

Nematologia Brasileira

volume 37 / fascículos 3 & 4 / Setembro-Dezembro 2013

Artigos

Ocorrência e Hospedabilidade de Nematoides em Mudanças de Espécies Florestais Utilizadas no Sistema Agrossilvipastoril- Luciany Favoreto, Gabriel H. Pereira, Adriana M. S. Jesus & Bruna R. Oliveira 31-36

Reação de Cultivares de Arroz de Terras Altas a Dois Isolados de *Pratylenchus brachyurus* - Vanessa M. Rack, Felipe Vigolo, Rosângela A. Silva, Gesuino A. Gomes Filho & Paulo S. Santos 37-41

Densidade Populacional e Distribuição Espacial de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* em Algodoeiro em Sistema de Plantio Adensado - Guilherme L. Asmus & Rafael Galbieri..... 42-47

Caracterização Molecular de Nematoides Entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae; Heterorhabditidae) dos Estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo - Dell'Acqua, R., Melissa D.O. Tomazini, R. Harakava, Claudio M.G. Oliveira, Juliana M.O. Rosa & Luís G. Leite 66-74

Comunicações

Efeito de Diferentes Densidades Populacionais Iniciais de *Pratylenchus brachyurus* no Desenvolvimento de Plantas de Lírio. - Samara Azevedo Oliveira & Claudio Marcelo G. Oliveira 48-52

Tratamento de Sementes de Feijoeiro no Controle de *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* - Daniel B. Gonçalves Júnior, Miria Roldi, Francielly M. Namur & Andressa C. Z. Machado 53-56

Reação de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* - Samara L. S. Silva, Tânia F. S. Santos, Neucimara R. Ribeiro, Alessandro T. Silvério & Thays S. Moraes 57-60

Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em Pimentas Capsicum dos Grupos Habanero e Murupi - Jadir B. Pinheiro, Francisco J. B. Reifschneider, Ricardo B. Pereira & Antonio W. Moita 61-65

Nematologia Brasileira

volume 37 / issues 3 & 4 / September-December 2013

Articles

Nematode host suitability and occurrence in forest species seedlings used in the agrosilvopasture system - Luciany Favoreto, Gabriel H. Pereira, Adriana M. S. Jesus & Bruna R. Oliveira 31-36

Suitability of upland Rice cultivars to two *Pratylenchus brachyurus* isolates - Vanessa M. Rack, Felipe Vigolo, Rosângela A. Silva, Gesuino A. Gomes Filho & Paulo S. Santos 37-41

Population density and spatial distribution of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* in narrow row cotton - Guilherme L. Asmus & Rafael Galbieri 42-47

Molecular characterization of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae; Heterorhabditidae) from Mato Grosso do Sul and São Paulo States, Brazil - Dell'Acqua, R., M.D.O. Tomazini, R. Harakava, C.M.G. Oliveira, J.M.O. Rosa & L.G. Leite 66-74

Brief Communications

Effect of initial population densities of *Pratylenchus brachyurus* on the growth of lily plants - Samara Azevedo Oliveira & Claudio Marcelo G. Oliveira 48-52

Seed treatment of common bean on the control of *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* - Daniel B. Gonçalves Júnior, Miria Roldi, Francielli M. Namur & Andressa C. Z. Machado 53-56

Host response of weed species to *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* - Samara L. S. Silva, Tânia F. S. Santos, Neucimara R. Ribeiro, Alessandro T. Silvério & Thays S. Morais 57-60

Reproduction of *Meloidogyne enterolobii* in Habanero and Murupi peppers - Jadir B. Pinheiro, Francisco J. B. Reifschneider, Ricardo B. Pereira & Antonio W. Moita 61-65

Ocorrência e Hospedabilidade de Nematoides em Mudanças de Espécies Florestais Utilizadas no Sistema Agrossilvipastoril

Luciany Favoreto^{1*}, Gabriel H. Pereira², Adriana M. S. Jesus¹ & Bruna R. Oliveira³

¹Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG),
Unidade Regional Triângulo e Alto Paranaíba, 38060-049 Uberaba (MG) Brasil.

²Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade de Uberaba, 38010-200
Uberaba (MG) Brasil; bolsista da EPAMIG / FAPEMIG.

³Faculdade de Engenharia Agrônoma, Instituto Federal do Triângulo Mineiro, 38020-300
Uberaba (MG) Brasil; bolsista da EPAMIG / FAPEMIG.

