificada pelo fato do efeito residual dos nematicidas sistêmicos permanecer na planta por no máximo 90 dias após a aplicação, quando os nematoides passam a dispor de uma mais adequada oferta de alimentos nas plantas tratadas, e com isso multiplicam-se rapidamente, num maior volumes de raízes saudáveis. Nessas circunstâncias, esses parasitos atingem níveis populacionais altos por ocasião da colheita da cana-planta, muitas vezes equivalentes ou superiores aos das plantas não tratadas. Ainda em Carpina, o nematicida terbufós não proporcionou controle em nível alto em nenhum momento de observação, mesmo se tratando de um produto de menor solubilidade. Em Goiana, com FR mais baixos, a eficácia dos dois nematicidas foi equivalente e semelhante ao que ocorre na maioria das aplicações de rotina no Nordeste, ou seja, uma alta eficácia aos três meses, que diminui à medida que desaparece o efeito residual do produto. Mais uma vez, se confirmou que aos 12 e 24 meses, as populações dos nematoides tornam-se equivalentes ou maiores do que as das testemunhas não tratadas (Tabelas 2 e 3). No Nordeste, essas altas populações de fitonematoides

que se formam até a colheita da cana-planta iniciam o processo de parasitismo nas socas nos meses de setembro a março, que é o período de corte e moagem das usinas. Nessa época as temperaturas do solo são moderadas até outubro, mês em que se inicia o período seco, quando praticamente não há mais chuvas e as temperaturas do solo e do ar atingem as mais altas médias. Nessas áreas infestadas, com a ocorrência dessas condições ambientais, se observa, na prática, uma síndrome caracterizada por clorose e nanismo das socas, facilmente visualizadas nas reboleiras (Figura 1A).

O pousio, que é uma prática ainda adotada pelos canavieiros do Nordeste, depois de seguidos anos de insucessos em produtividade agrícola, mostrou-se efetivo, reduzindo as populações de *P. zaeae* nas três épocas de observações, nas duas localidades, sempre com reação do tipo muito alto (Tabelas 2 e 3). Esse fato foi associado à baixa ocorrência de gramíneas invasoras na cobertura florística, conforme constatado por amostragem, que mostrou média aproximada de 0,2 % de presença dessas plantas nas parcelas, em relação às demais. É esperado que *P. zaeae* tenha maior probabilidade de sobrevivência em áreas com maiores densidades e diversidade de gramíneas invasoras. Esse fato ocorreu de modo idêntico nos dois experimentos. No pousio não ocorreu erradicação e sim uma redução populacional drástica de início, permitindo, em seguida, a manutenção do nematoide em aparente nível de equilíbrio, a considerar Kerry (1987). Para o sucesso do pousio, é muito importante que o agricultor remova completamente toda socaria remanescente dos plantios anteriores, que normalmente brotam e formam touceiras mantendo os fitonematoides presentes. Pelas observações ora obtidas pode-se inferir que uma área infestada por *P. zaeae*, após a prática de pousio por um a dois anos, com cobertura florística portando baixa população de gramíneas, haverá baixa população do nematoide-alvo. Finalmente, o uso alternado da mucuna-preta (Figura 1 D) com *C. juncea*, e vice-versa, com incorporação, demonstrou incontestável eficiência no controle de *P. zaeae*. As boas características da *C. juncea* (Figura 1 E) em controlar *P. zaeae* foi primeiramente relatada no Brasil por Silva (1988). Aos três meses, quando se tinha apenas uma cultura de cada leguminosa, a mucuna-preta

praticamente suprimiu a população de *P. zaeae*, com níveis muito altos de controle nos dois locais (Carpina RFR% = 91,79 e Goiana RFR% = 92,27). Isso foi também verdadeiro para *C. juncea* (Carpina RFR% = 99,60 e Goiana RFR% = 91,81). Para ambos os tratamentos, já no primeiro ano, no momento da colheita da cana-planta, as duas culturas haviam feito baixar os índices populacionais do nematoide na proporção de 99,4 e 99,23 % em Carpina e 100 % em Goiana. Finalmente, aos 24 meses, o nematoide encontrava-se abaixo do nível de detecção, nos dois locais, ambos com RFR% = 100. O tratamento mucuna-preta mais *C. juncea* apresentou a inconveniência da ocorrência da doença fúngica cercosporiose, no mês de junho, época das chuvas mais intensas, em ambos experimentos. Essa leguminosa, antes do término do ciclo, forma uma densa massa foliar, muito próxima do solo (Figura 1D), constituindo um microclima com alta umidade, favorável à incidência de doenças foliares. Portanto, a sequência *C. juncea* mais mucuna-preta (plantio da crotalária em março e da mucuna-preta em julho) deve ser a recomendada para o Nordeste. As diferentes reações que essas duas leguminosas apresentam aos nematoides das lesões e ao das galhas fazem com que a combinação das duas, em dois plantios alternados por ano, com incorporação, exerça forte ação supressora nas populações desses nematoides, podendo se constituir em excelente método prático, não oneroso e limpo, de erradicação de fitonematoides em canaviais, a par de elevarem em muito a fertilidade do solo (Ambrosano *et al.* 1997).

Com os resultados ora obtidos, o Sistema Integrado de Controle para Fitonematoides da Cana-de-Açúcar (SIC / NCA), apresentado por Moura (2005a), originalmente proposto para dois anos, pode ser reduzido para um, com plantio da mucuna-preta seguida da crotalária.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), indispensável à realização deste trabalho; ao Dr. Djalma Simões, Chefe da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina (EECAC) e ao Grupo Técnico da Pesquisa da Usina

Santa Teresa, pelo apoio incondicional à pesquisa. Os agradecimentos são extensivos à Empresa Piraí de sementes, em Piracicaba (SP), pelo fornecimento das sementes das leguminosas.

Literatura Citada

- ALONSO, O., F.C. ALBUQUERQUE, F.L. GERALDI & C.M. PAGGIARO. 1987. Efeito do nematicida carbofuran em cana planta e duas soqueiras subseqüentes. *Nematologia Brasileira* 11: 115-124.
- AMBROSANO, E.J., E.B. WULTKE, R.T. TANAKA, H.A.A. MASCARENHAS, N.R. BRAGA & T. MURAOKA. 1997. Leguminosas para adubação verde: uso apropriado em rotações de culturas. Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo e Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 24 p.
- BARROS, A.C.B., R.M. MOURA & E.M.R. PEDROSA. 2000. Aplicação de terbufos no controle de *Meloidogyne incogita*, raça 1 e *Pratylenchus zeae* em cinco variedades de cana-de-açúcar no Nordeste. parte 1 - efeitos na cana-planta. *Nematologia Brasileira* 24 (1) 73-78.
- BIRCHFIELD, W. 1984. Nematode parasites of sugar-cane. In: Nickle, W.R. (ed) Plant and Insect Nematodes. Marcel Dekker, New York, p. 571-588.
- BRATHWAITE, C.W.D. 1976. Plant parasitic nematodes in Barbados. *Plant Disease Reporter*, 60 (4): 294-295.
- BRIDGE, J. 1988. Plant parasitic nematodes problems in the Pacific Islands. *Journal of Nematology* 20 (2): 173-183.
- CROLL, N.A. & B.E. MATTHEWS. 1977. Biology of Nematodes. A Halsted Press Book - J. Wiley and Sons, New York and Toronto.
- DICK, J. & R.H.G. HARRIS. 1975. Nematodes and sugarcane. The South African Sugar Journal. Review Paper n°. 7. The South African Sugar Industry Agronomist Association, p. 397-410.
- DINARDO-MIRANDA, L.L., V. GARCIA & C.C. MENEGATTI. 2000. Controle químico de nematóides em soqueiras de cana-de-açúcar. *Nematologia Brasileira*, 15 (1): 55-58.
- IBGE. 1999. SIDRA 9 - Sistema IBGE de recuperação automática (on line) Rio de Janeiro. <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48: 692.
- KERRY, B.R. 1987. Biological control. In: BROWN, R.H. & B.R. KERRY. Principles and Practice of Nematode Control in Crops. Academic Press, p. 233-263.
- MOURA, R.M. & A.V. ALMEIDA 1981. Estudos preliminares sobre a ocorrência de fitonematóides associados à cana-de-açúcar em áreas de baixa produtividade agrícola no Estado de Pernambuco. *Sociedade Brasileira Nematologia*, 5: 213-220.
- LEE, A.L. & H.J. ATKINSON. 1977. Physiology of Nematodes. Columbia University Press, New York, 215 p.
- MOURA, R.M. 2005a. Controle integrado dos nematóides da cana-de-açúcar no Nordeste, Brasil. Congresso Brasileiro de Nematologia, XXV, Piracicaba. Anais, p. 49-55.
- MOURA, R.M. 2005b. Nematóides de interesse agrícola assinalados pela UFRPE no Nordeste do Brasil. *Nematologia Brasileira* 29 (2): 289-292.
- MOURA, R.M. & M.E.A. MACEDO. 2005. Efeitos de aplicações similares de nematicidas sistêmicos, em cana-de-açúcar, variedade SP 70 1011, em dois diferentes ambientes do Nordeste, Brasil. Observações na cana-planta. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma, 2: 191-203.
- MOURA, R.M., M.E.A. MACEDO, E.G. SILVA & J.P. SILVA. 1998. Efeito da aplicação de carbofuran em cana-de-açúcar var. CB 45-3. *Fitopatologia Brasileira* 23: 503.
- MOURA, R.M., E.M.R. PEDROSA, S.R.V.L. MARANHÃO, M.E.A. MACEDO, A.M. MOURA, E.G. SILVA & R.F. LIMA. 2000. Ocorrência dos nematóides *Pratylenchus zeae* e *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 25: 101-103.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1968. Principles of Plant and Animal Control. Control of Plant-Parasitic Nematodes. Volume 4. National Academy of Sciences, Washington D.C., p. 172.
- NOVARETTI, W.R.T., A.R. MONTEIRO & L.C.C. FERRAZ. 1998. Controle químico de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar com carbofuran e terbufos. *Nematologia Brasileira*, 22 (1): 60-74.
- O'RELLY, J.P. & J.R.P. MILIÁN, 1971. Nematodes parasitizing sugarcane in Cuba. Entomology Sugar Cane Research Institute. Academy of Sciences, Cuba, 1-11.
- PRASAD, S.K. 1973. Nematode diseases of sugar-cane. In: WEBSTER, J.M. (ed). Economic Nematology. Academic Press, London and New York, p. 144-158.
- ROSA, R.C.T., R.M. MOURA & E.M.R. PEDROSA. 2003. Efeitos do uso de *Crotalaria juncea* e carbofuran observados na colheita da cana planta. *Nematologia Brasileira*, 27 (2) 167-171.
- SILVA, G.S. Antagonismo de espécies de *Crotalaria* a fitonematóides. (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), p. 85.
- SPAULL, W.V 1981. Nematodes associated with sugarcane in South Africa. *Phytopathology* 13(1): 175-179.

Reprodução de *Meloidogyne* spp. em Tomateiro 'Rutgers' em Solos de Cerrado com Diferentes Percentagens de Areia

João M. Charchar*, Valter R. Oliveira & Antônio W. Moita

Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970 Brasília (DF) Brasil.

*Autor para correspondência: charchar@cnph.embrapa.br

Recebido para publicação em 27 / 07 / 2007. Aceito em 23 / 12 / 2008

Editado por Mário Inomoto

Resumo – Charchar, J.M., V.R. Oliveira & A.W. Moita. 2009. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em tomateiro 'Rutgers' em solos de cerrado com diferentes percentagens de areia.

Os nematoides de galhas *Meloidogyne* spp. ocorrem em todos os tipos de solo e, dependendo da textura, podem causar severos danos às culturas. Os solos arenosos, por apresentarem maior porosidade, facilitam a movimentação dos nematoides para a infecção de plantas. Nos solos com predominância de argila, a porosidade é menor, diminuindo a infecção por nematoides. No Brasil, os cerrados são constituídos principalmente por latossolo vermelho-amarelo (LVA) e por latossolo vermelho-escuro (LVE), compostos aproximadamente por 6 a 12 % de areia e por 40 a 60 % de argila. Mesmo nestes solos argilosos, *Meloidogyne* spp. causam sérios danos às hortaliças na época de verão quente e úmido. O objetivo deste trabalho foi avaliar a reprodução de *M. incognita* raça 1, *M. javanica*, *M. petuniae* e *M. brasiliensis* em tomateiros 'Rutgers' plantados em solos de cerrado (LVA e LVE) com 30, 40, 50, 60, 70 e 80 % de areia, em condições de casa de vegetação. Solos de LVA e de LVE de cerrado natural com 6,2 e 12,0 % de areia, respectivamente, coletados no campo, foram usados como testemunhas. Os resultados mostraram que o aumento da percentagem de areia nos dois tipos de solo para até 80 % não incrementou o processo reprodutivo das espécies de *Meloidogyne* em tomateiro 'Rutgers', considerando que as médias dos números de massas de ovos (MO), total de ovos (TO) e de ovos por massa (TO / MO) de *M. incognita* raça 1, *M. javanica*, *M. petuniae* e *M. brasiliensis* diminuíram em relação às testemunhas. A espécie *M. petuniae* produziu significativamente menores MO e TO, mas igual TO / MO em relação às outras três espécies de *Meloidogyne*. Os solos de LVA e de LVE naturais de campo foram os substratos mais favoráveis para infecção e reprodução de *Meloidogyne* spp. em tomateiro 'Rutgers', comparados a todos os substratos arenosos desses solos no ambiente de casa de vegetação.

Palavras chaves: *Lycopersicon esculentum*, nematoides de galhas, infecção, solo arenoso, solo argiloso.

Summary – Charchar, J.M., V.R. Oliveira & A.W. Moita. 2009. Reproduction of *Meloidogyne* spp. on tomato 'Rutgers' in cerrado soils with different percentages of sand.

Root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. occur in all kinds of soil and, depending of the soil texture, may cause damage to many cultures. Sandy soils have large pore favorable for nematodes to move and to infect plant roots. Soil with predominant clay particles has small porosity that slow down the nematode movement. In Brazil, cerrado soils are composed mainly of red-yellow latossol (LVA) and red-dark latossol (LVE), with approximately for 6.0 to 12.0 % of sand and 40 to 60 % of clay. Even in these clay soils, *Meloidogyne* spp. cause serious damage on vegetable crops during the hot and humid summer. The objective of this paper was to evaluate the soils LVA and LVE with different percentages of sand (30, 40, 50, 60, 70, and 80 %), on infection and reproduction process of *M. incognita* race 1, *M. javanica*, *M. petuniae*, and *M. brasiliensis* on tomato 'Rutgers' seedlings grown under greenhouse conditions. Soils of natural cerrado (LVA and LVE) from the field with respectively 6.2 and 12.0 % of sand were used as control. The results showed that increasing the percentage of sand in both natural soils to values up to 80 % did not increment the reproductive process of nematodes on

tomato 'Rutgers', because the median numbers of egg masses (EM), total eggs (TE), and of eggs per egg mass (ET / EM) of *M. incognita* race 1, *M. javanica*, *M. petuniae* and *M. brasiliensis* decreased in relation to control plots. *Meloidogyne petuniae* produced significantly less EM and TE, but equal ET / EM in relation to the other three *Meloidogyne* species. The natural soil types (LVA and LVE) were more favored substrates for *Meloidogyne* spp. infection and reproduction on roots of tomato 'Rutgers', compared to all sandy substrates of these soils in the greenhouse conditions.

Key words: *Lycopersicon esculentum*, root-knot nematode, infection, sand soil, clay soil.

Introdução

Os nematoides fitoparasitas possuem ampla habilidade para infectar raízes de plantas em solos constituídos por até 88 % de areia (Brodie & Quattlebaum, 1970). No Brasil, os nematoides de galhas (*Meloidogyne* spp.) apresentam grande habilidade para infectar raízes de plantas em diversos tipos de solo, causando severos danos às culturas (Charchar, 1995). Os solos arenosos apresentam maior porosidade, o que facilita a movimentação dos nematoides no processo infectivo (Sleeth & Reynolds, 1955; Wallace, 1958; 1969). Os solos com predominância de argila apresentam porosidades menores, que podem proporcionar menor mobilidade de nematoides, principalmente, em regiões de clima frio e de baixa umidade no solo (Wallace, 1958; 1969).

Nos cerrados do Centro-Oeste do Brasil predominam os latossolos vermelho-amarelo (LVA) e vermelho-escuro (LVE), constituídos de aproximadamente 6 a 12 % de areia e de 40 a 60 % de argila. Mesmo nestes solos argilosos, *Meloidogyne* spp. causam sérios prejuízos às hortaliças na época de verão quente e úmido (Charchar, 1995). A infecção por nematoides na época de inverno frio e seco é relativamente menor, pois a densidade populacional dos nematoides e a umidade do solo são muito baixas (Charchar & Aragão, 2005).

O controle químico das espécies de *Meloidogyne*, em hortaliças nos solos de cerrado, muitas vezes não alcança o sucesso desejado, provavelmente em função da associação entre alta densidade populacional de nematoides e alta concentração de argila, que proporciona baixa ação-difusão dos produtos químicos, especialmente em condição de alta umidade no período chuvoso (Charchar *et al.*, 2003). Nos solos arenosos, por serem mais porosos, o controle químico

de nematoides torna-se mais eficaz (Wallace, 1958; 1969; Charchar *et al.*, 2000).

Portanto, estudos com aumentos graduais da percentagem de areia (areia adicionada artificialmente), em solos de LVA e de LVE de cerrado, poderiam explicar cientificamente o porquê de insucessos do controle químico das espécies de *Meloidogyne* em solos argilosos do Centro-Oeste brasileiro, já que em solos arenosos na região Norte do estado de Minas Gerais o controle químico com nematicidas é realizado com relativo sucesso (Charchar *et al.*, 2000). O objetivo deste trabalho foi avaliar a infecção e reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 1, *M. javanica*, *M. petuniae* e *M. brasiliensis* em tomateiro 'Rutgers', em LVA e LVE de cerrados contendo diferentes percentagens de areia.

Material e Métodos

Populações puras de *Meloidogyne incognita* raça 1 (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. petuniae* Charchar *et al.* e *M. brasiliensis* Charchar & Eisenback foram multiplicadas em tomateiro 'Rutgers' cultivados em vasos contendo três litros de substrato padronizado da Embrapa Hortaliças, composto de solo de cerrado, areia, esterco de gado e palha de arroz carbonizada na proporção de 3:1:1:1 em volume, adubados com 10 g da formulação 4-14-8. As mudas de tomateiro foram transplantadas com 20 dias de idade e sete dias após foram inoculadas, separadamente, com 6.000 ovos e juvenis de segundo estágio (J₂) das quatro populações puras de *Meloidogyne* spp. As plantas foram mantidas por 70 dias em casa de vegetação, antes de serem utilizadas como fontes de inóculo.

Dois solos naturais de cerrado foram utilizados como base para a adição de areia: um latossolo vermelho-amarelo (LVA) com 6,2 % de areia, 44,3 % de silte e 49,5 % de argila (pH 4,9) e um latossolo

vermelho-escuro (LVE) com 12,0 % de areia, 30,6 % de silte e 57,4 % de argila (pH 4,2). A estes solos foi adicionada areia esterilizada (com porosidades entre 75 e 150 mm), ajustando-se os teores de areia destes solos para 30, 40, 50, 60, 70 e 80 %, estabelecendo-se sete níveis de areia para cada solo (solo natural mais seis níveis de areia). Sessenta e cinco kg de solo de cada nível de areia foram adubados, de acordo com a análise química, com 400 g da formulação de NPK 4-14-8, 200 g de calcário dolomítico, 35 g de molibdato de sódio, 7 g de sulfato de zinco e 35 kg de esterco de gado curtido e esterilizado.