*Autora para correspondência: luciany@epamig.com

Recebido para publicação em 16 / 10 / 2012. Aceito em 22 / 04 / 2013

Editado por Cláudia R. Dias-Arieira (crdiasarieira@hotmail.com)

Resumo - Favoreto, L., G.H. Pereira, A. M. S. Jesus & B.R. Oliveira. 2013. Ocorrência e hospedabilidade de nematoides em mudas de espécies florestais utilizadas no sistema agrossilvipastoril.

Este trabalho teve como objetivo realizar um levantamento populacional de nematoides em espécies florestais utilizadas no sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) e avaliar a hospedabilidade de 15 espécies florestais a *Pratylenchus brachyurus*. Foram coletadas 58 mudas em viveiros e hortos florestais nas cidades de Araxá, Campina Verde, Ibiá, Patrocínio, Uberaba e Uberlândia, todas situadas em Minas Gerais. Dessas, 56 (96,55 %) estavam infestadas por fitonematoides. Os nematoides encontrados, com as respectivas porcentagens de ocorrência, foram: *Ditylenchus* sp. (63,79 %), *Aphelenchoides* sp. (58,89 %), *Helicotylenchus* sp. (46,55 %), *Pratylenchus* sp. (32,75 %), *Aphelenchus* sp. (18,96 %), *Meloidogyne* sp. (6,89 %), *Mesocriconema* sp. (3,44 %), *Paratrichodorus* sp. (1,72 %) e *Tylenchus* sp. (1,72 %). Os resultados indicaram que fitonematoides com importância econômica para as culturas utilizadas na ILPF, tais como *Meloidogyne* sp. e *Pratylenchus* sp., foram encontrados em mudas de espécies florestais que estão sendo comercializadas para integrar este sistema. O teste de hospedabilidade foi realizado em casa de vegetação na EPAMIG, em Uberaba (MG). Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com cinco repetições, sendo inoculados 600 nematoides por planta. Todas as espécies florestais estudadas, neste experimento, multiplicaram *P. brachyurus*.

Palavras-chaves: fitonematoides, integração lavoura-pecuária-floresta, *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp.

Summary - Favoreto, L., G.H. Pereira, A. M. S. Jesus & B.R. Oliveira. 2013. Nematode host suitability and occurrence in forest species seedlings used in the agrossilvipasture system.

The aim of this work was to survey nematode in forest species used in the agricultural-forest integration system (AFIS), as well to evaluate the host suitability of 15 forest species to *Pratylenchus brachyurus*. Fifty eight samples were collected from nurseries in the municipalities of Araxá, Campina Verde, Ibiá, Patrocínio, Uberaba and Uberlândia (Minas Gerais State). Fifty six (96.55 %) of them were infested with phytonematodes. The nematodes detected and the frequency of occurrence are: *Ditylenchus* sp. (63.79 %), *Aphelenchoides* sp. (58.89 %), *Helicotylenchus* sp. (46.55 %), *Pratylenchus* sp. (32.75%), *Aphelenchus* sp. (18.96 %), *Meloidogyne* sp. (6.89 %), *Mesocriconema* sp. (3.44 %), *Paratrichodorus* sp. (1.72 %) and *Tylenchus* sp. (1.72 %). The results indicated that forestry seedlings available in nurseries are infested with major phytonematodes, as *Meloidogyne* sp. and *Pratylenchus* sp. A host suitability trial was carried out in a greenhouse, in a randomized blocks design with five replications. The initial population density was 600 nematodes per plant. All forestry species evaluated multiplied *P. brachyurus*.

Keywords: phytonematodes, agricultural-forest integration system, *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp.

Introdução

A preservação da biodiversidade é fundamental para a produção agropecuária, que utiliza processos biológicos naturais para a produção de alimentos, além de outros produtos e serviços. As práticas de monocultivo em áreas extensas, dependentes de pesadas mecanizações e fertilização química, desequilibraram de tal forma os ambientes naturais que os agrotóxicos são essenciais para o controle de pragas (Baggio & Medrado, 2003).

Atualmente, a produção florestal integrada à agropecuária é uma modalidade de grande importância, pelas seguintes vantagens: amortização dos altos custos envolvidos na implantação e manutenção de florestas; resposta à crescente pressão da sociedade para que os empreendimentos econômicos sejam harmoniosos com o ambiente (Bezerra, 1997; Macedo *et al.*, 2000).