Dois experimentos, um com o LVA e outro com o LVE, foram conduzidos em ambiente de casa de vegetação na Embrapa Hortaliças, em Brasília (DF), no período de outubro a dezembro de 2005. Para cada experimento, vasos de plástico preto contendo 3 litros de solo foram dispostos sobre bancadas em casa de vegetação. Uma muda de tomateiro 'Rutgers' com 20 dias de idade foi transplantada para cada vaso. Dez dias após o transplante, suspensões contendo 500 J₂ das espécies *M. incognita* raça 1, *M. javanica*, *M. petuniae* e *M. brasiliensis* foram pipetadas separadamente em 5 ml de água nas raízes de cada planta de tomate. Os J₂ de *Meloidogyne* spp. inoculados foram obtidos de ovos recém eclodidos em peneira de 500 *mesh* (25 mm) incubados a 25 °C.

As plantas de tomateiro foram irrigadas manualmente com duas regas diárias de 300 ml de água cada, uma de manhã e outra à tarde. As temperaturas dos substratos dos vasos (\pm 15cm de profundidade) e do ar interno da casa de vegetação foram monitoradas diariamente e variaram de 22,0 a 31,5 °C no substrato e de 20,0 a 33,0 °C no ar, durante o período experimental.

No 55º. dia após a inoculação, as raízes de tomateiros foram separadas da parte aérea, lavadas e pesadas após serem drenadas em papel toalha. As raízes foram, em seguida, submersas em solução de floxina B por 15 minutos, para coloração das massas de ovos das diferentes populações de nematoides (Dickson & Struble, 1965). Após a coloração, determinou-se o número de massas de ovos (MO) por raiz de cada população dos nematoides, pela contagem das massas sob microscópio. O número total de ovos (TO) dos nematoides foi estimado

através do processamento da raiz no liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 1 % (Charchar *et al.*, 2006). Os ovos foram coletados em peneira de 500 *mesh* e o número de ovos por massa (TO / MO) foi calculado nas raízes de cada planta de tomateiro inoculada com cada espécie de *Meloidogyne*.

O delineamento experimental utilizado nos dois experimentos foi o de blocos ao acaso, em arranjo fatorial (7 percentagens de areia \times 4 populações de nematoides) com 8 repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com uma planta de tomateiro 'Rutgers'. Os dados dos experimentos foram submetidos à análise de variância com base no programa SAS, com diferenciação de médias pelos testes F ($P \leq 0,01$) e Tukey ($P \leq 0,05$), ajustando-se as equações de regressão para percentagens de areia.

Resultados e Discussão

Experimento com latossolo vermelho-amarelo (LVA). Houve efeito significativo de níveis de areia *versus* populações de *Meloidogyne* (teste F) para massa fresca (MFR) e seca de raízes (MSR) de plantas de tomateiro, MO e TO. Houve efeito significativo apenas de níveis de areia (teste F) para TO / MO. A adição de areia ao solo teve efeito negativo sobre MFR e MSR do tomateiro 'Rutgers' inoculado com as quatro populações de *Meloidogyne*, ocorrendo redução na massa de raízes à medida que se aumentou a percentagem de areia nos substratos de LVA, indicando que, no substrato natural (com a menor percentagem de areia), as plantas tiveram melhor desenvolvimento radicular que nos demais substratos de LVA com maiores percentagens de areia (Tabela 1; Figura 1A,B).

Em LVA natural (com 6,2% de areia), os tomateiros inoculados com *M. petuniae* apresentaram MFR estatisticamente maior (teste Tukey, $P \leq 0,05$) que os inoculados com *M. javanica*. Nos demais níveis de areia, tomateiros inoculados com *M. javanica* apresentaram MFR e MSR iguais ou menores aos inoculados com as demais populações de nematoides (Tabela 1).

O aumento percentual de areia no solo de LVA afetou negativamente o processo reprodutivo das quatro espécies de nematoides em tomateiros 'Rutgers', especialmente de *M. javanica*, que exibiu as maiores médias de MO e TO em LVA natural e exibiu redução

Tabela 1 - Massas fresca e seca de raízes de tomateiro 'Rutgers' e número de massa de ovos, número total de ovos e número de ovos por massa de quatro espécies de *Meloidogyne* em tomateiro cultivado em latossolo vermelho-amarelo (LVA) com diferentes percentagens de areia.

Areia (%)	Espécies de <i>Meloidogyne</i>				Média
	<i>M. incognita</i> raça 1	<i>M. javanica</i>	<i>M. petunia</i>	<i>M. brasiliensis</i>	
Massa fresca de raiz –MFR (g)					
6,2 LVA ¹	13,9 AB	10,0 B	17,5 A	13,5 AB	13,7
30,0	7,1 B	9,1 B	6,3 B	14,4 A	9,2
40,0	5,1 A	8,9 A	4,9 A	8,5 A	6,9
50,0	7,5 A	7,4 A	8,1 A	7,9 A	7,7
60,0	7,9 b	9,1 AB	12,6 A	7,5 B	9,3
70,0	6,8 a	4,8 A	5,5 A	7,9 A	6,3
80,0	6,8 a	4,8 A	7,8 A	6,8 A	6,6
Média	7,9	7,7	9,0	8,7	-
C.V. (%)	42,9				
Massa seca de raiz –MSR (g)					
6,2 LVA ¹	0,79 A	0,44 B	0,90 A	0,79 A	0,73
30,0	0,59 AB	0,35 C	0,45 BC	0,68 A	0,52
40,0	0,40 AB	0,35 BC	0,16 C	0,61 A	0,38
50,0	0,43 A	0,24 A	0,38 A	0,40 A	0,36
60,0	0,43 AB	0,35 B	0,60 A	0,43 AB	0,45
70,0	0,34 A	0,16 A	0,24 A	0,34 A	0,27
80,0	0,34 A	0,23 A	0,41 A	0,34 A	0,33
Média	0,47	0,30	0,45	0,51	-
C.V. (%)	40,4				
Nº. de massas de ovos / planta - MO					
6,2 LVA ¹	55,9 B	153,6 A	37,1 B	55,8 B	75,6
30,0	56,9 A	45,0 A	11,0 B	56,4 A	42,3
40,0	51,5 A	37,9 A	7,8 B	55,1 A	38,1
50,0	46,8 A	28,4 AB	4,9 B	51,1 A	32,8
60,0	45,3 A	32,5 A	3,8 B	46,6 A	32,1
70,0	42,9 A	37,6 A	3,4 B	42,9 A	31,7
80,0	43,4 A	31,0 AB	7,0 B	42,9 A	31,1
Média	49,0	52,3	10,7	50,1	-
C.V. (%)	51,3				
Nº. total de ovos / planta – TO					
6,2 LVA ¹	13.538 B	27.875 A	4.738 C	13.580 B	14.932,8
30,0	16.125 A	15.850 A	3.188 B	15.813 A	12.744,0
40,0	15.225 A	12.663 A	1.600 B	15.900 A	11.347,0
50,0	6.313 A	6.488 A	1.075 A	6.313 A	5.047,3
60,0	8.138 A	5.538 AB	813 B	8.813 A	5.825,5
70,0	10.431 A	5.038 AB	1.225 B	9.400 A	6.523,5
80,0	10.013 A	4.900 AB	1.138 B	10.430 A	6.620,3
Média	11.397,6	11.193,1	1.968,1	11.464,1	-
C.V. (%)	61,4				
Nº. de ovos / massa – TO / MO					
6,2 LVA ¹	265,9	214,3	127,1	253,8	215,3
30,0	351,9	364,4	323,1	274,4	328,5
40,0	346,8	354,9	292,6	266,0	315,1
50,0	160,0	233,6	242,4	240,3	219,1
60,0	193,9	180,8	231,9	180,8	196,9
70,0	277,8	129,3	364,4	265,3	259,2
80,0	225,3	160,6	182,0	220,4	197,1
Média	260,2	234,0	251,9	243,0	-
C.V. (%)	54,3				

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

¹Percentual de areia do latossolo vermelho-amarelo.

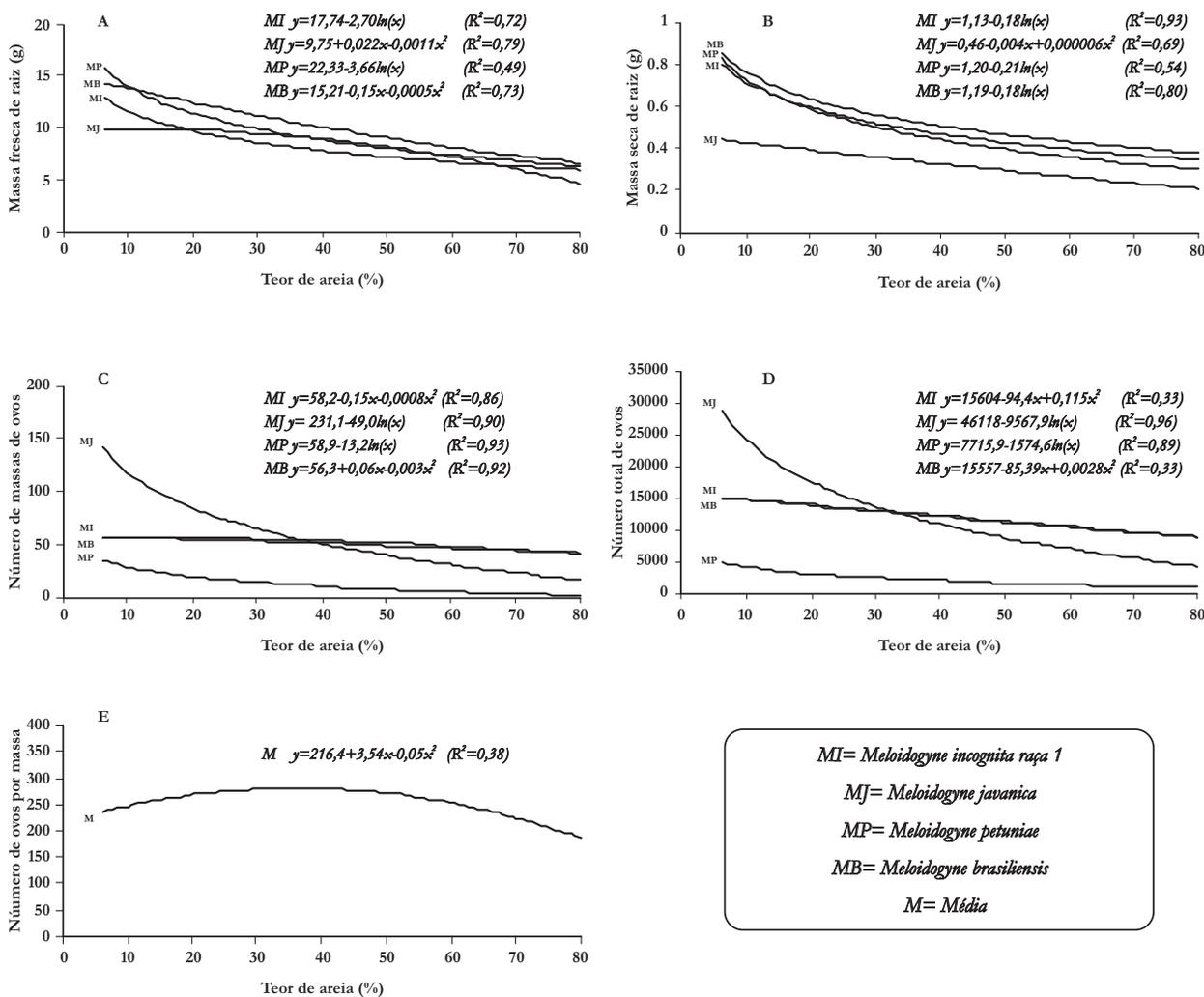


Figura 1 - Curvas de regressão de massas fresca (A) e seca (B) de raízes de tomateiro ‘Rutgers’ e número de massa de ovos (C), número total de ovos (D) e número de ovos por massa (E) de quatro espécies de *Meloidogyne* em tomateiro cultivado em latossolo vermelho-amarelo com diferentes percentagens de areia.

mais acentuada nas médias destes caracteres à medida que se aumentou o teor de areia no solo (Tabela 1; Figura 1 C,D). *M. petuniae* foi a espécie que, no geral, produziu as menores médias de MO e TO em todos os níveis de areia, indicando ser a espécie com mais baixa capacidade de infecção e reprodução em tomateiro ‘Rutgers’, em relação às demais populações de nematoides (Tabela 1).

As quatro espécies de *Meloidogyne* tiveram idênticos potenciais para a produção de TO / MO, indicados pela ausência de efeito significativo das populações de nematoides para este caráter (teste F). Entretanto, o número médio de ovos por massa foi influenciado pela percentagem de areia no solo, aumentando os valores de TO / MO até o nível de 40 % de areia no

solo e reduzindo para percentagens de areia acima deste valor (Tabela 1, Figura 1E). Deve ser salientado que os resultados obtidos para este caráter foram pouco consistentes, impossibilitando obter estimativa elevada para o coeficiente de determinação da regressão (R^2), que foi 0,38.

Experimento com latossolo vermelho-escuro (LVE). Houve efeito significativo de níveis de areia e espécies de nematoides (teste F) para MFR e MSR de plantas de tomateiro e de percentagens de areia *versus* populações de *Meloidogyne* (teste F) para MO, TO e TO / MO. À exemplo do ocorrido em solo de LVA, a adição de areia ao solo de LVE teve efeito negativo sobre MFR e MSR de tomateiros ‘Rutgers’ inoculados com populações de *Meloidogyne*, ocorrendo redução

na massa de raízes à medida que se aumentou a percentagem de areia nos substratos de LVE, independente da população de nematoide (Tabela 2; Figura 2 A,B).

Tomateiros inoculados com *M. petuniae* apresentaram MFR e MSR estatisticamente maiores ($P \leq 0,05$) que os inoculados com as outras três populações de *Meloidogyne*, que não diferiram entre si (Tabela 1). Semelhante ao ocorrido em LVA, o aumento no percentual de areia em LVE afetou negativamente o processo reprodutivo das quatro populações de nematoides em tomateiros 'Rutgers', ocorrendo redução nas médias de MO e do TO à medida que se aumentou o teor de areia no solo (Tabela 2; Figura 2 C,D). Seguindo o mesmo comportamento apresentado em LVA, *M. petuniae* foi a população que, no geral, produziu as menores médias de MO e TO em todos os níveis de areia, comprovando ser novamente a espécie com mais baixa capacidade de infecção e reprodução em tomateiros 'Rutgers' (Tabela 2; Figura 2 D).

Em relação ao caráter TO / MO, a adição de areia em LVE influenciou de forma distinta as populações de nematoides. *Meloidogyne javanica* exibiu aumento nos valores de TO / MO até o nível de 40 % de areia no solo, reduzindo para percentagens de areia acima deste valor, semelhante ao ocorrido em LVA (Figuras 2E e 1E). As demais populações de nematoides exibiram comportamento inverso, ou seja, apresentaram médias mais elevadas de MO em LVE natural e nos níveis mais altos de areia e médias menores em níveis de areia intermediários (Figuras 2E e 1E). Comparando-se a capacidade de produção de TO / MO das quatro populações de *Meloidogyne*, observa-se que *M. javanica* foi, em geral, a população com maiores médias (Tabela 2).

Considerações sobre os experimentos com LVA e LVE. As médias de MFR e MSR do tomateiro 'Rutgers' e de MO e TO das quatro populações de nematoides foram maiores em LVA e LVE naturais e reduziram gradativamente à medida que se aumentou o teor de areia no solo (Tabelas 1 e 2; Figuras 1,2). É possível que mudanças estruturais do LVA e do LVE, da condição natural de campo, constituídos originalmente por 6,2 e 12,0 % de areia, respectivamente, pela adição de até 80 % de areia,

tenha se constituído como fator principal que contribuiu na redução de MO e de TO das populações de nematoides nas raízes, bem como na redução em volume de raízes dos tomateiros (menores MFR e MSR), muito embora não se tenha observado diferenças no desenvolvimento aéreo de plantas (altura de plantas), no ambiente de casa de vegetação.

Os resultados com MO e TO em LVA indicaram que *M. javanica* mostrou ser espécie mais adaptada para infecção das raízes de tomateiro em solos argilosos, *M. incognita* raça 1 e *M. brasiliensis* mais adaptadas para infecção em solo pouco mais arenoso (30 a 40 % de areia) e *M. petuniae* com tendência para infectar raízes em solo com menor teor de areia (argilo-arenoso), ou seja, solos com até 30 % de areia (Tabela 1; Figuras 1 C,D).

Não houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os TO / MO das quatro populações (*M. incognita* raça 1, *M. javanica*, *M. petuniae* e *M. brasiliensis*) nos experimentos de LVA e de LVE, com as diferentes percentagens de areia (30 a 80 %) e nas testemunhas, indicando que estas populações de *Meloidogyne* produziram semelhante TO / MO em raízes de tomateiro (Tabelas 1 e 2; Figuras 1 C e 2 E).

As quatro populações de nematoides apresentaram maiores valores para infecção e reprodução em raízes de tomateiro 'Rutgers' nos dois latossolos naturais de cerrado, ou seja, com maior proporção de argila (49,5 % de argila em LVA e 57,4 % de argila em LVE). A maior capacidade de retenção da umidade associada à alta concentração de argila desses solos pode ser a explicação científica mais provável.

Os substratos arenosos de LVA e de LVE afetaram tanto o processo de desenvolvimento das raízes como o processo de reprodução das espécies de *Meloidogyne*, o que confirma a hipótese de Wallace (1969) de que nos solos arenosos a reprodução de nematoides é prejudicada pela evapotranspiração rápida da água ocasionada por altas temperaturas. Neste trabalho, foram registradas temperaturas máximas de 31,5 °C nos substratos avaliados e de 33,0 °C no espaço interno aéreo da casa de vegetação, apesar da adoção de duas regas diárias (manhã e tarde) dos substratos.

Com os resultados obtidos neste trabalho, compreendeu-se melhor o porquê da maior eficiência

Tabela 2. Massas fresca e seca de raízes de tomateiro 'Rutgers' e número de massa de ovos, número total de ovos e número de ovos por massa de quatro espécies de *Meloidogyne* em tomateiro cultivado em latossolo vermelho-escuro (LVE) com diferentes percentagens de areia.

Areia (%)	Espécies de <i>Meloidogyne</i>				Média
	<i>M. incognita</i> raça 1	<i>M. javanica</i>	<i>M. petuniae</i>	<i>M. brasiliensis</i>	
Massa fresca de raiz – MFR (g)					
12,0 LVE ¹	11,4	12,4	18,1	10,5	13,1
30,0	5,8	7,5	10,9	7,8	8,0
40,0	3,9	4,3	6,0	4,5	4,7
50,0	7,3	6,3	8,4	7,7	7,4
60,0	8,4	6,7	14,9	8,8	9,7
70,0	4,6	6,9	9,2	4,6	6,3
80,0	4,8	8,3	11,2	4,8	7,3
Média	6,6 B	7,5 B	11,2 A	7,0 B	-
C.V. (%)	46,1				
Massa seca de raiz – MSR (g)					
12,0 LVE ¹	0,68	0,58	0,85	0,68	0,70
30,0	0,39	0,40	0,68	0,50	0,49
40,0	0,20	0,24	0,23	0,40	0,27
50,0	0,38	0,23	0,51	0,38	0,38
60,0	0,19	0,33	0,76	0,19	0,37
70,0	0,19	0,19	0,24	0,15	0,19
80,0	0,24	0,34	0,56	0,24	0,35
Média	0,32 B	0,33 B	0,55 A	0,36 B	-
C.V. (%)	67,7				
Nº. de massas de ovos / planta – MO					
12,0 LVE ¹	105,8 A	108,6 A	40,9 B	103,9 A	89,8
30,0	67,8 B	58,4 AB	31,8 B	85,6 A	60,9
40,0	54,3 AB	29,8 BC	21,6 C	73,7 A	44,8
50,0	27,9 A	25,9 A	7,8 A	28,0 A	22,4
60,0	27,1 A	29,0 A	7,8 A	27,9 A	23,0
70,0	26,1 A	36,8 A	26,8 A	28,4 A	29,5
80,0	24,1 B	53,9 A	11,1 B	27,0 AB	29,0
Média	47,6	48,9	21,1	53,5	-
C.V. (%)	50,1				
Nº. total de ovos / planta – TO					
12,0 LVE ¹	18.213 A	18.913 A	5.063 B	17.600 A	14.947,3
30,0	10.475 A	14.000 A	3.069 B	12.213 A	9.939,3
40,0	9.163 A	7.088 AB	2.538 B	9.163 A	6.988,0
50,0	3.475 AB	6.800 A	1.125 B	3.500 AB	3.725,0
60,0	3.088 AB	6.613 A	925 B	3.700 AB	3.581,5
70,0	3.340 A	5.913 A	3.456 A	3.300 A	4.002,3
80,0	5.781 A	7.163 A	2.675 A	5.740 A	5.339,8
Média	7.647,9	9.498,6	2.693,0	7.888,0	-
C.V. (%)	59,4				
Nº. de ovos / massa – TO / MO					
12,0 LVE ¹	193,9 A	181,0 A	126,8 A	225,0 A	181,7
30,0	196,3 A	257,1 A	152,5 A	193,3 A	199,8
40,0	178,9 A	250,1 A	150,5 A	194,1 A	193,4
50,0	115,4 B	265,6 A	154,6 B	115,4 B	162,8
60,0	112,0 B	232,1 A	133,4 AB	117,3 B	148,7
70,0	102,4 A	171,4 A	122,8 A	103,1 A	124,9
80,0	273,5 A	154,9 B	252,8 AB	270,5 A	237,9
Média	167,5	216,0	156,2	174,1	-
C.V. (%)	47,6				

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).¹Percentual de areia do latossolo vermelho-escuro.

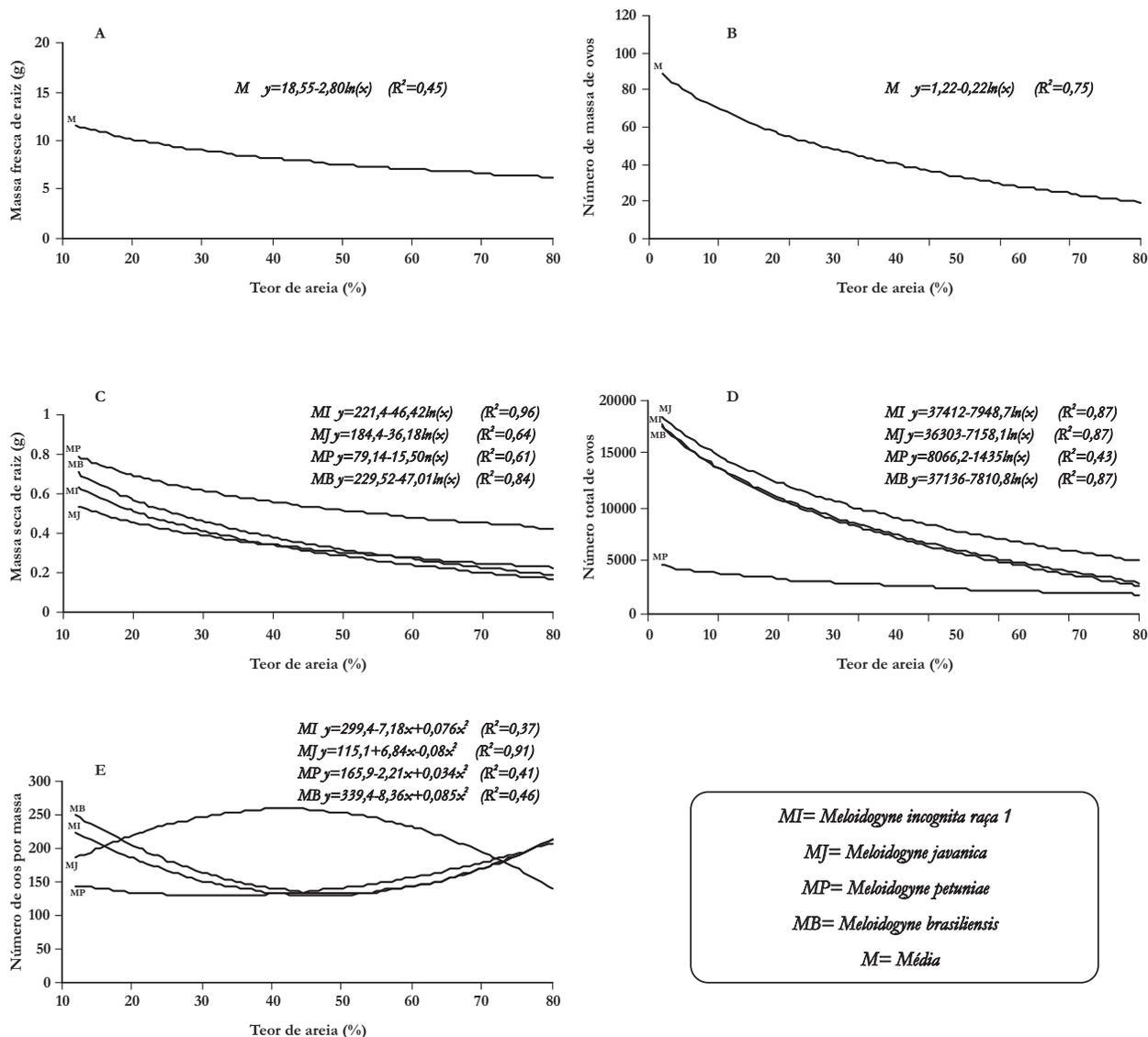


Figura 2 - Curvas de regressão de massas fresca (A) e seca (B) de raízes de tomateiro 'Rutgers' e número de massa de ovos (C), número total de ovos (D) e número de ovos por massa (E) de quatro espécies de *Meloidogyne* em tomateiro cultivado em latossolo vermelho-escuro com diferentes percentagens de areia.

do controle químico em solos arenosos do que em solos argilosos. O controle químico das espécies de *Meloidogyne* apresenta maior sucesso em solos arenosos em decorrência da menor produção de inóculo pelos nematoides, aliada à maior ação-difusão dos nematicidas, enquanto que nos solos argilosos o controle químico dos nematoides é menos eficaz, visto que a produção de inóculo dos nematoides é maior, aliada à baixa ação-difusão dos nematicidas.

Literatura Citada

BRODIE, B.B. & B.H. QUATTLEBAUM. 1970. Vertical

distribution and population fluctuation of three nematode species as correlated with soil temperature, moisture, and texture. *Phytopathology*, 60: 1286 (Abstract).

CHARCHAR, J.M. 1995. *Meloidogyne* em hortaliças. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, XXVII, Rio Quente (GO). Resumos, p. 149-153.

CHARCHAR, J.M. & F.A.S. ARAGÃO. 2005. Variação anual da população mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em cultivos de batata 'Bintje' no campo. *Nematologia Brasileira*, 29 (2): 225-231.

CHARCHAR, J.M., J. PACINNI NETO & F.A.S. ARAGÃO. 2003. Controle químico de *Meloidogyne* spp. em batata. *Nematologia Brasileira*, 27 (1): 35-40.

- CHARCHAR, J.M., J.V. VIEIRA, & C.E. FACION. 2000. Controle de nematóides das galhas em cenoura através de rotação. *Fitopatologia Brasileira*, 25 (S): 335.
- CHARCHAR, J.M., V.R. OLIVEIRA & F.A.S. ARAGÃO. 2006. Extração dos espécimens de *Meloidogyne* das raízes de tomateiros pela técnica do liquidificador. *Nematologia Brasileira*, 30 (3): 245-250.
- DICKSON, D.W. & F.B. STRUBLE. 1965. A sieving-staining technique for extraction of egg mass of *Meloidogyne incognita* from soil. *Phytopathology*, 55: 497 (Abstract).
- O'BANNON, J.H. & H.W. REYNOLDS. 1961. Root-knot nematode damage and cotton yields in relation to certain soil properties. *Soil Science*, 92 (6): 384-386.
- SLEETH, B. & H.W. REYNOLDS. 1955. Root-knot nematode infestation as influenced by soil texture. *Soil Science*, 80 (6): 459-461.
- WALLACE, H.R. 1958. Movement of eelworms. I. The influence of pore size and moisture content of the soil on the migration of larvae of the beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schmidt. *Annual of Applied Biology*, 46 (1): 74-85.
- WALLACE, H.R. 1969. The influence of nematode numbers and of soil particle size, nutrients and temperature on the reproduction of *Meloidogyne javanica*. *Nematologica*, 15 (1): 55-64.

Influência do Método de Aplicação de Nematicidas no Controle de *Pratylenchus zae* em Soqueiras de Cana-de-açúcar e Definição dos Níveis de Dano e de Controle

Wilson R. T. Novaretti^{1*} & André Martinez Reis²

¹ANNA – Laboratório de Nematologia, Rua Francisco Prestes Maia 100, 13405 – 098 Piracicaba (SP) Brasil.

²Diana – Destilaria de Alcool Nova Avanhandava, C. Postal 25, 16360 – 000 Avanhandava (SP) Brasil.

*Autor para correspondência: novarett@terra.com.br

Recebido para publicação em 18 / 10 / 2003. Aceito em 06 / 10 / 2008

Editado por Luiz Carlos Ferraz e Regina Carneiro

Resumo – Novaretti, W.R.T. & A.M. Reis. 2009. Influência do método de aplicação de nematicidas no controle de *Pratylenchus zae* em soqueiras de cana-de-açúcar e definição dos níveis de dano e controle.

Conduziu-se um ensaio em área da usina Diana de Avanhandava (SP), plantada com a variedade RB 72454 e no 4º. corte, naturalmente infestada com *Pratylenchus zae*. Dois nematicidas sistêmicos, carbofuran e terbufós, foram aplicados na soqueira de três modos diferentes, obedecendo ao delineamento experimental de blocos inteiramente casualizados. Os métodos de aplicação testados foram os seguintes: **a)** na entrelinha da cana, em um sulco de aproximadamente 5 cm de profundidade; **b)** dos dois lados da linha da cana, a cerca de 15 cm de distância da linha da cana, em dois sulcos de aproximadamente 5 cm de profundidade; **c)** na linha da cana, esparramado ou pulverizado em cima das touceiras. Conseguiram-se os melhores resultados quando os nematicidas foram aplicados mais próximos às touceiras de cana, em cima ou dos lados da linha de cana, com aumentos de produtividade que variaram de 8,14 a 11,93 toneladas de cana por ha. Os acréscimos de produtividade apresentaram correlação inversa com os níveis populacionais de *Pratylenchus zae* presentes nas raízes ou no solo, os quais foram diferentemente afetados pelos diversos métodos de aplicação testados.

Palavras chaves: métodos de aplicação, nematicidas, controle químico, *Pratylenchus zae*, cana-de-açúcar.

Summary – Novaretti, W.R.T. & A.M. Reis. 2009. Influence of the application method of nematicides on *Pratylenchus zae* control in ratoon sugarcane and definition of threshold and control levels.

An experiment was carried out in a sugarcane area at Diana sugar-mill in Avanhandava municipality (SP), cultivated with the variety RB 72454 of 4th harvest, naturally infested with *Pratylenchus zae*. Two systemic nematicides, carbofuran and terbufos, were applied on ratoon in three different ways according to a complete randomized block design. The tested application methods were as follows: **a)** in the furrow between the two crop lines, at approximately 5 cm of depth; **b)** on both sides of the crop line at 15 cm distance and at approximately 5 cm of depth; **c)** on the crop line, spread or sprayed on the top of the cane. The best control results were obtained when nematicides were applied closer to the crop line, on top or on both sides, with productivity increases ranging from 8,14 to 11,93 tonnes of cane per ha. These increases were inversely correlated with nematode population levels in the roots or in the soil, which were differently affected by different methods of application tested.

Key words: application methods, nematicides, chemical control, *Pratylenchus zae*, sugarcane.

Introdução

A associação de importantes prejuízos provocados pelos nematoides *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e

Pratylenchus zae à cultura da cana-de-açúcar no Brasil não é fato de conhecimento recente (Novaretti, 1984). Nos últimos 20 anos, inúmeras pesquisas relacionadas

a este tema foram conduzidas proporcionando avanços significativos no controle dos nematoides da cultura da cana-de-açúcar, com ênfase maior ao uso preciso e equilibrado de nematicidas, ao cultivo adequado de variedades resistentes ou tolerantes e à utilização de fontes de matéria orgânica. Ocorreu, ainda, aprimoramento das técnicas de combate aos nematoides parasitos da cana e a sua aplicação em larga escala.

A aplicação de nematicidas em soqueiras de cana-de-açúcar tem-se tornado uma atividade rotineira e rentável em várias usinas e destilarias da região Sudeste do País, e apresenta-se em fase de introdução em algumas unidades do Centro-Oeste e Nordeste do Brasil. Apesar disso, estudos a respeito são escassos, como os de Novaretti *et al.* (1980), Dinardo-Miranda *et al.* (2001), Dinardo-Miranda & Menegatti (2004) e Silva *et al.* (2006). Entre os diversos fatores que podem interferir na eficiência de nematicidas em cana soca estão a metodologia de aplicação desses produtos e os níveis populacionais de nematoides. Desse modo, o objetivo deste experimento foi avaliar comparativamente três métodos de aplicação de nematicidas em cana soca, de maneira a proporcionar maior eficiência do controle de nematoides, relacionando-os aos níveis de controle e dano da espécie *Pratylenchus zeaе*.

Material e Métodos

Conduziu-se o experimento na Fazenda Aliança, pertencente à usina Diana, localizada no município de Avanhandava (SP), em solo arenoso, cultivado com a variedade RB 72454 e no 4º. corte e plantada no espaçamento de 1,10 m. Foi instalado em dezembro de 1999, aos 35 dias após o corte, e colhido em novembro de 2000. O delineamento experimental empregado foi o de blocos inteiramente casualizados, com nove tratamentos e seis repetições, sendo a parcela experimental constituída de oito sulcos de 10 m de comprimento. Os nematicidas utilizados e respectivas doses foram: carbofuram (Furadan®) 100 G a 20 kg p.c. / ha, carbofuram (Furadan®) 350 SC a 5,7 l.p.c. / ha e terbufós (Counter®) 150 G a 13,3 kg p.c. / ha, sendo este último testado em apenas dois métodos de aplicação. Todos os tratamentos foram efetuados manualmente, parcela por parcela,

avaliando-se os seguintes métodos: **a)** aplicação na entrelinha da cana, em um sulco de cerca de 5 cm de profundidade, sendo em seguida coberto com terra; **b)** aplicação dos dois lados da linha de cana, a cerca de 15 cm de distância dela, em dois sulcos de aproximadamente 5 cm de profundidade, sendo, em seguida cobertos com terra; **c)** aplicação na linha da cana, esparramado ou pulverizado em cima das touceiras, sendo em seguida cobertos com terra.

Aos dois e seis meses após o corte da cana, ou seja, aos 30 e 150 dias após a aplicação dos nematicidas, foram coletadas amostras de raízes e solo (duas touceiras de cana por parcela), com o objetivo de avaliar a população de nematoides. As amostras de solo foram processadas pelo método de Jenkins (1964) e de raízes pelo método de Coolen & D'Herde (1972). Procedeu-se, então, à estimativa da população de nematoides do volume total de cada amostra, usando-se a lâmina de contagem de Peters. Na análise estatística de tais valores, após transformados em raiz quadrada de x , empregou-se o teste de Duncan, ao nível de probabilidade de 5 %, para comparação entre as médias. Na análise da produtividade da cana, obtida na colheita efetuada aos 11 meses após o último corte, foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os valores de níveis populacionais de *Pratylenchus zeaе*, o principal nematoide parasito da cana-de-açúcar presente na área experimental, obtidos em 50 g de raízes e 1.000 cm³ de solo, aos dois e seis meses após o corte da cana, podem ser encontrados nas Tabelas 1 e 2. A redução percentual resultante do controle exercido pelos tratamentos nematicidas encontram-se nas mesmas Tabelas. Verifica-se que todos os tratamentos nematicidas testados reduziram significativamente a população de *P. zeaе* nas raízes e no solo, tanto aos dois como seis meses após o corte da cana, com reduções de até 75,96 % nas raízes e 76,13 % no solo. Entretanto, observa-se que as reduções na quantidade de nematoides foram mais expressivas nos tratamentos em que os nematicidas foram aplicados próximos às touceiras de cana, ou seja, em cima da linha de cana (método **c**) ou dos dois lados das touceiras (método **b**).

Tabela 1 - População de juvenis e adultos de *Pratylenchus zeae* em 50 g de raízes e 1.000 cm³ de solo, aos dois meses após o corte da cana, de acordo com os tratamentos nematicidas e os métodos de aplicação [a) entrelinha da cana; b) dois lados da linha de cana; c) linha da cana].

Tratamentos	Método de Aplicação	Raízes (50 g)		Solo (1.000 cm ³)	
		População	Red. % ¹	População	Red. % ¹
Testemunha	-	2.633 a	-	1.508 a	-
Carbofuram 100 G - 20 kg p.c. / ha	a	2.117 abc	19,60	1.300 ab	13,79
Idem	b	633 d	75,96	392 c	74,01
Idem	c	717 d	72,77	625 bc	58,55
Carbofuram 350 SC - 5,7 l p.c. / ha	a	2.100 abc	20,24	900 abc	40,32
Idem	b	933 cd	64,57	450 c	70,16
Idem	c	967 cd	63,27	658 bc	56,37
Terbufós 150 G - 13,3 kg p.c. / ha	a	2.400 ab	8,85	1.150 ab	23,74
Idem	b	1.033 bcd	60,77	800 abc	46,95

Dados originais; para a análise, os dados foram transformados em *raiz quadrada de x*; médias seguidas de mesmas letras, dentro das mesmas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

¹Redução percentual em relação à testemunha.

Tabela 2 - População de juvenis e adultos de *Pratylenchus zeae* em 50 g de raízes e 1.000 cm³ de solo, aos seis meses após o corte da cana, de acordo com os tratamentos nematicidas e os métodos de aplicação [a) entrelinha da cana; b) dois lados da linha de cana; c) linha da cana].