O sistema integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) é caracterizado pela distribuição regular de árvores ao longo da área, podendo ser constituído de linhas simples de árvores plantadas, nas quais as entrelinhas são utilizadas para exploração agrícola e pastoril. O componente pasto pode vir em sucessão aos cultivos agrícolas ou entrar no sistema desde o primeiro ano, sempre com o cuidado de evitar a competição da gramínea com as árvores, especialmente nos primeiros anos da instalação (Macedo *et al.*, 2000).

Em um sistema dinâmico como este, a escolha dos seus componentes (arbóreo, agrícola e pastoril) deve ser extremamente criteriosa, pois os efeitos interativos e de convivência aparecem com o tempo e podem ser cumulativos (Venturin *et al.*, 2010).

Segundo Engel (1999), estas associações de culturas podem contribuir para a solução de problemas no uso dos recursos naturais, devido às funções biológicas e socioeconômicas que cumprem. A presença de árvores no sistema traz benefícios diretos e indiretos, tais como o controle da erosão e manutenção da fertilidade do solo, o aumento da biodiversidade, a diversificação da produção e o alongamento do ciclo de manejo de uma área.

As culturas mais utilizadas no sistema ILPF são milho, café, arroz, feijão, soja e cana-de-açúcar; as espécies florestais mais utilizadas são acácia, amoreira,

cedro-australiano, eucalipto, gliricídia, grevilea, leucena, mangueira, mogno, pinus, araucária, aroeira, angico, bracinga, coqueiro, ipê, macaúba, óleo-vermelho, sucupira, samaúma, paricá, tatajuba, teca, algaroba, canafístula, caroba, álamo, guanandi e pau-ferro; e as forrageiras mais utilizadas são *Brachiaria* spp. e *Panicum* spp. (Venturin *et al.*, 2010).

O processo produtivo de sementes e mudas das espécies florestais deve ser embasado em parâmetros técnicos consistentes e elaborados. As mudas destinadas à comercialização devem possuir excelente qualidade, sem problemas fitossanitários e que se estabeleçam eficientemente após o plantio (Dias *et al.*, 2006).

A ocorrência de nematoides de importância econômica, para as culturas anuais e forrageiras, utilizadas no sistema ILPF, deve ser considerada. A presença de *Pratylenchus brachyurus* é particularmente importante, pois essa espécie tem como hospedeiras tanto culturas de importância agrícola quanto forrageiras, o que faz sua multiplicação ser potencializada neste sistema. Assim, todos os cuidados devem ser tomados com as mudas que entram em uma propriedade, sejam elas de frutíferas, sejam ornamentais (Campos, 2002; Silva, 2005) ou florestais.

A hipótese de mudas de florestais estarem disseminando nematoides motivou a realização do presente estudo. O levantamento foi realizado com o objetivo de verificar a ocorrência de nematoides em espécies florestais utilizadas no sistema integração lavoura-pecuária-floresta, e o experimento, de avaliar a hospedabilidade de espécies florestais ao *P. brachyurus*.

Material e Métodos

Para o estudo da ocorrência de nematoides, foram coletadas mudas em idade de plantio, em viveiros e hortos florestais nos municípios de Araxá, Campina Verde, Ibiá, Patrocínio, Uberaba e Uberlândia, todos situados no estado de Minas Gerais. Em cada local visitado, coletaram-se três subamostras de cada espécie florestal disponível, que foram homogeneizadas para formar uma amostra composta. Ao todo foram coletadas 58 amostras compostas, conforme Tabela 1. Todos os viveiros e hortos florestais visitados mantinham as mudas sobre o solo, que por vezes era coberto por uma lona (Figura 1).

Tabela 1 - Mudras de espécies florestais estudadas e municípios onde foram coletadas.