Tratamentos	Método de Aplicação	Raízes (50 g)		Solo (1.000 cm ³)	
		População	Red. % ¹	População	Red. % ¹
Testemunha	-	11.900 a	-	3.842 a	-
Carbofuram 100 G - 20 kg p.c. / ha	a	7.683 abc	35,44	1.992 ab	48,15
Idem	b	4.233 bc	64,43	1.583 bc	58,78
Idem	c	3.333 c	71,99	917 com	76,13
Carbofuram 350 SC - 5,7 l p.c. / ha	a	9.767 ab	17,92	2.342 ab	39,04
Idem	b	5.717 bc	51,96	1.758 bc	54,24
Idem	c	5.817 bc	51,12	1.625 bc	57,70
Terbufós 150 G - 13,3 kg p.c. / ha	a	6.000 bc	49,58	1.558 bc	59,45
Idem	b	6.617 bc	44,39	1.258 bc	67,26

Dados originais; para a análise, os dados foram transformados em *raiz quadrada de x*; médias seguidas de mesmas letras, dentro das mesmas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

¹Redução percentual em relação à testemunha.

De acordo com Dillewijn (1952), o sistema radicular de uma cana planta com dois meses de idade atingiria aproximada 20 cm a partir do centro de touceira (Figura 1); na soqueira, o comportamento não seria muito diferente. Desse modo, a colocação dos nematicidas mais próximos à touceira da cana (métodos **b** e **c**) permitiria aproveitamento quase que imediato dos produtos, melhorando a sua atividade sistêmica, principal mecanismo de controle dos nematoides endoparasitos.

Os valores de produtividade e aumento de produtividade (Tabela 3) refletem os resultados de controle do nematoide presente na área do ensaio.

Assim, aumentos de 9,28 e 11,93 t / ha em relação à testemunha foram alcançados nos métodos **c** e **b**, respectivamente, com o carbofuram 100 G a 20 kg p.c. / ha, enquanto que o mesmo tratamento aplicado na entrelinha da cana (método **a**) resultou em incremento de apenas 6,25 t / ha. Resultados semelhantes foram alcançados com a formulação líquida de carbofuram: 8,14 e 9,28 t / ha de acréscimo para os métodos **b** e **c**, respectivamente, comparadas as 5,49 t / ha obtidos pelo método **a**.

O nematicida terbufos, testado apenas nos métodos **a** e **b**, contribuiu para aumento de produtividade de 9,47 t / ha para o método **b** contra

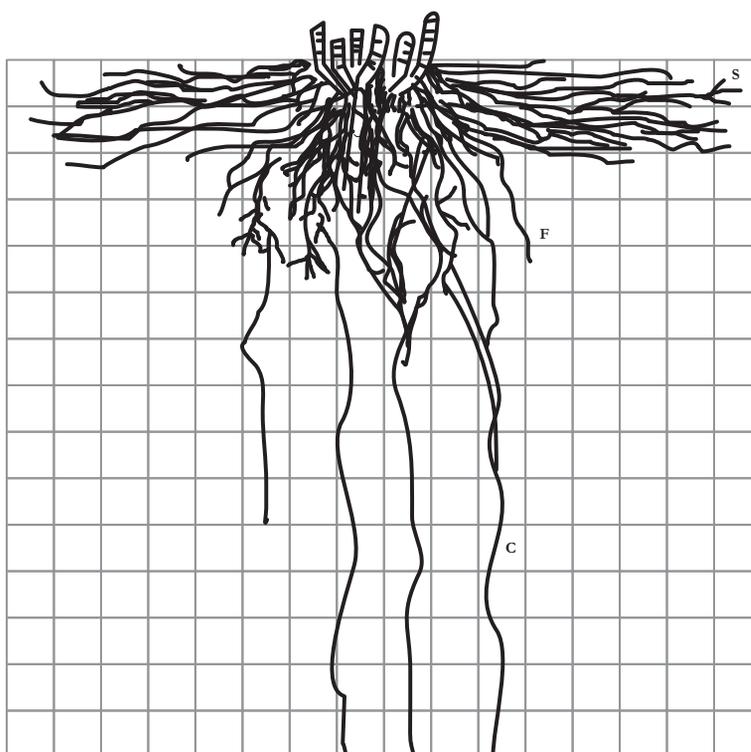


Figura 1 - Sistema radicular de cana planta aos dois meses de idade (aproximadamente), mostrando os diferentes tipos de raízes (S = absorventes; F = fixação; C = cordões (adaptado de Dillewijn, 1952)

Tabela 3 - Produtividade de cana e aumentos de produtividade observados na colheita, em função dos tratamentos nematicidas e dos métodos de aplicação **a)** entrelinha da cana; **b)** dois lados da linha de cana; **c)** linha da cana].

Tratamentos	Método de Aplicação	Produtividade (t / ha)	Aumento da Produtividade	
			t / ha	%
Testemunha	-	78,60 b	-	-
Carbofuran 100 G - 20 kg p.c. / ha	a	84,85 ab	6,25	7,95
Idem	b	90,53 a	11,93	15,18
Idem	c	87,88 a	9,28	11,81
Carbofuran 350 SC - 5,7 l p.c. / ha	a	84,09 ab	5,49	6,99
Idem	b	86,74 a	8,14	10,36
Idem	c	87,88 a	9,28	11,81
Terbufós 150 G - 13,3 kg p.c. / ha	a	83,72 ab	5,12	6,51
Idem	b	88,07 a	9,47	12,05

Médias seguidas de mesmas letras dentro das mesmas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

5,12 t / ha para o método **a**. Desse modo, os valores de aumento de produtividade de cada tratamento confirmam as observações das contagens de nematoides, revelando que o melhor controle é atingido quando os produtos nematicidas são aplicados mais próximos às touceiras de cana.

De posse dos valores de aumento de produtividade de cada tratamento e da quantidade

de nematoides, que mostraram diferenças na eficiência de controle e, portanto, diferentes níveis populacionais de *P. zeae*, foram feitos estudos de correlação, objetivando aperfeiçoar e/ou confirmar os valores atuais de níveis de dano e/ou controle para o nematoide em questão e a variedade em estudo. Nas Figuras 2 e 3 constam os estudos de correlação entre população de *P. zeae* em 50 g de raízes e 1000 cm³ de

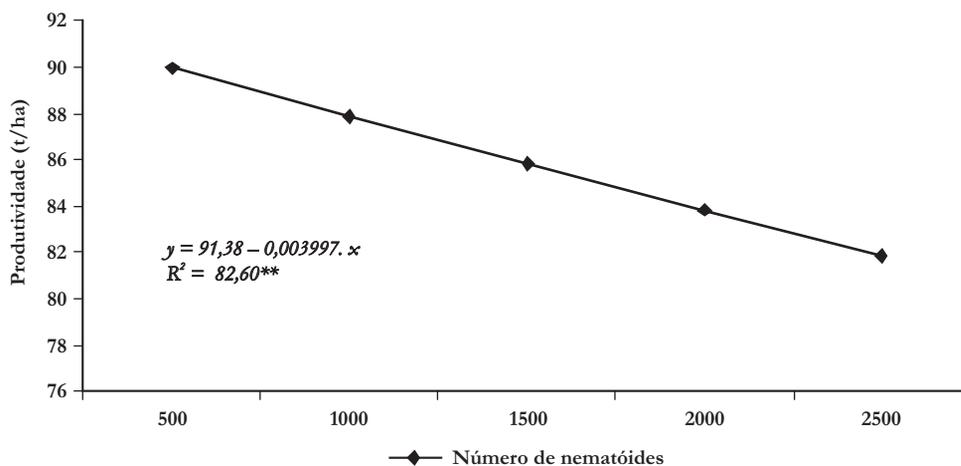


Figura 2 - Correlação entre população de *P. zeae* nas raízes (50 g), aos dois meses após o corte e produtividade de cana (t / ha), em função dos tratamentos testados.

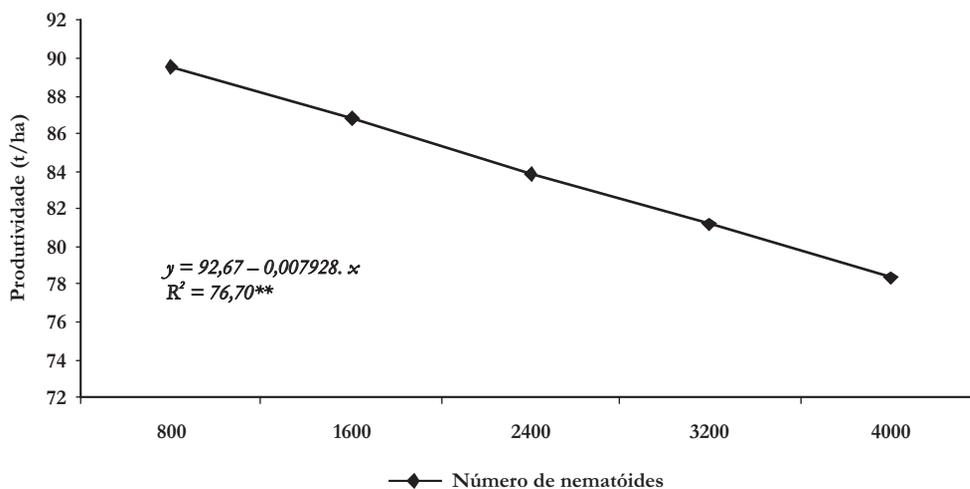


Figura 3 - Correlação entre população de *P. zeae* no solo (1.000 cm³), aos dois meses após o corte e produtividade de cana (t / ha), em função dos tratamentos testados.

solo, respectivamente, aos dois meses após o corte da cana e a produtividade de cana (t / ha), de acordo com os tratamentos nematicidas testados.

As correlações significativas foram significativas ($P < 0,01$) e são representadas pelas seguintes equações de primeiro grau: $y = 91,83 - 0,003997 x$ e $y = 92,67 - 0,00798 x$, em que y é igual à produtividade de cana (t / ha) e o x à população de *P. zeae* em 50 g de raízes ou 1.000 cm³ de solo, respectivamente. Desse modo, pode-se estimar que para cada 1.000 nematoides / 50 g de raízes, aos dois meses após o corte, para a variedade em questão, perde-se 3,997 t de cana por ha, ou, mais corretamente, é possível recuperar essa quantidade de cana com o tratamento nematicida. O

mesmo fato ocorre com a população de *P. zeae* no solo (Figura 3) em que, para cada 1.000 nematoides / 1.000 cm³ de solo, aos dois meses após o corte, calcula-se redução de produtividade 7,928 t / ha. Tomando-se o custo dos tratamentos nematicidas em t de cana por ha, é possível estimar a população de nematoides nas raízes ou no solo (nível de controle) acima da qual poder-se-á alcançar retorno econômico compensador com o tratamento químico de nematoides em cana soca.

É óbvio que, além do nível populacional de nematoides, outros fatores deverão ser levados em conta na definição pela aplicação de nematicidas em cana soca; o potencial de produtividade é um deles.

Os acréscimos alcançados com o uso de nematicidas em soqueira têm sido de 10 a 15 % em relação à testemunha não tratada, conforme pesquisa de Dinardo-Miranda & Garcia (2002), que obtiveram aumento de produtividade de 14,88 % em relação à testemunha, com o nematicida carbofuram na formulação 100 G na dosagem de 22,7 kg p.c. / ha, aplicado aos 60 dias depois do corte. Desse modo, em canavial com capacidade produtiva 40 a 50 t / ha, dificilmente o emprego de nematicidas será compensador. Nas Figuras 4 e 5 constam os estudos de correlação entre as produtividades de cana (t / ha) encontradas nos diversos tratamentos e as populações de nematoides estimadas aos seis meses após o corte

da cana, nas raízes e no solo, respectivamente.

A correlação negativa ilustrada na Figura 4 ($P < 0,01$), é explicada pela equação de primeiro grau $y = 93,41 - 0,001119 x$, em que y é a produtividade de cana (t / ha) e x , a quantidade de juvenis e adultos de *P. zea* em 50 g de raízes. A equação revela que, para cada 1.000 nematoides assinalados em 50 g de raízes, aos seis meses após o corte, há diminuição de produtividade de 1,119 t de cana por ha. O mesmo fato poder ser descrito para o fenômeno observado no solo, em que a equação encontrada $y = 92,38 - 0,003501 x$ (Figura 5) relata que, para cada 1.000 nematoides em 1000 cm³ de solo, a perda é de 3,501 t de cana por ha.

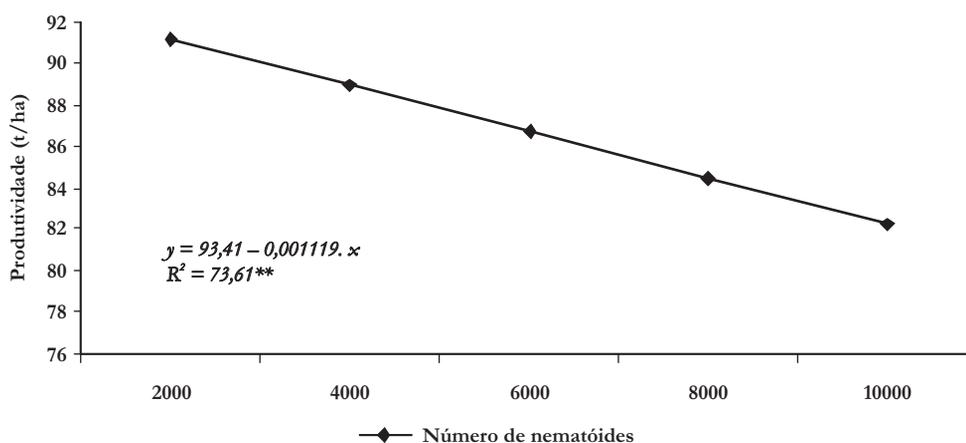


Figura 4 - Correlação entre população de *P. zea* nas raízes (50 g), aos seis meses após o corte e produtividade de cana (t / ha), em função dos tratamentos testados.

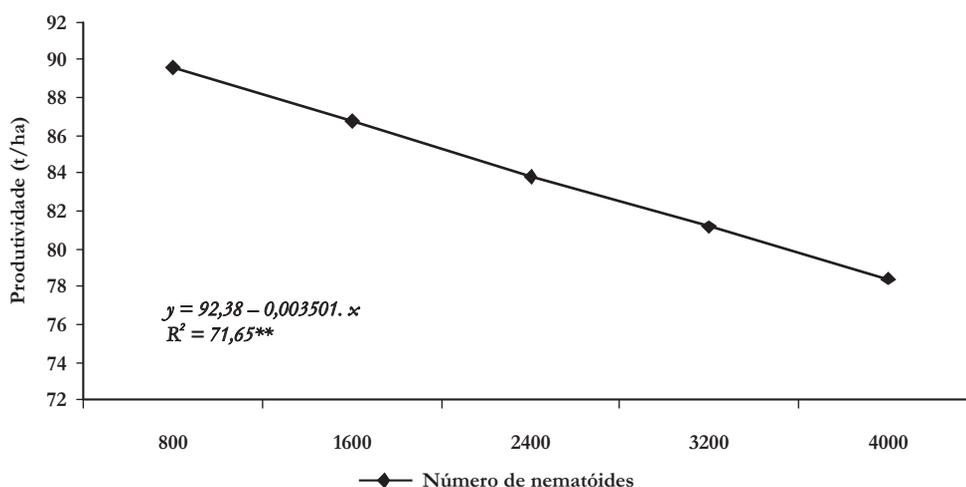


Figura 5 - Correlação entre população de *P. zea* no solo (1.000 cm³), aos seis meses após o corte e produtividade de cana (t / ha), em função dos tratamentos testados.

Analisando novamente os custos em t de cana por ha de um tratamento nematicida qualquer, é possível identificar, a qualquer momento, o nível de dano econômico desse nematoide para condições semelhantes em que foi conduzido o ensaio e utilizar as populações estabelecidas (nível de controle) para eventual tratamento químico da soqueira no próximo ciclo, conforme proposto por Novaretti (1997).

Portanto, os melhores resultados de controle foram alcançados com os nematicidas aplicados próximos às touceiras de cana e os aumentos de produtividade foram inversamente correlacionados com os níveis populacionais de *P. zeae* presentes nas raízes ou no solo, que por sua vez foram afetados pelos diversos métodos de aplicação dos nematicidas testados.

Literatura Citada

- COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Agricultural Reserch Center, Ghent, 77 p.
- DILLEWIJN, C.V. 1952. Botany of Sugarcane. Chronica Botanica, Waltham, 371 p.
- DINARDO-MIRANDA, L.L. & W. GARCIA. 2002. Efeito da época de aplicação de nematicidas em soqueira de cana-de-açúcar. Nematologia Brasileira 26 (2): 177-180.
- DINARDO-MIRANDA, L.L. & C.C. MENEGATTI. 2004. Efeito de nematicidas aplicados no plantio e na soqueira da cana-de-açúcar. Nematologia Brasileira 28 (1): 87-96.
- DINARDO-MIRANDA, L.L., C.C. MENEGATTI, W. GARCIA & J.P. PIVETTA. 2001. Eficiência de nematicidas em soqueiras de cana-de-açúcar. STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos, 19 (6): 30-33.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, 48: 692.
- NOVARETTI, W.R.T. 1984. Control of root-knot nematode on sugar cane in Brazil. In: Research Planning Conference on Root-knot Nematodes - Region III. Proceedings, Raleigh, p. 111-123.
- NOVARETTI, W.R.T. 1997. Controle de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar com nematicidas, associados ou não à matéria orgânica. (Tese de Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 87 p.
- NOVARETTI, W.R.T., L.G.E. LORDELLO, E.J. NELLI & J.O. CARDERÁN. 1980. Viabilidade econômica do nematicida carbofurano na cultura da cana-de-açúcar: cana de segundo corte. Nematologia Brasileira, 4: 179-196.
- SILVA, M.A., R.P. PINCELLI & L.L. DINARDO-MIRANDA. 2006. Efeito da aplicação de nematicidas em soqueira de cana-de-açúcar, em diferentes épocas, sobre a população de *Pratylenchus zeae* e atributos biométricos e tecnológicos da cultura. Nematologia Brasileira, 30 (4): 29-34.

Reação de Gramíneas Forrageiras a *Pratylenchus brachyurus*

Cláudia R. Dias-Arieira^{1*}, Silamar Ferraz² & Regina C. Ferreira Ribeiro³

¹Universidade Estadual de Maringá - *Campus* Regional de Umuarama, 87507-190 Umuarama (PR) Brasil.

²Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa (MG) Brasil.

³Universidade Estadual de Montes Claros - *Campus* de Janaúba, C. Postal 91, 39440-000 Janaúba (MG) Brasil.

*Autora para correspondência: cdiasarieira@brturbo.com.br

Recebido para publicação em 14 / 01 / 2008. Aceito em 25 / 06 / 2008

Editado por Mário Inomoto

Resumo - Dias-Arieira, C.R., S. Ferraz & R.C.F. Ribeiro. 2009. Reação de gramíneas forrageiras a *Pratylenchus brachyurus*.

Diversas gramíneas forrageiras têm mostrado potencial para a rotação de culturas com a soja visando ao controle de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*. Contudo, o cultivo de gramíneas pode promover o aumento na população de outros nematóides que também parasitam a soja, como é o caso de *Pratylenchus* spp. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar, em casa de vegetação, a reação de *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *Panicum maximum* 'Guiné' e *Andropogon gayanus* 'Planaltina' a *Pratylenchus brachyurus*. Mudanças das gramíneas foram transplantadas para vasos e inoculadas com 2.000 espécimes (juvenis e adultos) do nematóide. Soja 'FT-Cristalina' e milho 'BR-106' foram inoculados como controle. Após 60 dias da inoculação, os sistemas radiculares das plantas foram coletados e os nematóides foram extraídos através da trituração das raízes. Coletaram-se também 100 cm³ de solo dos vasos, dos quais se realizou a extração do nematóide. Os resultados mostraram que o maior número de nematóides foi observado no sistema radicular da soja (17.922 espécimes), seguida do milho (8.317). Todas as gramíneas apresentaram número de nematóide significativamente inferior aos controles, com médias variando de 498 para *B. decumbens* até 2.987 para *P. maximum* 'Guiné'. Menor fator de reprodução foi observado para *B. brizantha* e *B. decumbens*. O número de nematóides recuperados do solo foi estatisticamente igual para todos os tratamentos.

Palavras chaves: nematóide das lesões, *Brachiaria*, *Andropogon*, *Panicum*, soja, rotação de culturas.

Summary - Dias-Arieira, C.R., S. Ferraz & R.C.F. Ribeiro. 2009. Reaction of forage grasses to *Pratylenchus brachyurus*.

Some forage grasses have shown potential for crop rotation with soybean to control nematodes such as *Meloidogyne* spp. and *Heterodera glycines*. However, those grasses may act as good hosts to other nematode species that infect soybean, as *Pratylenchus* spp. Thus, the objective of the present work was to evaluate, under greenhouse conditions, the reaction of the *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *Panicum maximum* 'Guiné' and *Andropogon gayanus* 'Planaltina' to *Pratylenchus brachyurus*. Grass seedlings were transplanted to pots and inoculated with 2,000 juveniles and adults. Soybean 'FT-Cristalina' and maize 'BR-106' were used as controls. Sixty days after inoculation the root systems were collected and nematodes were extracted from the roots. Nematodes were also extracted from 100 cm³ of soil. The results showed that soybean was a very good host (17,922 specimens), followed by maize (8,317). Nematode number in the roots of all grasses were significantly smaller than the controls, varying from 498 in *B. decumbens* to 2,987 in *P. maximum* 'Guiné', and did not differ among themselves. Lower reproduction factors were observed to *B. brizantha* and *B. decumbens*. Number of *P. brachyurus* recovered from soil was equal in all treatments.

Key words: lesion nematodes, *Brachiaria*, *Andropogon*, *Panicum*, soybean, crop rotation.

Conteúdo

A rotação de culturas é comprovadamente uma das medidas mais eficientes para o controle de fitonematóides. No Brasil, nas áreas de cultivo de soja em que ocorrem nematóides como *Heterodera glycines* ou *Meloidogyne* spp., esta prática é bastante difundida, sendo o milho a espécie mais utilizada para tal fim. Porém, muitas cultivares de milho são suscetíveis aos nematóides de galhas (Lordello *et al.*, 2001; Asmus & Andrade, 1997) e o seu cultivo não deve ser continuamente efetuado nestas áreas. Assim, a busca por outras espécies que possam ser usadas em rotação é uma constante. Dias-Arieira *et al.* (2003a,b) avaliaram o potencial de gramíneas forrageiras em controlar populações isoladas e mistas de nematóides, compostas por *H. glycines*, *M. incognita* e *M. javanica*. De 15 espécies inicialmente avaliadas, *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *Andropogon gayanus* 'Planaltina' e as cultivares de *Panicum maximum* foram as que apresentaram resultados mais promissores. No entanto, sabe-se que gramíneas forrageiras podem promover a reprodução de alguns fitonematóides, dentre eles *Pratylenchus* spp.

Pratylenchus brachyurus caracteriza-se por ser uma espécie polífaga e extremamente comum em regiões de climas tropicais. Dentre as inúmeras espécies vegetais suscetíveis a este fitonematóide está a soja. A ocorrência de *P. brachyurus* em soja altera o desenvolvimento do sistema radicular, causa amarelecimento foliar e pode reduzir a produção, dependendo da densidade em que ocorre no solo (Schmitt & Barker, 1981). Em levantamento realizado nas áreas produtoras de soja da Carolina do Norte, *Pratylenchus* spp. foi detectado em 72 % das amostras (Koenning & Barker, 1998). No Brasil, nas regiões produtoras de soja do Vale do Paranaíba, espécies de *Pratylenchus* foram constatadas em 28 amostras das 784 examinadas (Jaehn *et al.*, 1998), enquanto nas áreas de cultivo de soja da região de Dourados, em 4 % das amostras (Pípolo *et al.*, 1997). Na região do cerrado brasileiro, *P. brachyurus* foi encontrado associado aos solos de plantio de *P. maximum* 'Trichoglume' e *B. decumbens*, em taxas de 70 % e 62 %, respectivamente (Sharma, 1978). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a reação de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *A. gayanus* 'Planaltina' e *P. maximum* 'Guiné' a *P.*

brachyurus.

Para a realização do experimento, mudas das gramíneas *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *Andropogon gayanus* 'Planaltina' e *Panicum maximum* 'Guiné' foram produzidas em bandejas contendo areia, previamente esterilizada. Milho 'BR-106' e soja 'FT-Cristalina' foram usados como testemunhas. As mudas foram transplantadas para vasos com 2,5 l de capacidade e, após dois dias, foram inoculadas com suspensão de 4 ml, contendo aproximadamente 2.000 espécimes (juvenis e adultos) de *P. brachyurus*. O nematóide foi extraído a partir de uma população pura mantida em milho.

Decorridos 60 dias da inoculação, o sistema radicular das plantas e 100 cm³ de solo foram coletados para avaliação. Os sistemas radiculares foram lavados e pesados e a extração dos nematóides foi realizada segundo Coolen & D'Herde (1972). As amostras obtidas foram avaliadas quanto ao número de espécimes, utilizando-se câmara de Peters, sob microscópio óptico. Os nematóides foram extraídos do solo usando a metodologia proposta por Jenkins (1964) e avaliados conforme descrito anteriormente, sendo os valores extrapolados para 2.000 cm³ de solo. Com os valores obtidos calculou-se o fator de reprodução (Oostenbrink, 1966), considerando como população final o somatório de número total de nematóides por sistema radicular e do número de nematóides no solo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com sete repetições. Os dados foram analisados usando o programa estatístico SAEG e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Maior número de nematóides foi observado para a soja, cuja média foi de 17.922 espécimes / sistema radicular e com fator de reprodução (FR) igual a 8,96 (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Johnson *et al.* (1998) e Inomoto *et al.* (2007), nos quais a soja também promoveu significativa reprodução de *P. brachyurus*. Todas as gramíneas forrageiras avaliadas apresentaram médias de nematóides por sistema radicular significativamente inferiores àquelas observadas para a soja (Tabela 1). Dessas, maior suscetibilidade ao nematóide ficou comprovada para *P. maximum* 'Guiné'. Esses resultados corroboram

Tabela 1 - Número de *Pratylenchus brachyurus* nas raízes e no solo de gramíneas forrageiras, soja e milho e fator de reprodução (FR), após 60 dias de inoculação.

Tratamentos	Raízes ¹	Solo ¹	FR
Soja 'FT-Cristalina'	17.922 a	1.529 a	9,7
Milho 'BR-106'	8.317 b	3.297 a	5,9
<i>Panicum maximum</i> 'Guiné'	2.987 c	3.560 a	3,2
<i>Adropogon gyanus</i> 'Planaltina'	2.176 cd	2.360 a	2,3
<i>Brachiaria brizantha</i>	563 d	2.940 a	2,0
<i>Brachiaria decumbens</i>	498 d	3.466 a	1,8

¹Dados originais; para análise, os dados foram transformados para $\sqrt{(x + 1)}$; médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

aqueles obtidos por Machado *et al.* (2000) e Inomoto *et al.* (2007), nos quais *P. maximum* 'Colonião', 'Tanzânia' e 'Mombaça' apresentam reação de suscetibilidade a *P. brachyurus*.

Os FR observados para as espécies *B. brizantha* e *B. decumbens* foram de 2,0 e 1,8, respectivamente (Tabela 1). Apesar dessas espécies apresentarem os menores números de nematóides por sistema radicular, o trabalho confirma os resultados de Charchar & Huang (1980), Machado *et al.* (2000) e Inomoto *et al.* (2007), que descreveram *Brachiaria* spp. como suscetíveis a *P. brachyurus*.

Inomoto *et al.* (2007) discutem a maior afinidade que determinadas populações de *P. brachyurus* podem apresentar pelas gramíneas do gênero *Brachiaria*, uma vez que os FR das populações Pb₂₀ e Pb₂₄ em *B. brizantha* e *B. decumbens* foram de 3,50 e 9,71 e 1,79 e 5,65, respectivamente. Tal observação pode explicar os resultados obtidos no presente trabalho, podendo o mesmo ser conferido à variabilidade apresentada pelas diferentes populações do nematóide e das espécies avaliadas. Essa variabilidade foi também observada por Siqueira & Inomoto (2006), estudando o patossistema *P. brachyurus* – feijão de corda (*Vigna unguiculata*).

O milho é hoje a cultura mais comumente usada em rotação de cultura com a soja, contudo, neste trabalho, ele apresentou hospedabilidade a *P. brachyurus* superior àquela observada para as gramíneas forrageiras, com média de 8.317 nematóides / sistema radicular e FR igual a 5,9 (Tabela 1). No trabalho realizado por Sharma & Scolari (1984), apesar de o milho ter promovido a redução na população de *M. javanica*, houve um aumento significativo da população

de *P. brachyurus*. No Quênia, em um levantamento realizado por Kimenju *et al.* (1998), nematóides do gênero *Pratylenchus* foram encontrados em 73,3 % das áreas de cultivo de milho avaliadas, sendo *P. zeae* a espécie mais comum, presente em 72,5 % das amostras, enquanto *P. brachyurus* foi encontrado em 6,7 %.

Nos Estados Unidos, *Pratylenchus* spp. estão entre os nematóides mais comumente associados à redução na produção de soja, perdendo apenas para *H. glycines* e *Meloidogyne* spp. (Koenning *et al.*, 1999). No Mato Grosso, a produtividade de soja 'Tucano' e 'Uirapuru' foi significativamente reduzida quando cultivadas em reboleiras com infestação de *P. brachyurus* (Silva & Pereira, 2003). Apesar da comprovada patogenicidade desse nematóide a essa cultura, em alguns levantamentos realizados em áreas de cultivo de soja no Brasil, *Pratylenchus* spp. foi constatado em baixa frequência (Pípolo *et al.*, 1997; Jaehn *et al.*, 1998). O baixo número de *Pratylenchus* registrado nestes levantamentos pode ser devido ao fato de que os nematóides mais comumente encontrados em áreas de plantio de soja serem do gênero *Meloidogyne*. Uma vez que, em geral, nematóides do gênero *Pratylenchus* sofrem um efeito antagônico quando associado aos nematóides de galhas, suas populações tendem a diminuir sob essas condições. Isto foi observado em soja, tanto para ocorrência de *P. brachyurus* e *M. incognita* (Herman *et al.*, 1988), quanto para a ocorrência de *P. brachyurus* e *M. javanica* (Ferraz, 1995).

Segundo Johnson (1985), o sistema de rotação de culturas ótimo é aquele em que a cultura precedente previne danos na cultura seguinte, por suprimir espécies de nematóides, sem causar aumento de outras

espécies que possam parasitar culturas futuras. Nesse contexto, apesar dos resultados promissores que as gramíneas avaliadas apresentaram para o controle de *M. incognita* e *M. javanica* (Dias-Arieira *et al.*, 2003a) e de populações mistas compostas por nematóides de cistos e de galhas (Dias-Arieira *et al.*, 2003b), deve se ter cuidado especial ao recomendá-las em áreas com ocorrência de *P. brachyurus*.

Literatura Citada

- ASMUS, G.L. & P.J.M. ANDRADE. 1997. Reprodução de *Meloidogyne incognita* em cultivares de milho. Fitopatologia Brasileira, 22 (Suplemento): 324 (Resumo).
- CHARCHAR, J.M. & C.S. HUANG. 1980. Círculo de hospedeiras de *Pratylenchus brachyurus*. I-Gramineae. Fitopatologia Brasileira, 5: 351-357.
- COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Agricultural Research Centre, Ghent, 77 p.
- DIAS-ARIEIRA, C.R., S. FERRAZ, L.G. FREITAS & E.H. MIZOBUTSI. 2003a. Avaliação de gramíneas forrageiras para o controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* (Nematoda). Acta Scientiarum-Agronomy, 25 (2): 473-477.
- DIAS-ARIEIRA, C.R., S. FERRAZ, E.H. MIZOBUTSI & L.G. FREITAS. 2003b. Eficiência de gramíneas forrageiras no controle de *Heterodera glycines* e de populações compostas por *H. glycines* e *Meloidogyne* spp. Summa Phytopathologica, 29 (1): 7-15.
- FERRAZ, L.C.C.B. 1995. Interações entre *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne javanica* em soja. Scientia Agricola, 52: 305-309.
- HERMAN, M., R.S. HUSSEY & H.R. BOERMA. 1988. Interactions between *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus brachyurus* on soybean. Journal of Nematology, 20 (1): 79-85.
- INOMOTO, M.M., A.C.Z. MACHADO & S.R. ANTEDEMÊNICO. 2007. Reação de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* a *Pratylenchus brachyurus*. Fitopatologia Brasileira, 32 (4): 341-344.
- JAEHN, A., M.L. MENDES & M.F.A. SILVA. 1998. Nematóides fitoparasitos associados a cultura da soja *Glycine max* (L.) Merr., no Vale do Paranapanema, SP. Nematologia Brasileira, 22 (1): 79-81.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Report, 48: 692.
- JOHNSON, A.W. 1985. Specific crop rotation effects combined with cultural practices and nematicides. In: SASSER, J.N. & C.C. CARTER (ed). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. VI - Biology and Control. North Caroline State University Graphics, Raleigh, p. 283-301.
- JOHNSON, A.W., C.C. DOWLER, S.H. BAKER & Z.A. HANDOO. 1998. Crop yields and nematode population densities in triticale-cotton and triticale-soybean rotations. Journal of Nematology, 30 (2): 353-361.
- KIMENJU, J.W., S.W. WAUDO, A.W. MWANG-OMBE, R.A. SIKORA & R.P. SCHUSTER. 1998. Distribution of lesion nematodes associated with maize in Kenya and susceptibility of maize cultivars to *Pratylenchus zaeae*. African Crop Science Journal, 6 (3): 367-375.
- KOENNING, S.R. & K.R. BARKER. 1998. Survey of *Heterodera glycines* races and other plant-parasitic nematodes on soybean in North Carolina. Journal of Nematology, 30: 569-576.
- KOENNING, S.R., C. OVERSTREET, J.W. NOLING, P.A. DONALD, J.O. BECKER & B.A. FORTNUM. 1999. Survey of crop losses in response to phytoparasitic nematodes in the United State for 1994. Journal of Nematology, 31 (4): 587-618.
- LORDELLO, A.I.L., R.R.A. LORDELLO & E. SAWAZAKI. 2001. Avaliação da resistência do milho à *Meloidogyne incognita* raça 3. Summa Phytopathologica, 27 (1): 86-88.
- MACHADO, A.C.Z., S.P. VENZKE FILHO & M.M. INOMOTO. 2000. Reprodução de fitonematóides identificados em uma área de plantio direto em três espécies de gramíneas. Nematologia Brasileira, 24 (2): 173-177.
- OOSTENBRINK, R. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededeelingen der Landbouw-Hoogeschool, Wageningen, 66: 1-46.
- PIPOLO, V.C., A.E. PIPLOLO & A. JAEHN. 1997. Identificação de fitonematóides que ocorrem em áreas de cultivo de soja na região agrícola de Dourados, MS. Nematologia Brasileira, 21: 119-123.
- SCHMITT, D.P. & K.R. BARKER. 1981. Damage and reproduction potentials of *Pratylenchus brachyurus* and *P. penetrans* on soybean. Journal of Nematology, 13 (3): 327-332.
- SHARMA, R.D. 1978. Nematodes associated with gramineous forage crops in Cerrado soils. Sociedade Brasileira de Nematologia. Publicação n° 3: 53-56.
- SHARMA, R.D. & D.D.G. SCOLARI. 1984. Efficiency of green manure and crop rotation in the control of nematodes under Savannah conditions. Nematologia Brasileira, 8: 193-218.
- SILVA, R.A. & L.C. PEREIRA. 2003. Efeitos de densidades populacionais de *Pratylenchus brachyurus* na produtividade de duas cultivares de soja, em condições de campo. Nematologia Brasileira, 27 (2): 268 (Resumo).
- SIQUEIRA, K.M.S. & M.M. INOMOTO. 2006. Reação de genótipos de feijão de corda (*Vigna unguiculata*) a isolados de *Pratylenchus brachyurus*. Nematologia Brasileira, 30 (1): 125 (Resumo).

Reação de Cultivares de Milho e Soja a *Meloidogyne paranaensis*

Marcela P. Moritz¹, Ana P.A. Mônaco^{1*}, Rui G. Carneiro², Alexandra Scherer¹,
Débora C. Santiago¹ & Tatiane D. Nora³

¹Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid - PR 445 km 380, C. Postal 6001,
86051-990 Londrina (PR) Brasil.

²Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), Rodovia Celso Garcia Cid - PR 445 km 375, C. Postal 481,
86047-902 Londrina (PR) Brasil.

³Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC), Rodovia PR 467 km 98, C. Postal 301,
85813-450 Cascavel (PR) Brasil.

*Autora para correspondência: anapaulamonaco@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 19 / 08 / 2008. Aceito em 27 / 08 / 2008

Editado por Luiz Carlos Ferraz

Resumo - Moritz M.P., A.P.A. Mônaco, R.G. Carneiro, A. Scherer, D.C Santiago & T.D. Nora. 2009. Reação de cultivares de milho e soja a *Meloidogyne paranaensis*.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* estão entre os mais importantes fitonematoides ocorrentes no Brasil, parasitando a maioria das culturas exploradas economicamente. O uso de cultivares resistentes é considerada prática eficiente e econômica para o controle. Com o objetivo de selecionar cultivares de milho e soja resistentes a *Meloidogyne paranaensis*, foram avaliadas as reações das cultivares de milho CD 3121, CD 304, CD 306, CD 307, CD 308, CDX S-12, CDX T-16 e de soja CD 201, CD 202, CD 203, CD 208, CD 211, CD 216, CD 217, CD 218, CD 214-RR, CD 219-RR, Hartwig e Centennial em casa de vegetação. As plantas foram inoculadas individualmente com suspensão de 5.000 ovos, para, 60 dias após, serem estimados os fatores de reprodução (FR). Foram consideradas resistentes as cultivares que apresentaram FR médio menor que 1,0. Como testemunhas da viabilidade do inóculo foram utilizados tomateiros 'Rutgers'. Todas as cultivares de milho comportaram-se como resistentes, com exceção de CD 3121, que foi imune. Entre as cultivares de soja avaliadas, CD 214-RR e Hartwig foram suscetíveis e as demais resistentes, com FR médios variando de 0,01 a 0,87.

Palavras chaves: *Glycine max*, *Zea mays*, resistência, nematoide de galhas.

Summary - Moritz M.P., A.P.A. Mônaco, R.G. Carneiro, A. Scherer, D.C Santiago & T.D. Nora. 2009. Reaction of corn and soybean cultivars to *Meloidogyne paranaensis*.