Espécies Florestais		Municípios					
Nome comum	Nome científico	Uberlândia	Uberaba	Patrocínio	Araxá	Ibiá	Campina Verde
1	Mogno-africano	<i>Khaya ivorensis</i>	X				
2	Óleo-vermelho	<i>Copaifera langsdorffii</i>	X		X		
3	Ipê-roxo	<i>Tabebuia heptaphylla</i>	X		X		
4	Acácia-imperial	<i>Acacia mangium</i>	X				
5	Acácia-rosa	<i>Cassia grandis</i>	X		X		
6	Grevílea	<i>Grevillea robusta</i>	X				
7	Jacarandá		X				
8	Aroeira	<i>Myracrodun urundeuva</i>	X			X	X
9	Teca	<i>Tectona grandis</i>	X		X		
10	Pau-ferro	<i>Caesalpinia ferrea</i>	X	X	X	X	
11	Araucária	<i>Araucaria angustifolia</i>	X			X	
12	Amoreira	<i>Morus alba</i>	X		X	X	
13	Mangueira	<i>Mangifera indica</i>	X	X	X	X	
14	Guanandi	<i>Calophyllum brasiliense</i>	X	X	X		
15	Angico	<i>Piptadenia paniculata</i>	X		X	X	X
16	Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> spp.		X			
17	Caricácea	<i>Carica papaya</i>			X		
18	Falso-pau-brasil	<i>Adenanthera pavonina</i>			X		
19	Paineira-rosa	<i>Chorisia speciosa</i>			X		
20	Álamo	<i>Populus nigra</i>			X		
21	Flamboyant	<i>Delonix regia</i>			X	X	
22	Ipê-mirim	<i>Stenolobium stans</i>			X	X	
23	Canafístula	<i>Peltophorum dubium</i>			X	X	
24	Pínus	<i>Pinus</i> spp.			X		
25	Sibipiruna	<i>Caesalpinia peltophoroides</i>				X	
26	Ipê-branco	<i>Handoanthus albus</i>				X	
27	Cássia-rosa	<i>Cassia grandis</i>				X	
28	Ipê-amarelo	<i>Tabebuia alba</i>				X	
29	Bacupari	<i>Garcinia brasiliensis</i>					X
30	Nim-indiano	<i>Azadirachta indica</i>					X
31	Gameleira	<i>Ficus adhatodifolia</i>					X
32	Bálsamo	<i>Cotyledon orbiculata</i>					X
33	Ingá	<i>Inga uruguensis</i>					X

**Figura 1** - Viveiros de produção de mudras.

Após serem coletadas, as mudras foram levadas para a Fazenda Experimental Getúlio Vargas, pertencente à Unidade Regional Epamig Triângulo e Alto Paranaíba, onde foi conduzido todo o estudo.

Em casa de vegetação as mudras já identificadas foram separadas por procedência (município de

coleta) e espécie. Separou-se, então, o solo a a raiz da parte aérea, seccionando-se com auxílio de uma tesoura de poda a região do coleto, descartando-se a parte aérea. O solo e as raízes das três mudras de cada espécie foram homogeneizados e acondicionados em saco plástico e levados ao laboratório. A análise

nematológica foi realizada em 10 gramas de raízes, das quais os nematoides foram extraídos pelo método de Coolen & D'Herde (1972), e em 100 cm³ de solo, segundo Jenkins (1964). A suspensão aquosa de nematoides obtida de cada amostra foi concentrada para 4 ml, homogeneizada e transferida para uma lâmina de Peter para a identificação e estimativa do número de nematoides, ao microscópio óptico comum.

No experimento de casa de vegetação, selecionaram-se 15 espécies florestais, dentre aquelas mais comercializadas nos municípios do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, a saber: jatobá (*Hymenaea courbaril*), guanandi (*Symphonia globulifera*), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), amoreira (*Myracrodruon urundeuva*), angico-cangalha (*Peltophorum dubium*), aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), ipê-branco (*Tabebuia cassinoides*), ipê-roxo (*Tabebuia heptaphylla*), ipê-rosa (*Tabebuia impetiginosa*), mogno-africano (*Khaya ivorensis*), ingá (*Inga edulis*), bálsamo (*Myroxylon balsamum*), gameleira (*Ficus insipida*), sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides*) e paineira (*Eriotheca pubescens*). Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com cinco repetições. Para obtenção do inóculo de *P. brachyurus*, os nematoides provenientes do campo de soja da região de Barretos (SP) foram multiplicados em plantas de amendoim (*Arachis hypogaea*). As mudas, provenientes dos viveiros comerciais foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade de 3 litros, contendo como substrato a mistura de solo e areia (2:1). Após 10 dias, inocularam-se 600 nematoides por planta. Os vasos foram mantidos em telado e irrigados diariamente.