Nematodes of the genus *Meloidogyne* are major agricultural problems in Brazil. The use of resistant cultivars is a practical, efficient and economic control measure against these nematodes. In this work cultivars of corn and soybean were screened for resistance to *Meloidogyne paranaensis*: Seven corn cultivars (CD 3121, CD 304, CD 306, CD 307, CD 308, CDX S-12, and CDX T-16) and twelve soybean cultivars (CD 201, CD 202, CD 203, CD 208, CD 211, CD 216, CD 217, CD 218, CD 214-RR, CD 219-RR, Hartwig, and Centennial) were tested under greenhouse conditions. The plants were inoculated individually with a suspension of 5,000 eggs and, after 60 days, the reproduction factor values (RF) were estimated. Cultivars with average RF lower than 1.0 were rated as resistant. As susceptible control, tomato 'Rutgers' plants were used. Except for CD 3121, which was immune to the nematode, all corn cultivars were resistant. Among the soybean cultivars, CD 214-RR and Hartwig were susceptible, and the remaining ones were resistant, with mean RF values ranging from 0.01 to 0.87.

Key words: *Glycine max*, *Zea mays*, resistance, root-knot nematodes.

Conteúdo

A ampla distribuição geográfica, polifagia e variabilidade fisiológica dos nematoides de galhas (*Meloidogyne* spp.) no Brasil dificultam o estabelecimento de medidas de controle, especialmente via rotação de culturas e resistência varietal, consideradas as estratégias mais viáveis e eficientes (Mendes & Rodriguez, 2000). Entre os métodos disponíveis para controle de nematoides nas áreas infestadas, destaca-se o uso de plantas resistentes em sistemas de rotação ou sucessão de culturas.

Nesse contexto, até cerca de duas décadas atrás, pela alta frequência de cultivo, o milho (*Zea mays* L.) apresentava grande potencial, pois afirmava-se então que, além de propiciar retorno econômico, também permitia a redução da população desses nematoides no solo, reduzindo conseqüentemente os danos nas culturas seguintes (Brito & Antônio, 1989). Sabe-se hoje que muitos híbridos comerciais são na verdade tolerantes a nematoides de galhas, em especial *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, produzindo bem nas áreas infestadas, mas proporcionando também condições de alta reprodução a essas espécies e, portanto, não ajudando no controle (Asmus *et al.*, 2000). Em vista disso, nos últimos 15 anos, aumentou muito o número de trabalhos nacionais que tratam da aferição da taxa reprodutiva desses nematoides nos materiais de milho recém-disponibilizados no mercado, subsídios tidos como fundamentais visando à seleção destes para plantio em áreas infestadas, particularmente no sistema de plantio direto (Inomoto *et al.*, 2008).

Em relação a *M. paranaensis* Carneiro *et al.*, 1996, os estudos ainda são escassos. Moritz *et al.* (2003) e Carneiro *et al.* (2007) avaliaram a reação de 30 e de sete cultivares de milho, respectivamente, às raças 1 e 3 de *M. incognita* e a *M. paranaensis* verificando que todas comportaram-se como suscetíveis a *M. incognita*. Em relação a *M. paranaensis*, contrariamente, apenas uma cultivar (69x72) não se mostrou resistente ou imune.

M. paranaensis, inicialmente detectada em plantas de café no Paraná, foi depois encontrada em uma lavoura de soja no Rio Grande do Sul (Castro, 2003). Os estudos para a seleção de cultivares de soja

[*Glycine max* (L.) Merrill] resistentes aos nematoides de galhas no Brasil vêm de longa data (Dall'Agnol & Antônio, 1982). No início, os genótipos mais cultivados eram todos suscetíveis às principais espécies de *Meloidogyne*. Hoje, graças aos trabalhos de melhoramento, já existem várias cultivares resistentes adaptadas ao plantio em todas as regiões produtoras do país. Existe maior disponibilidade de cultivares com diferentes graus de resistência a *M. incognita* do que para *M. javanica* (Silva, 2001); entretanto, pouco se sabe sobre as reações a *M. paranaensis*. Roes *et al.* (2004) observaram que as 59 cultivares de soja por eles avaliadas foram suscetíveis a *M. paranaensis*, com base nos índices de galhas e de massas de ovos, além do fator de reprodução (FR) para caracterizar as reações.

Este trabalho teve como objetivo selecionar genótipos de milho e soja com resistência a *M. paranaensis*, visando posterior utilização em áreas infestadas com esse nematoide. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), em Londrina (PR), onde foram avaliadas sete cultivares de milho (CD 3121, CD 304, CD 306, CD 307, CD 308, CDX S-12 e CDX T-16) e doze de soja (CD 201, CD 202, CD 203, CD 208, CD 211, CD 216, CD 217, CD 218, CD 214-RR, CD 219-RR, Hartwig e Centennial). O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com dez repetições. Tomateiros (*Lycopersicon esculentum* L.) 'Rutgers' foram utilizados como testemunhas suscetíveis, visando à comprovação da viabilidade do inóculo. Sementes das cultivares foram semeadas em substrato de areia e solo (2:1, v / v), previamente tratado com brometo de metila na dose de 150 cm³ por m³ de substrato, contido em vasos plásticos de 500 cm³ e mantidos em casa de vegetação. Após a germinação, realizaram-se desbastes, deixando-se uma planta por vaso.

O inóculo inicial do nematoide foi obtido a partir de cafeeiros infectados em campo com *M. paranaensis*. A identificação da espécie foi realizada utilizando a técnica de eletroforese de isoenzimas descrita por Carneiro & Almeida (2001). Essa população pura foi mantida em casa de vegetação do IAPAR em plantas de tomateiro 'Rutgers'. O método de Hussey & Barker (1973), modificado por Boneti & Ferraz (1981), foi utilizado para o processamento das raízes e

obtenção do inóculo. Quinze dias após a germinação, as plantas foram inoculadas individualmente com 5.000 ovos [e eventuais juvenis de segundo estágio (J₂) do nematoide]. A inoculação de cada plântula com o nematoide foi feita pela deposição de 5 ml de suspensão contendo 1000 ovos + J₂ / ml em três orifícios de 2 cm de profundidade localizados ao redor das plântulas.

Sessenta dias após a inoculação, os sistemas radiculares das plantas foram coletados e separados da parte aérea, lavados e então processados pela técnica de Boneti & Ferraz (1981) para extração dos ovos. As quantificações de ovos (e eventuais J₂) foram feitas em câmara de Peters, sob microscópio óptico. Com os valores obtidos, foram determinados os fatores de reprodução (FR = número de ovos extraídos / número de ovos inoculados) para cada interação cultivar x nematoide. Foram consideradas resistentes as plantas que apresentaram FR < 1,0, suscetíveis FR ≥ 1,0 e imunes FR = 0 (Oostenbrink, 1966). O índice de galhas não foi utilizado pois, segundo Asmus *et al.* (2000), tais sintomas, no caso do milho, são de difícil visualização e quantificação, mesmo quando os

sistemas radiculares estão bem parasitados. Durante o experimento, as médias de temperaturas máxima e mínima na casa de vegetação foram respectivamente 37,1 e 19,9 °C, com temperatura média de 28,5 °C. Para análise estatística dos dados, as médias dos números de ovos foram transformadas em $\sqrt{x + 0,5}$ e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

A viabilidade do inóculo do nematoide pode ser verificada pelo número de ovos produzidos nas plantas de tomate (Tabela 1). Todas as cultivares de milho foram resistentes a *M. paranaensis*, com exceção de CD 3121, que foi imune (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com os de Moritz *et al.* (2003) e Carneiro *et al.* (2007) e são promissores pela possibilidade de os materiais aqui avaliados serem indicados futuramente para rotação ou sucessão de culturas visando ao controle desse nematoide. Embora o FR médio de algumas cultivares tenha indicado reação de resistência ao nematoide, houve algumas plantas com FR individual maior ou igual a 1 (dados não apresentados). As cultivares que apresentaram este comportamento e as respectivas porcentagens de

Tabela 1 - Número de ovos, fator de reprodução (FR) e reação de cultivares de milho e de soja a *Meloidogyne paranaensis*, após 60 dias da inoculação em casa-de-vegetação.

Cultivares	Espécie	Nº. de ovos ¹	FR	Reação ²
CD 3121	Milho	0 c	0,0	I
CD 304	Milho	320 c	0,0	R
CD 306	Milho	2.280 bc	0,4	R
CD 307	Milho	1.340 c	0,2	R
CD 308	Milho	20 c	0,0	R
CDX S-12	Milho	20 c	0,0	R
CDX T-16	Milho	1.180 bc	0,2	R
CD 201	Soja	4.360 bc	0,8	R
CD 202	Soja	400 c	0,0	R
CD 203	Soja	311 c	0,0	R
CD 208	Soja	4.100 bc	0,8	R
CD 211	Soja	422 c	0,0	R
CD 216	Soja	400 c	0,0	R
CD 217	Soja	600 c	0,1	R
CD 218	Soja	400 c	0,0	R
CD 219-RR	Soja	88 c	0,0	R
Centennial	Soja	4.160 bc	0,8	R
Hartwig	Soja	5.580 bc	1,1	S
CD 214-RR	Soja	12.600 b	2,5	S
Rutgers	Tomate	217.866 a	43,5	S

¹Médias de dez repetições; dados originais, mas, para a análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$; médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Tukey (P = 0,05).

²R = Resistente (FR < 1); S = Suscetível (FR ≥ 1) e I = Imune (FR=0).

plantas com FR individual ≥ 1 foram CD 306 (20 %) e CD 307 (10 %).

As cultivares de soja foram resistentes, com FR médios variando de 0,01 a 0,87. Apenas CD 214-RR e Hartwig foram suscetíveis, com FR médios de 2,52 e 1,11 respectivamente (Tabela 1). CD 202, CD 203, CD 211, CD 216, CD 217, CD 218, CD 219-RR devem ser destacadas, pois algumas de suas plantas apresentaram valores individuais de FR = 0. Como multiplicaram menos o nematoide, poderão sofrer menos danos e ter maior eficiência na redução da população do parasito, merecendo a preferência na escolha do sojicultor para uso em áreas infestadas. CD 201, CD 208 e Centennial apresentaram FR médio de 0,8 e tiveram respectivamente 40, 30 e 40 % das plantas avaliadas com valores individuais de FR ≥ 1 , ou seja, suscetíveis. Essas cultivares poderiam causar eventual aumento de população do nematoide em campo.

As cultivares Hartwig e Centennial são conhecidas como importantes fontes de resistência para outras espécies de *Meloidogyne*. Hartwig é resistente a *M. incognita* e moderadamente resistente a *M. javanica* (Silva, 2001), mas foi suscetível a *M. paranaensis* (Tabela 1). Já Centennial, resistente a *M. incognita* e suscetível a *M. javanica* (Silva, 2001), foi resistente a *M. paranaensis*; entretanto 40 % das plantas dessa cultivar apresentaram valores individuais de FR > 1 , o que indica que não é uma fonte segura de resistência para programas de melhoramento genético. Apesar de Hartwig ter sido considerada suscetível e Centennial resistente, não houve diferença significativa quanto ao número de ovos produzidos em suas raízes (Tabela 1) indicando reações muito próximas em relação a *M. paranaensis*.

A tendência de predominância de cultivares resistentes, observada neste estudo, revelou-se conflitante em relação aos resultados obtidos por Roese *et al.* (2004), que caracterizaram como suscetíveis a *M. paranaensis* todos os 59 cultivares de soja por eles avaliados. Isso pode ser atribuído à variabilidade fisiológica entre as populações desse nematoide provenientes de regiões distintas, a fatores ambientais e/ou mesmo às diferentes bases genéticas dos materiais avaliados. Em função disso, mais estudos são necessários sobre o assunto, envolvendo outras

cultivares de soja e populações de *M. paranaensis* coletadas em diferentes regiões produtoras.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelos recursos financeiros e bolsa de iniciação científica alocados no desenvolvimento deste trabalho.

Literatura Citada

- ASMUS, G.L., L.C.C.B. FERRAZ & B.A. GLÓRIA. 2000. Alterações anatômicas em raízes de milho (*Zea mays* L.) parasitadas por *Meloidogyne javanica*. *Nematropica*, 30 (1): 33-39.
- BONETI, J.I.S. & S. FERRAZ. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para a extração de ovos de *M. exigua*, em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6 (3): 553.
- BRITO, J.A. & H. ANTÔNIO. 1989. Resistência de genótipos de milho a *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, 3: 129-137.
- CARNEIRO, R.M.D.G. & M.R.A ALMEIDA. 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira*, 25 (1): 35-44.
- CARNEIRO, R.G., M.P. MORITZ, A.P.A. MÔNACO, K.C. NAKAMURA & A. SCHERER. 2007. Reação de milho, sorgo e milheto a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. paranaensis*. *Nematologia Brasileira*, 31 (2): 67-71.
- CASTRO, J.M.C., R.D. LIMA & R.M.D.G. CARNEIRO. 2003. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja. *Nematologia Brasileira*, 27 (1): 1-12.
- DALL'AGNOL, A. & H. ANTÔNIO. 1982. Reação de genótipos de soja aos nematóides formadores de galhas *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. *Nematologia Brasileira*, 6: 51-77.
- INOMOTO, M.M., G.L. ASMUS & R.A. SILVA, 2008. Manejo de nematóides na cultura da soja no Mato Grosso. In: Boletim de Pesquisa Soja – 2008. Fundação MT, Rondonópolis, p. 161-169.
- MENDES, M.L. & P.B.N. RODRIGUEZ. 2000. Reação de cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] aos nematóides de galhas *Meloidogyne javanica* e a *M. incognita* Raça 1, 2, 3 e 4. *Nematologia Brasileira*, 24 (2): 211-217.
- MORITZ, M.P., G. SIMÃO & R.G. CARNEIRO. 2003. Reação de genótipos de milho às raças 1 e 3 de *M. incognita* e a *M. paranaensis*. *Nematologia Brasileira*. 27 (2): 211-214.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristic of the relation between nematodes and plants. *Mededlingen voor Landb Hoogeschool Wageningen*, 66: 3-46.

ROESE, A.D., R.D.L. OLIVEIRA & F.F. LANES. 2004. Reação de cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] a *Meloidogyne paranaensis*. Nematologia Brasileira, 28 (2): 131-135.

SILVA, J.F.V. 2001. Resistência genética de soja a nematóides

do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J.F.B. (ed). Relações Parasito-Hospedeiro nas Meloidoginoses da Soja. Embrapa Soja e Sociedade Brasileira de Nematologia, Londrina e Piracicaba, p. 95-127.

Eficiência de *Rhizobium etli* como Agente de Biocontrole de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita**

Cléia F.S. Fabry**, Leandro G. Freitas, Everaldo A. Lopes & Silamar Ferraz

*Parte da Tese da primeira autora, para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia pela Universidade Federal de Viçosa (MG).

¹Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa (MG) Brasil.

**Autora para correspondência: clfabry@hotmail.com

Recebido para publicação em 24 / 10 / 2006. Aceito em 09 / 09 / 2008

Editado por Regina Carneiro e Mário Inomoto

Resumo - Fabry, C.F.S., L.G. Freitas, E.A. Lopes & S. Ferraz. 2009. Eficiência de *Rhizobium etli* como agente de biocontrole de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*.

Avaliou-se o potencial de *Rhizobium etli* no controle de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* em duas densidades de inóculo desses patógenos. Sementes de tomate Santa Cruz 'Kada' foram microbiolizadas por imersão em suspensão aquosa da bactéria *R. etli* e foram semeadas em vasos contendo 1,5 l de uma mistura de solo e areia 1:1 (v:v). Após 20 dias, o solo de cada vaso foi infestado com 2 ml de suspensões contendo 2.000 e 4.000 ovos de *M. javanica* ou *M. incognita*. Decorridos 45 dias, o número de galhas e de ovos por sistema radicular foram avaliados. A microbiolização das sementes com *R. etli* resultou em reduções significativas de 50 % e 41,32 % no número de galhas de *M. javanica* e de *M. incognita*, respectivamente. Redução de 47,05 % no número de ovos de *M. javanica* foi observada nas raízes de plantas tratadas com a bactéria. Entretanto, não se verificou efeito da bactéria na multiplicação de *M. incognita*.

Palavras chaves: rizobactérias, nematoide das galhas, densidade de inóculo.

Summary - Fabry, C.F.S., L.G. Freitas, E.A. Lopes & S. Ferraz. 2009. Efficiency of *Rhizobium etli* as biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*.

The potential of *Rhizobium etli* for the biocontrol of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* was evaluated at two inoculum levels of the pathogen. Seeds of tomato Santa Cruz 'Kada' were soaked in a suspension of *R. etli* and sowed in pots with 1.5 l of substrate composed of soil and sand 1:1 (v:v). After twenty days, the soil of each pot was infested with 2 ml of suspension containing 0; 2,000; or 4,000 eggs of *M. javanica* or *M. incognita*. Forty-five days later, the number of galls and eggs per root system were evaluated. The seed microbiolization resulted in significant reductions of 50 % and 41.32 % in the number of galls of *M. javanica* and *M. incognita*, respectively. Reduction of 47.05 % in the number of eggs of *M. javanica* was observed in the roots of the plants treated with the bacterium. However, the bacterium had no effect on the reproduction of *M. incognita*.

Key words: rhizobacteria, root - knot nematodes, inoculum density.

Conteúdo

Os nematoides das galhas *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood e *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood reduzem significativamente a produtividade agrícola quando em altas populações no solo (Lordello, 1981). O controle de fitonematoides pela aplicação de nematicidas químicos

tem sido restrito a certos patossistemas, em função do alto custo desses produtos e os riscos ambientais e à saúde humana envolvidos no seu uso. Alternativas viáveis e racionais, como o controle biológico, vêm sendo estudadas e aplicadas com sucesso (Stirling, 1991). Bactérias não patogênicas habitantes da rizosfera das plantas apresentam grande potencial na supressão

de fitonematoides, através de mecanismos de indução de resistência (Hasky-Günther *et al.*, 1998), da inibição da eclosão de ovos (Oostendorp & Sikora, 1990), da produção de substâncias tóxicas ao redor das raízes e/ou da alteração dos exsudatos radiculares, causando a perda da atratividade dos nematoides às raízes (Becker *et al.*, 1988).

A bactéria *Rhizobium etli* (isolado G12), anteriormente denominada *Agrobacterium radiobacter*, foi obtida da rizosfera de plantas de batata, induziu resistência em plantas dessa cultura contra *Globodera pallida* e *M. incognita* (Hasky-Günter *et al.*, 1998) e suprimiu a penetração de *G. pallida* nas raízes de plantas de batata em experimentos em condições de casa de vegetação e de campo (Hackenberg & Sikora, 1990; Racke & Sikora, 1992). Geralmente são utilizadas densidades de inóculo de nematoides iguais ou inferiores a 2.000 ovos ou J₂ por planta para se avaliar a eficiência de rizobactérias no controle de nematoides (Ogallo & McClure, 1996; Hackenberg *et al.*, 2000; Tian & Riggs, 2000; Siddiqui & Mahmood, 2001; Siddiqui & Shaukat, 2004), mas altas populações de fitonematoides ocorrem em condições de campo. Portanto, o objetivo desse trabalho foi comparar a eficiência de *R. etli* em dois níveis de inóculo de nematoides das galhas.

Os nematoides *M. javanica* e *M. incognita* foram multiplicados em tomateiros mantidos em vasos contendo solo previamente tratado com brometo de metila, sob condições de casa de vegetação. Os ovos utilizados nos experimentos foram extraídos das raízes das plantas utilizando-se a técnica de Hussey & Barker, modificada por Boneti & Ferraz (1981). Culturas de *R. etli* isolado G12 foram repicadas para placas de Petri contendo o meio B de King (King *et al.*, 1954) e incubadas a 28 °C durante 48h. Após esse período, fez-se a raspagem das culturas bacterianas e preparou-se uma suspensão aquosa ajustada para DO₅₄₀ = 0,5. As sementes de tomateiro Santa Cruz 'Kada' foram microbiolizadas na suspensão utilizando-se o método descrito por Oostendorp & Sikora (1989), modificado para 24 h de imersão em temperatura ambiente no laboratório (24 ± 2 °C). Para o tratamento testemunha, as sementes foram imersas em água destilada no mesmo intervalo de tempo. As sementes tratadas foram semeadas em vasos contendo 1,5 l de mistura

de solo e areia na proporção 1:1 (v:v). Após 15 dias, as plântulas foram inoculadas com 2.000, ou 4.000 ovos de *M. javanica* ou *M. incognita* / planta. Quarenta e cinco dias após a inoculação, o número de galhas e de ovos por sistema radicular foram avaliados. O delineamento experimental adotado foi do tipo inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 2 (densidades de inóculo x tratamentos de sementes). Cada tratamento foi repetido sete vezes. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste F, a 5 % de probabilidade, com o auxílio do pacote estatístico STATISTICA 6.0 (Statsoft, 2001).

Não houve interação entre os níveis de inóculo e o tratamento de sementes ($P < 0,05$), considerando o número de galhas e de ovos de *M. javanica* e *M. incognita*. O tratamento de sementes com *R. etli* proporcionou redução de 41,32 % no número de galhas induzidas por *M. incognita* (Tabela 1) e de 50 % em plantas parasitadas por *M. javanica* (Tabela 2), independente da densidade de inóculo utilizada. Siddiqui *et al.* (1995) observaram redução no nível de infecção de *M. javanica* com a aplicação da bactéria *Rhizobium* sp., em diferentes níveis de inóculo do nematoide, mas não estudaram o efeito da bactéria sobre a infecção de *M. incognita*. A microbiolização de sementes com *R. etli* reduziu em 47,05 % o número de ovos de *M. javanica*, independente da densidade de inóculo aplicada ao solo, quando comparada com o tratamento das sementes com água (Tabela 2). Entretanto, não houve redução significativa no número de ovos de *M. incognita*, independente do fator estudado (Tabela 1).

Nos tratamentos nos quais foram inoculados 2.000 ovos de nematoides na ausência de *R. etli*, notou-se maior número de galhas em relação ao nível de inóculo 4.000, para ambas as espécies de nematoides. Uma explicação para esse fato seria a dificuldade de estabelecimento de sítios de alimentação nas raízes, devido à competição gerada pela penetração de um elevado número de J₂ quando se inoculou 4.000 ovos. Esses resultados corroboram aqueles obtidos por Schochow *et al.* (2004), em que plantas de tomate de cinco semanas de idade foram inoculadas com 0, 100, 1.000 e 10.000 ovos de *M. hapla*, *M. incognita* ou *M. javanica*. Os autores observaram relação inversa entre a densidade de inóculo e a população final de *M.*

Tabela 1 - Número de galhas e de ovos de *Meloidogyne incognita* em raízes de tomateiro tratadas ou não com *Rhizobium etli*, aos 45 dias da infestação do solo com 2.000 e 4.000 ovos do nematoide.

Tratamentos	Número de galhas			Número de ovos		
	Níveis de inóculo					
	2.000	4.000	Médias	2.000	4.000	Médias
<i>R. etli</i>	189	238	213 b	43.086	60.454	51.770 a
Água	385	341	363 a	60.250	99.725	79.988 a
Médias	287 A	290 A		51.668 A	80.090 A	

Médias de sete repetições; médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 2 - Número de galhas e de ovos de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro tratadas ou não com *Rhizobium etli*, aos 45 dias da infestação do solo com 2.000 e 4.000 ovos do nematoide.

Tratamentos	Número de galhas			Número de ovos		
	Níveis de inóculo					
	2.000	4.000	Médias	2.000	4.000	Médias
<i>R. etli</i>	56	102	79 b	16.038	25.850	20.944 b
Água	164	153	158 a	36.793	42.316	39.554 a
Médias	110 A	127 A	7	26.415 A	34.083 A	

Médias de sete repetições; médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste F.

javanica e *M. incognita*. Além disso, verificaram maiores danos nas raízes e perda da disponibilidade de sítios de alimentação e, conseqüentemente, menor taxa de multiplicação dos nematoides, ao inocularem as plantas com 10.000 ovos. Sharma & Fonseca (2000) também observaram queda no fator de multiplicação de *M. javanica* com o aumento do nível de inóculo, em decorrência de severos danos causados no sistema radicular das plantas. No presente estudo, entretanto, as raízes apresentaram maior número de ovos quando inoculadas com maior densidade de inóculo (Tabelas 1 e 2).

A bactéria *R. etli* mostrou ser um agente de controle biológico do nematoide das galhas, reduzindo o número de galhas de ambas as espécies de nematoides e a multiplicação de *M. javanica*.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Doutorado da primeira autora.

Literatura Citada

BECKER, J.O., E. ZAVALTA-MEJIA, S.F. COLBERT, M.N. SCHROTH, A.R. WEINHOLD, J.G. HANCOCK & S.D. VAN-GUNDY. 1988. Effects of rhizobacteria

on root-knot nematodes and gall formation. *Phytopathology*, 78: 1466-1469.

BONETI, J.I.S. & S. FERRAZ. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6 (1): 553.

HACKENBERG, C. & R.A. SIKORA. 1990. Influence of abiotic and biotic factors on the interrelationship between plant health promoting rhizobacteria and *Globodera pallida* on potato. *Nematologica*, 36: 355-356.

HACKENBERG, C., A. MUEHLCHEN, T. FORGE & T. VRAIN. 2000. *Pseudomonas chlororaphis* strain sm3, bacterial antagonist of *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology*, 32(2): 183-189.

HASKY-GÜNTHER, K., S. HOFMANN-HERGARTEN & R.A. SIKORA. 1998. Resistance against the potato cyst nematode *Globodera pallida* systematically induced by the rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* (G12) and *Bacillus sphaericus* (B43). *Fundamental and Applied Nematology*, 21: 511-517.

KING, E.O., M.K. WARD & D.E. RANEY. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 44: 301-307.

LORDELLO, L.G.E. 1981. Nematóides das Plantas Cultivadas. Nobel, São Paulo, 314 p.

OGALLO, J.L. & M.A. McCLURE. 1996. Systemic acquired resistance and susceptibility to root-knot nematodes in tomato. *Phytopathology*, 86 (5): 498-501.

- OOSTENDORP, M. & R.A. SIKORA. 1989. Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. *Revue de Nématologie*, 12(1): 77-83.
- OOSTENDORP, M. & R.A. SIKORA. 1990. *In vitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. *Revue de Nématologie*, 14: 269-274.
- RACKE, J. & R.A. SIKORA. 1992. Wirkung der pflanzengesundheitsfördernden Rhizobakterien *Agrobacterium radiobacter* und *Bacillus sphaericus* auf den *Globodera pallida* – Befall der Kartoffel und das Pflanzenwachstum. *Journal of Phytopathology*, 134: 198-208.
- SCHARMA, R.D. & C.E.L. FONSECA. 2000. Efeito de *Meloidogyne javanica* no crescimento da ervilha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35:115-120.
- SCHOCHOW, M, S.A. TJOSVOLD & A.T. PLOEG. 2004. Host status of *Lisanthus* ‘mariach lime green’ for three species of root-nematode. *HortScience*, 39(1): 120-123.
- SIDDIQUI, I.A. & I. MAHMOOD. 2001. Effects of rhizobacteria and root symbionts on the reproduction of *Meloidogyne javanica* and growth of chickpea. *Bioresource Technology*, 79: 41-45.
- SIDDIQUI, I.A. & S. S. SHAUKAT. 2004. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* is independent of salicylic acid production. *Journal of Phytopathology*, 152: 48-54.
- STATSOFT, Inc. 2001. *Statistica for Windows* (computer program manual). Statsoft Inc., Tulsa (OK) EUA.
- STIRLING, G.R. 1991. *Biological Control of Plant Parasitic Nematodes: Progress, Problems and Prospects*. CAB International, Wallingford, 282 p.
- TIAN, H. & R.D. RIGGS. 2000. Effects of rhizobacteria on soybean cyst nematodes *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 32 (4): 377-388.

Detecção de *Pasteuria thornei* em *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*

Vilmar Gonzaga^{1*} & Jaime M. Santos²

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C. Postal 02372, 70849-970 Brasília (DF) Brasil.

²Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista (FCAV / UNESP), 14884-900 Jaboticabal (SP) Brasil.

*Autor para correspondência: vilmar@cenargen.embrapa.br

Recebido para publicação em 07 / 07 / 2008. Aceito em 17 / 09 / 2008

Editado por Mário Inomoto

Resumo – Gonzaga, V. & J.M. Santos. 2009. Detecção de *Pasteuria thornei* em *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*.

No Brasil, os estudos com espécies de *Pasteuria* são ainda incipientes, principalmente considerando o seu uso no controle de espécies de *Pratylenchus*, pois as pesquisas sobre o assunto são focadas no nematoide das galhas. Diferentemente do gênero *Meloidogyne*, em que somente os juvenis de segundo estágio são infectados por *Pasteuria penetrans*, os espécimes de *Pratylenchus* spp. são infectados em todos os estádios por *Pasteuria thornei*. O objetivo desta publicação é relatar a detecção de *P. thornei* em espécimes de *P. brachyurus* e *P. zaeae*, encontrados em um cultivo de abacaxi (*Ananas comosus*) no município de Marco (CE) e em plantas de dracena (*Dracaena marginata*) em Juruá (SP). Os nematoides foram extraídos de amostras de raízes e de solo. Verificou-se a presença de endósporos de *P. thornei* aderidos externamente à cutícula de espécimes de *P. brachyurus*, como também no interior do corpo do nematoide. Em espécimes de *P. zaeae*, observou-se a presença de grande quantidade de endósporos no interior do corpo do nematoide.

Palavras chaves: bactéria, nematoides, controle biológico.

Summary – Gonzaga, V. & J.M. Santos. 2009. Detection of *Pasteuria thornei* in *Pratylenchus brachyurus* and *P. zaeae*.

In Brazil the studies with *Pasteuria* spp. are still incipient, mainly regarding the use on the control of *Pratylenchus* species, since the research on the subject is focused on the root-knot nematode. Differently of the genus *Meloidogyne*, in which only second stage juveniles are infected by *Pasteuria penetrans*, the specimens of *Pratylenchus brachyurus* are infected in all stages by *Pasteuria thornei*. The purpose of this publication is to report the detection of *P. thornei* in specimens of *P. brachyurus* and *P. zaeae* found in a pineapple field (*Ananas comosus*), in Marco municipality (Ceará State), and plants of dracena (*Dracaena marginata*), in Juruá municipality (São Paulo State). The nematodes were extracted from root and soil samples. It was verified the presence of endospores of *P. thornei* adhered externally to the cuticle of *P. brachyurus* specimens, and also inside the nematodes bodies. In *P. zaeae* specimens, it was observed the presence of great amount of endospores inside the body of the nematodes.

Key words: bacteria, nematodes, biological control.

Conteúdo

Dentre os vários organismos considerados inimigos naturais de fitonematoides, tais como fungos, bactérias, nematoides predadores e ácaros, as bactérias formadoras de endósporos do gênero *Pasteuria* (Metchnikoff, 1888) Starr & Sayre, 1988 são consideradas dos agentes mais promissores, devido à sua elevada capacidade de sobrevivência nas mais

adversas condições de ambiente (Freitas & Carneiro, 2000). A compatibilidade de endósporos dessas bactérias com diferentes pesticidas foi demonstrada em vários trabalhos (Tzortzakakis & Gowen, 1994), como também em conjunto com outros agentes de controle biológico, tais como fungos nematófagos (Dube, 1994). Somando-se a essas características, tais bactérias são inócuas ao homem e a outros animais (Freitas &

Carneiro, 2000). Essas qualificações preenchem os requisitos para um agente de elevado potencial de controle biológico de nematoides, o que tem despertado o interesse de muitos pesquisadores, em todo o mundo. De fato, pesquisas demonstram a eficácia de *Pasteuria* spp. no controle de nematoides em diferentes culturas (Pimenta & Carneiro, 2005).

No Brasil, os estudos sobre *Pasteuria* spp. são ainda muito incipientes, principalmente com relação a sua utilização no controle de espécies de *Pratylenchus*. A grande maioria das pesquisas sobre o tema e já realizada em nosso país enfocou os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.). Lordello (1966) relatou pela primeira vez, no Brasil, a ocorrência de *Pasteuria* spp. em fêmeas de *M. javanica*, infectando plantas de tomateiro procedentes de Varginha (MG). A seguir, Santos (1981) observou essa bactéria em juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. javanica* extraídos de solo coletado na rizosfera de feijoeiro altamente infectado pelo nematoide, em Petrolina (PE). Posteriormente, vários trabalhos foram realizados sobre o parasitismo de *Pasteuria* spp. em nematoides, sendo que na grande maioria deles foi verificada a ação da bactéria sobre espécies de *Meloidogyne* (Pimenta & Carneiro, 2005).

Souza *et al.* (1996) verificaram a presença de *Pasteuria* spp. em 29,7 % das amostras colhidas em 128 locais, englobando 28 espécies vegetais, coletadas no município de Lavras (MG). Entre as espécies de quatro gêneros de nematoides parasitados pela bactéria, 7,3 % das amostras eram populações de *Pratylenchus brachyurus*. Os autores verificaram grande variação no tamanho dos endósporos entre as espécies de nematoides parasitadas. Esse fato sugere que mais de uma espécie de *Pasteuria* poderia estar ocorrendo nas amostras.

Mais de 300 espécies de nematoides foram relatadas como hospedeiras de *Pasteuria* spp., sendo a maioria pertencentes às ordens Tylenchida e Dorylaimida (Chen & Dickson, 1998). Atualmente, quatro espécies de *Pasteuria* são descritas como parasitas de nematoides da ordem Tylenchida: *Pasteuria penetrans* (Thorne, 1940) Sayre & Starr, 1986 como parasita de *Meloidogyne*, *Pasteuria thornei* (Starr & Sayre, 1988) de *Pratylenchus*, *Pasteuria nishizawae* Sayre *et al.*, 1991 de *Heterodera* e *Globodera*, e *Pasteuria usgae* Giblin-Davis *et al.*, 2003 de *Belonolaimus longicaudatus* (Sturhan *et al.*,

2005). A descrição das espécies de *Pasteuria* baseou-se em características morfológicas, morfométricas, moleculares e na especificidade de hospedeiros (Starr & Sayre, 1988; Sturhan *et al.*, 2005).

Apesar das bactérias do gênero *Pasteuria* possuírem grande diversidade biológica, seu ciclo de vida em todos os nematoides hospedeiros parece ser similar. Contudo, a grande maioria dos trabalhos sobre *Pasteuria* refere-se a *P. penetrans*, uma vez que seu hospedeiro, o nematoide das galhas, *Meloidogyne* spp., é o nematoide de maior importância para a agricultura mundial (Sasser & Freckman, 1987). Diferentemente dos nematoides do gênero *Meloidogyne*, em que somente o J₂ é parasitado por *P. penetrans*, os do gênero *Pratylenchus* são parasitados em todos os estádios (juvenis, machos e fêmeas), podendo a bactéria completar seu ciclo de vida em um significativo número de indivíduos de uma população (Sayre *et al.*, 1991). Com a locomoção no solo de todos os estádios de vida dos nematoides do gênero *Pratylenchus*, há maior possibilidade de contato entre esses nematoides e a bactéria, o que conseqüentemente poderá propiciar um maior controle desse fitoparasita.

Segundo Ciancio *et al.* (2007), a falta do material tipo de *P. thornei* em nível mundial é um alerta para a necessidade de esforços em pesquisas para identificar isolados dessa bactéria. Nesse contexto, esta publicação tem o objetivo de relatar a ocorrência de *P. thornei* em espécimes de *P. brachyurus* e *P. zaeae*, encontrados, respectivamente, em um cultivo de abacaxi (*Ananas comosus*) no município de Marco (CE) e em plantas de dracena (*Dracaena marginata*) em Jiquiá (SP). Os nematoides foram extraídos de amostras de raízes pela flutuação centrífuga em solução de sacarose com caulim (Coolen & D'Herde, 1972) e de amostras de solo (Jenkins, 1964). Verificou-se a presença de grande quantidade de endósporos de *P. thornei* no interior do corpo de *P. zaeae* (Figura 1a). Em espécimes de *P. brachyurus* observaram-se endósporos de *P. thornei* aderidos externamente à cutícula do nematoide, como também no interior do corpo (Figura 1b). Os isolados dessa bactéria, detectados nas duas espécies de nematoides, encontram-se em condições de casa de vegetação na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília (DF).

Devido à enorme extensão de área utilizada para

agricultura no Brasil e à grande diversidade populacional de fitonematóides, mais pesquisas são necessárias para o conhecimento do potencial de isolados de *P. thornei* no controle de *P. brachyurus*, *P. zaei* e de outras espécies de *Pratylenchus*.

Literatura Citada

- CHEN, Z.X. & D.W. DICKSON. 1998. Review of *Pasteuria penetrans*: biology, ecology, and biological control potential. *Journal of Nematology*, 30 (3): 313-340.
- CIANCIO, A., L.C. ROSSO, M.T. MARESCA DI SERRACAPRIOLA, R. FAVRE & M. CERMOLA. 2007. Assessing the speciation boundaries in *Pasteuria* spp. In: ANNUAL MEETING – ORGANIZATION OF NEMATOLOGISTS OF TROPICAL AMERICA, XXXIX, Córdoba. Resumos, p. 53.
- COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue. State Agricultural Research Center, Ghent, 77 p.
- DUBE, B.N. 1994. Integrated application of *Paecilomyces lilacinus*, *Pasteuria penetrans* and cattle manure for control of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology*, 26 (4): 542.
- FREITAS, L.G. & R.M.D.G. CARNEIRO. 2000. Controle biológico de fitonematóides por *Pasteuria* spp.. In: MELO, I.S. & AZEVEDO, J.L. (ed). Controle Biológico, v.2. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, p. 91-125.
- JENKINS, W. R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48 (9): 692.
- LORDELLO, L.G.E. 1966. Nota sobre um parasito de nematóide. *Revista de Agricultura*, 41 (2): 67-69.
- PIMENTA, C.A.M & R.M.D.G. CARNEIRO. 2005. Utilização *Pasteuria penetrans* em controle biológico de *Meloidogyne javanica* em duas culturas sucessivas de alface e tomate. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Brasília, 36 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 116).
- SANTOS, J.M. 1981. Ocorrência de *Bacillus penetrans* parasitando *Meloidogyne javanica* (Nematoda: Meloidogynidae) no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 6 (4): 519-522.
- SASSER, J.N. & D.W. FRECKMAN. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. In: VEECH, J. & D.W. DICKSON. (ed). *Vistas on Nematology*. The Society of Nematologists, Hyatsville, p. 7-14.
- SAYRE, R.M., W.P. WERGIN, J.M. SCHMIDT & M.P. STARR. 1991. *Pasteuria nishizawae* sp. nov. a mycelial and endosporeforming bacterium parasitic on cyst nematodes of genera *Heterodera* and *Globodera*. *Research in Microbiology*, 142, 551 -564.
- SOUZA, J.T., R.M. SOUZA, V.P. CAMPOS. 1996. Ocorrência e flutuação populacional de *Pasteuria* spp. em Minas Gerais. *Nematologia Brasileira*, 20 (2): 41-51.
- STARR, M.P. & R.M. SAYRE. 1988. *Pasteuria thornei* sp. nov. and *Pasteuria penetrans sensu stricto* emend., mycelial and endospore forming bacteria parasitic, respectively, on plant parasitic nematodes of genera *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. *Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie*, 139 (1): 11-31.
- STURHAN, D., T.S. SHUTOVA, V.N. AKIMOV & S.A. SUBBOTIN. 2005. Occurrence, hosts, morphology, and molecular characterization of *Pasteuria* bacteria parasitic in nematodes of the family Plectidae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 88, 17-26.
- TZORTZAKAKIS, E.A. & S.R. GOWEN. 1994. Evaluation of *Pasteuria penetrans* alone and in combination with oxamyl, plant resistance and solarization for control of *Meloidogyne* spp. on vegetables grown in greenhouses in Crete. *Crop Protection*, 13 (6): 455-462.