Após 120 dias da inoculação, efetuou-se a extração de nematoides no solo e nas raízes, conforme descrito anteriormente. A população final (Pf) foi calculada com base na média das cinco repetições e na estimativa do somatório do número total de nematoides no sistema radicular e no substrato, por vaso. O fator de reprodução (FR) foi calculado pela razão entre população final e população inicial, conforme Oostenbrink (1966). As plantas que apresentaram FR < 1 foram consideradas resistentes e as que apresentaram FR >, suscetíveis.

Resultados e Discussão

Do total de 58 mudas coletadas em viveiros e

hortos florestais, 56 (96,55 %) estavam contaminadas por nematoides. Os nematoides detectados nas mudas, com as respectivas quantidades de amostras positivas, foram: *Ditylenchus* sp. – 37 amostras (63,79 %), *Aphelenchoides* sp. – 33 amostras (58,89 %), *Helicotylenchus* sp. – 27 amostras (46,55 %), *Pratylenchus* sp. – 19 amostras (32,75 %), *Aphelenchus* sp. – 11 amostras (18,96 %), *Meloidogyne* sp. – quatro amostras (6,89 %), *Mesocriconema* sp. – duas amostras (3,44 %), *Paratrichodorus* sp. – uma amostra (1,72 %) e *Tylenchus* sp. – uma amostra (1,72 %). *Pratylenchus* sp. foi encontrado em quatro municípios dos seis municípios mineiros e em 13 espécies florestais das 33 analisadas (Tabela 2). *Meloidogyne* sp. foi encontrado dois municípios e em quatro espécies florestais (Tabela 3).

No teste de hospedabilidade, todas as mudas testadas apresentaram reação de suscetibilidade a *P. brachyurus* (Tabela 4), considerando-se a população total (solo + raiz). Apenas quatro das 15 espécies testadas teriam sido classificadas como suscetíveis, se os resultados do substrato não fosse utilizado para o cálculo do FR. Apesar do *P. brachyurus* ser um endoparasita migrador, neste estudo ele foi encontrado em maior quantidade no substrato, provavelmente pela grande lignificação das raízes das espécies florestais, que pode ter dificultado a infecção das mesmas.

Nematoides de importância econômica já foram detectados, em estudos anteriores, na rizosfera de espécies florestais. Solano *et al.* (2002) encontraram prevalência de espécies de *Meloidogyne* e *Tylenchorhynchus* em cultivos de *Eucalyptus* sp. Em levantamento realizado por Cruz *et al.* (2003), em diferentes genótipos de *Eucalyptus* sp. e em *Pinus caribaea*, observou-se que somente *E. camaldulensis* não apresentou infestação por *Pratylenchus* sp. Estes autores ainda observaram que *Meloidogyne* sp. foi encontrado tanto no solo quanto nas raízes em *E. citriodora*, *E. tereticornis* e *E. toreliana*.

Almeida (2007) encontrou *Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp. associados às raízes de angico em levantamento realizado em áreas reflorestadas da Amazônia. Cruz *et al.* (1986) observaram índice de ocorrência de 60 % do gênero *Pratylenchus* spp., na espécie florestal pau d'arco (*Tabebuia serratifolia*), em cinco unidades produtoras de Alagoas e Sergipe.

Tabela 2 - Média de *Pratylenchus* spp. encontrada nas mudas das espécies florestais.

Espécie florestal	Municípios	<i>Pratylenchus</i> spp.	
		Solo	Raiz
Acácia	Uberlândia	112	188
Angico	Uberlândia	-	8
Araucária	Uberlândia	8	32
Aroeira	Uberlândia	236	188
Grevílea	Uberlândia	-	4
Jacarandá	Uberlândia	16	4
Mangueira	Uberlândia	8	28
Pau-ferro	Uberlândia	20	52
Araucária	Ibiá	4	-
Acácia-rosa	Ibiá	32	32
Mangueira	Ibiá	12	16
Pau-ferro	Ibiá	4	4
Álamo	Patrocínio	4	-
Amoreira	Patrocínio	4	-
Falso-pau-brasil	Patrocínio	8	24
Paineira-rosa	Patrocínio	-	8
Pau-ferro	Patrocínio	8	-
Mangueira	Uberaba	-	24
Pau-ferro	Uberaba	4	260

Tabela 3 - Média de *Meloidogyne* spp. encontrada nas mudas de espécies florestais.

Espécie florestal	Municípios	<i>Meloidogyne</i> spp.	
		Solo	Raiz
Aroeira	Campina Verde	-	4
Gameleira	Campina Verde	16	100
Ingá	Campina Verde	4	4
Ipê	Patrocínio	80	-

Tabela 4 - Fator de reprodução de *Pratylenchus brachyurus* nas raízes e no total (raízes + solo) aos 120 dias após a inoculação.