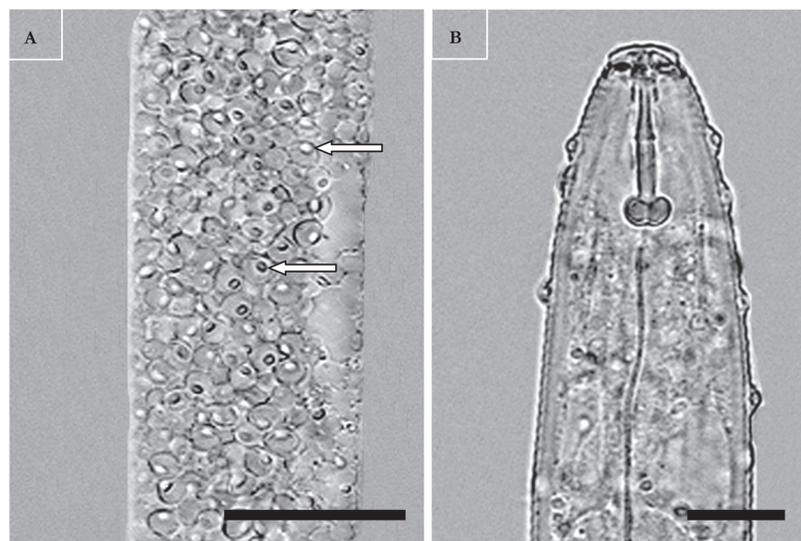


Figura 1 - Fotomicrografias de fêmeas de *Pratylenchus zaei* e *P. brachyurus* infectadas por *Pasteuria thornei*: **a)** pseudoceloma de *P. zaei* preenchido com endósporos da bactéria (setas); **b)** região anterior de *P. brachyurus* exibindo endósporos aderidos à cutícula (barras das escalas = 10 µm).

Soil Amendment with Castor Bean Oilcake and Jack Bean Seed Powder to Control *Meloidogyne javanica* on Tomato Roots

Everaldo A. Lopes*, Silamar Ferraz*, Onkar D. Dhingra, Paulo A. Ferreira & Leandro G. Freitas

Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa (MG) Brasil.

*Autores para correspondência: everaldolopes@hotmail.com; silamar@ufv.br

Recebido para publicação em 28 / 05 / 2008. Aceito em 29 / 09 / 2008

Editado por Luiz Carlos Ferraz

Summary - Lopes, E.A., S. Ferraz, O.D. Dhingra, P.A. Afonso & L.G. Freitas. 2009. Soil amendment with castor bean oilcake and jack bean seed powder to control *Meloidogyne javanica* on tomato roots.

In an attempt to control *Meloidogyne javanica* on tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots, the soil was amended with agro-industry wastes such as sugarcane bagasse (*Saccharum* spp. hybrids), coffee husks (*Coffea arabica*), castor bean oilcake (*Ricinus communis*), and jack bean seed powder (*Canavalia ensiformis*) at application rates of 0.5 or 1.0 % (w/w), under greenhouse conditions. The amendment and 5,000 nematode eggs were mixed in soil in 2-l pots. One week later, one seedling of tomato 'Santa Cruz Kada' was transplanted to each pot. The number of galls and eggs per root system were determined 60 days after transplanting. No control was achieved through the soil amendment with sugarcane bagasse or coffee husks, but with castor bean oilcake the number of eggs / plant was reduced by 18 and 48 % at the application rate of 0.5 and 1.0 %, respectively. Soil amendment with jack bean seed powder was the most efficient reducing the number of root galls by 81 and 98 % and the number of eggs by 76 and 95 % at application rates of 0.5 and 1.0 %, respectively.

Key words: root-knot nematodes, organic amendment, alternative control.

Resumo – Lopes, E.A., S. Ferraz, O.D. Dhingra, P.A. Afonso & L.G. Freitas. 2009. Adição ao solo de torta de mamona e sementes trituradas de feijão-de-porco para controlar *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro.

O efeito adverso da incorporação ao solo de bagaço de cana-de-açúcar, cascas de café, torta de mamona e sementes de feijão-de-porco, nas proporções de 0,5 e 1,0 % (massa / massa), sobre a população de *Meloidogyne javanica* foi avaliado em casa de vegetação usando-se o tomateiro como planta-teste. Os materiais orgânicos e uma suspensão de 5.000 ovos do nematoide foram incorporados ao solo contido em vasos de 2 l, nos quais mudas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* 'Santa Cruz Kada') foram transplantadas após uma semana. Os números de galhas e ovos por sistema radicular foram avaliados após 60 dias. A incorporação ao solo de bagaço de cana ou de cascas de café não afetou significativamente a população do nematoide, mas o número de ovos foi reduzido em 18 e 48 %, com a incorporação ao solo da torta de mamona a 0,5 e 1,0 %, respectivamente. A incorporação das sementes trituradas de feijão-de-porco reduziu o número de galhas em 81 e 98 % e o número de ovos em 76 e 95 %, nas proporções de 0,5 e 1,0 %, respectivamente.

Palavras chaves: nematoide das galhas, matéria orgânica, controle alternativo.

Content

The addition of organic matter into the soil to increase crop yield has been used since the beginning of the agriculture. Among the most beneficial effects of this practice are nutrient enrichment and improved

soil structure. In some cases, suppression of plant pathogens, including nematodes, has also been observed (Halbrendt & LaMondia, 2004). The efficacy of soil amendment to manage plant nematodes depends on the physical and chemical properties of

the organic matter and the soil microbiota (Chavarría-Carvajal & Rodríguez-Kábana, 1998). However, the disease control involves multiple modes of action, such as increased activity of microbial antagonists, liberation of nematicidal metabolites, and plant tolerance to parasitism. The nematicidal compounds liberated into the soil act directly on the nematodes, and rapidly reduce their populations. The indirect action through increased antagonistic microbial population and better plant growth is slower, but reduce disease damage (Halbrendt & LaMondia, 2004).

A number of studies dealing with the evaluation of the efficacy of green manure, crop residues, agro-industry wastes, chitin and other organic matter sources, used as soil amendments, to control plant nematodes are available (Akhtar & Malik, 2000). Soil amendment with oilseed cake, seed powder or neem oil are reported to effectively control several nematode species (Akhtar, 1998). Depending upon the region from Brazil, some agro-industry wastes, such as sugarcane bagasse (*Saccharum* spp.) and coffee husks (*Coffea arabica* L.) are available in large quantities. An acceptable and ecological use of such wastes is an approach to be studied. Their use in the agriculture, as soil amendments, is a promising alternative. However, little is known about their potential to control nematodes. With the increasing demand for renewable energy sources, such as biodiesel from seeds of castor (*Ricinus communis* L.), large quantities of castor seed oilcake will be available. For example, it is estimated that just in the Northeastern region from Brazil, castor cultivation for biodiesel will yield about three million t of oilcake (Beltrão & Melo, 2002). The castor oilcake has been investigated for nematode control with promising results (Akhtar & Mahmood, 1996).

The jack bean [*Canavalia ensiformis* (L.) DC.] is an annual or biannual legume, usually used as green manure in Brazil. It can produce up to 40 t per ha of fresh green mass and fixes up to 190 kg N per year and, if left to maturity, it can yield up to 1.2 t of seeds per ha (Santos & Fontanetti, 2007). The seeds contain about 2.3 % lectins, which may interfere in the migration and attraction of nematodes towards the host, thus drastically reducing the chances of initiating the infective process (Marban-Mendoza, 1982;

Zuckerman, 1983; Marban-Mendoza *et al.*, 1987).

The following study was done to determine the potential of sugarcane bagasse, coffee husks, castor oilcake, and jack bean seed meal to control *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 when used as soil amendments.

The experiment was carried out in Viçosa (MG), Brazil, from November 2004 to January 2005, under greenhouse conditions. The mean air temperature was 29 °C, with mean maximum and minimum of 33 and 18 °C. The inoculum of *M. javanica* consisted of a suspension of eggs extracted from roots of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ‘Santa Cruz Kada’ using the technique of Hussey & Barker (1973), modified by Boneti & Ferraz (1981). Sugarcane bagasse, coffee husks, and jack bean seeds were collected from local farmers around the city of Viçosa, while castor oilcake was purchased from the local market. All the materials were air-dried to constant weight on the greenhouse benches, and ground using a hammer mill equipped with a 1-mm screen. A soil-sand mixture (1:1 w/w) treated with methyl bromide was used as substrate for plant growth. The organic amendments were mixed with dry soil at the rate of 0.5 or 1.0 % (w/w). For mixing, 2 kg soil and the amendments were placed in a 5-l capacity plastic bag, and after tying, the bag was vigorously shaken manually. Similarly treated soil without amendments served as a control. The soil was subsequently placed into 2-l pots and it was infested by mixing a suspension of 5,000 eggs of the nematode, watered and maintained at field capacity for seven days, prior to transplantation of one tomato seedling (‘Santa Cruz Kada’) to each pot. The plants were fertilized and irrigated as required. The fresh root weight and number of galls and nematode eggs per root system were evaluated 60 days after transplanting. A completely randomized design in a 4 × 3 factorial arrangement (amendment × application rate) was established with each treatment being replicated seven times. All data were subjected to analysis of variance and treatment means were compared by Tukey’s test ($P = 0.05$) using the statistical package Statistica 6.0 (Statsoft, 2001). The number of galls were transformed into $\log_{10}(x + 1)$ prior to statistical analysis.

There was significant ($P < 0.05$) interaction between

the type of organic matter and application rate used for soil amendment in the number of galls and eggs per root system (Table 1). The number of galls and eggs per root system was not affected when the soil was amended with sugarcane bagasse or coffee husks. The adverse effect of soil amendment with coffee husks in relation to *M. javanica* has rarely been studied. Tronconi *et al.* (1986) reported that high application rate of coffee husks (75 % v/v) inhibited the development and reproduction of *M. exigua* Goeldi, 1887. Similarly, Zambolim *et al.* (1996) observed a good control of *M. javanica* by amending the soil with composted coffee husks (1:1 v/v). In our study, the lack of effect on nematode development through amendment with coffee husks may be due to the use of lower application rates. Taking into account the feasibility for field application, a sustainable arbitrary limit for maximum application rate of 1.0 % (w/w) was self-imposed in this study, which represents field application rate of 20 t per ha, considering incorporation of the amendment to a depth of 20 cm. In practical terms, this quantity can be further reduced if the amendment is incorporated to lesser depths and only the affected portion of the field is treated, a practice commonly used for nematode management. Sikora *et al.* (1973) reported 22 % reduction in the number of root galls induced by *Meloidogyne* spp. through soil amendment with sugarcane bagasse, at the rate 4 t per ha, just before tomato transplantation; the reduction reached 90 % when tomato was transplanted 100-150 days after amendment. In our research, however, even at much higher rates (5 times) no significant effect on the

nematode were noticed. The high C / N ratio of sugarcane bagasse (121:1) did not allow for its total decomposition during the short duration of the experiment.

Soil amendment with castor bean oilcake did not reduce the gall number, but the egg number per plant was reduced by 18 and 48 % at the application rate of 0.5 and 1.0 %, respectively. There are other reports demonstrating the effect of castor seed oilcake in the control of *Meloidogyne exigua* (Moraes, 1977), *M. incognita* (Alam *et al.*, 1980; Mashela & Nthangeni, 2002) and *Meloidogyne* spp. (Singh *et al.*, 1988). In Brazil, with the expanding production of biodiesel using castor oil, high availability of its oilcake is expected. The data from this study show its potential for use in the nematode management.

Soil amendment with jack bean seed powder was the most efficient among all the amendments tested. The number of galls was reduced by 81 and 98 % and the number of eggs was reduced by 76 and 95 %, at the rates of 0.5 and 1.0 %, respectively. Similar results for number of nematode eggs of *M. incognita* on tomato roots were previously reported (Silva *et al.*, 2002). The high lectin content of jack bean seeds may eventually interfere with nematode movement in the soil, and consequently in the root localization, resulting in low penetration rate of the infective juveniles (Marban-Mendoza, 1982; Zuckerman, 1983; Marban-Mendoza *et al.*, 1987; Silva *et al.*, 2002).

In search of alternative and sustainable strategies to reduce nematode damage in agricultural crops, great attention has been paid to the use of a number of organic matter sources as soil amendments, specially

Table 1 - Number of root galls and *Meloidogyne javanica* eggs on tomato roots ("Santa Cruz Kada") 60 days after transplanting to soil amended with sugarcane bagasse, coffee husks, castor bean oilcake, or jack bean seed powder.

Treatments	Number of root galls ¹			Number of nematode eggs		
	Amendment application rate (%)			Amendment application rate (%)		
	0	0.5	1.0	0	0.5	1.0
Sugarcane bagasse	1,802 Aa	1,282 Aa	1,047 Ab	470,340 Aa	590,760 Aa	358,830 Aa
Coffee husks	1,947 Aa	1,884 Aa	2,128 Aa	544,387 Aa	508,950 Aa	553,500 Aa
Castor bean oilcake	1,843 Aa	1,872 Aa	1,997 Aa	691,470 Aa	569,430 Ba	357,480 Ba
Jack bean seed powder	2,144 Aa	397 Bb	29 Bc	624,510 Aa	149,040 Bb	31,860 Bb
CV (%)		11.39			27.03	

Mean of seven replications; means followed by the same capital letter in the line for number of galls and for number of eggs, and followed by the same small letter in the column do not differ at 5 % level by Tukey's test.

¹Data transformed to log₁₀ (x + 1) before analysis.

crop residues and agro-industry wastes. The data of this study reinforce the potential of castor bean oilcake and jack bean seed powder, when used as soil amendments, to reduce the population of root-knot nematodes, thus deserving further additional studies.

Acknowledgements

The first and the second author thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the scholarship and for the research fellowship, respectively.

Literature Cited

- AKHTAR, M. & I. MAHMOOD. 1996. Control of plant-parasitic nematodes with organic and inorganic amendments in agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 4: 243-247.
- AKHTAR, M. & A. MALIK. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. *Bioresource Technology*, 74: 35-47.
- ALAM, M.M., M. AHMAD & A.M. KHAN. 1980. Effect of organic amendments on the growth and chemical composition of tomato, eggplant and chilli and their susceptibility to attack by *Meloidogyne incognita*. *Plant and Soil*, 57: 231-236.
- BELTRÃO, N.E.M. & F.B. MELO. 2002. Ricinocultura Consorciada com Feijão Vigna no Semi-árido Piauiense, Visando à Produção de Biodiesel, Emprego e Renda. EMBRAPA Algodão, Campina Grande (PB), 4 p.
- BONETTI, J.I.S. & S. FERRAZ. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6: 553 (Resumo).
- CHAVARRÍA-CARVAJAL, J.A. & R. RODRÍGUEZ-KÁBANA. 1998. Changes in soil enzymatic activity and control of *Meloidogyne incognita* using four organic amendments. *Nematropica*, 28: 7-18.
- HALBRENDT, J.M. & J.A. LaMONDIA. 2004. Crop rotation and other cultural practices. In: CHEN, Z., S. CHEN & D.W. DICKSON (ed). *Nematology: Advances and Perspectives. Volume II - Nematode Management and Utilization*. CABI Publishing, Wallingford, p. 909-930.
- LOPES, E.A., S. FERRAZ, L.G. FREITAS, P.A. FERREIRA & D.X. AMORA. 2005. Efeito da incorporação da parte aérea seca de mucuna preta e de tomateiro ao solo sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. *Nematologia Brasileira*, 29: 101-104.
- MARBAN-MENDOZA, N., A. JEYAPRAKASH, H.B. JANSON, R.A. DAMON Jr, & B.M. ZUCKERMAN. 1987. Control of root-knot nematodes on tomato by lectins. *Journal of Nematology*, 19: 331-335.
- MARBAN-MENDOZA, N., M.B. DICKLOW & B.M. ZUCKERMAN. 1992. Control of *Meloidogyne incognita* on tomato by two leguminous plants. *Fundamental and Applied Nematology*, 15: 87-108.
- MASHELA, P.W. & M.E. NTHANGENI, M.E. 2002. Efficacy of *Ricinus communis* fruit meal with and without *Bacillus* species on suppression of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Journal of Phytopathology*, 150: 399-402.
- MORAES, M.V. 1977. Teste preliminar para a determinação do poder nematicida das tortas. *Reunião de Nematologia*, 2: 193-196.
- SANTOS, I.C. & A. FONTANÉTTI. 2007. Feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.). In: PAULA JÚNIOR, T.J. & M. VENZON (ed). 101 Culturas: Manual de Tecnologias Agrícolas. EPAMIG, Belo Horizonte, p. 349-350.
- SIKORA, R.A., R.S. SINGH & K. SITARAMAIAH. 1973. Control of root-knot through organic and inorganic soil amendments. III - Effect of rice husk and sugarcane bagasse. *Haryana Journal of Horticultural Sciences*, 2: 123-127.
- SILVA, G.S., I.M.R. SOUZA, F.A. CUTRIM. 2002. Efeito da incorporação de sementes trituradas de feijão de porco ao solo sobre o parasitismo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, 27: 412-413.
- SINGH, S.K., M.R. KHAN, A.A. KHAN, A.A. 1988. Effect of organic soil amendment on rhizosphere fungi and root-knot nematode on eggplant cv. PPL. *Indian Journal of Applied and Pure Biology*, 3: 103-106.
- STATSOFT, INC. 2001. *Statistica for Windows* (computer program manual). Statsoft Inc., Tulsa (OK) EUA.
- TROCONI, N.M., S. FERRAZ, J.M. SANTOS & A.J. REGAZZI. 1986. Avaliação do efeito da palha de café, misturado ao solo, no desenvolvimento de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, em mudas de cafeeiro. *Nematologia Brasileira*, 10: 85-102.
- ZAMBOLIM, L., M.A. SANTOS, W.F. BECKER & G.M. CHAVES. 1996. Agro-waste soil amendments for the control of *Meloidogyne javanica* on tomato. *Fitopatologia Brasileira*, 21: 250-253.
- ZUCKERMAN, B.M. 1983. Hypotheses and possibilities of intervention in nematode chemoresponses. *Journal of Nematology*, 15: 173-182.