Espécie florestal	Fator de reprodução (Pf / Pi) ¹	
	Raízes	Raízes + Solo
Angico-cangalha	0,19	5,92
Aroeira	1,36	41,10
Aroeira-vermelha	0,72	17,52
Bálsamo	0,49	10,62
Eucalipto	0,65	15,45
Gameleira	0,64	8,37
Guanandi	0,49	10,35
Ingá	1,20	10,66
Jatobá	0,67	13,47
Mogno	0,96	12,02
Paineira	3,81	18,47
Sibipiruna	0,61	9,01
Ipê-branco	0,53	14,13
Ipê-rosa	4,56	19,90
Ipê-roxo	0,47	10,87

¹Fator de reprodução, FR > 1 indica plantas suscetíveis, FR < 1, resistentes (Oostenbrink, 1966).

A ocorrência de fitonematóides de importância econômica já foi relatada também em mudas provenientes de viveiros a céu aberto (Campos, 2002; Santos *et al.*, 1998). A produção de mudas isenta de nematoides é essencial ao bom estabelecimento da

cultura no campo. O prejuízo desta disseminação passiva pode ser ainda mais grave quando se considera o sistema de ILPF, pois a espécie de nematoide que está sendo introduzida na lavoura pode ser hospedeira de mais de uma cultura integrante do sistema. A

fartura de raízes de plantas suscetíveis nesta área fará com que os níveis populacionais da praga cresçam exponencialmente, dificultando ou impedindo a formação adequada da cultura e causando uma redução considerável nas produções atual e subsequente.

O estudo da reação de *P. brachyurus* em espécies florestais é pouco conhecido. Contudo, este problema fitossanitário em viveiros vem sendo discutido há tempos (Curi *et al.*, 1984), porém, como se constatou neste estudo, com pouco sucesso. Novos estudos devem ser realizados para que se possa viabilizar o uso de espécies florestais no sistema de ILPF em áreas infestadas com este nematoide.

As espécies florestais estudadas não devem ser indicadas para integrar o sistema lavoura-pecuária-floresta em área infestada por *P. brachyurus*, uma vez que irão propiciar a manutenção ou o aumento populacional da espécie.

Literatura Citada

- ALMEIDA, C.M. 2007. Ocorrência de microorganismos associados a espécies vegetais de áreas reflorestadas após exploração petrolíferas e gás natural em Urucum, município de Corai, AM. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém (PA), 50 p.
- BAGGIO, A.A. & M.J.S. MEDRADO. 2003. Sistemas Agroflorestais e Biodiversidade. In: SEMINÁRIO DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, I, Campo Grande. Anais, CD-ROM.
- BEZERRA, R.G. 1997. Consórcios de clones de eucalipto com soja e milho na região de cerrado no noroeste do Estado de Minas Gerais: um estudo de caso. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras (MG), 91 p.
- CAMPOS, A.S. de. 2002. Distribuição de *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni* em citros, no estado de São Paulo, e estudo morfológico comparativo de populações anfímicas de *Pratylenchus* spp. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal (SP), 65 p.
- COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A Method for the Quantitative Extration of Nematodes from Plant Tissue. State Nematology and Entomology Research Station, Ghent (Belgium), 77 p.
- CURI, M.S., S.G.P. SILVEIRA & H.S. PRATES. 1984. Detecção de nematoides em viveiros comerciais de citros do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, VII, Piracicaba. Resumos, p. 10.
- CRUZ, M.M., S.M.S. SILVA & C.A.G. RIBEIRO. 1986. Levantamento populacional de nematóides em pau d'arco em áreas de baixa produtividade nos estados de Alagoas e Sergipe. Nematologia Brasileira, 10: 27-28.
- CRUZ, M.C., C.E.M. OTOBONI, R.V. FERREIRA & S.L. GOULART. 2003. Ocorrência de nematoides em genótipos de *Eucalyptus* e *Pinus caribaea*. Revista Científica Eletrônica Agronomia, <<http://www.revista.inf.br/agro04/artigos/artigo10.pdf>> acesso 15 setembro 2012.
- DIAS, E.S., C. KALIFE, Z.R.H. MENEGUCCI & P.R. SOUZA. 2006. Produção de mudas de espécies florestais nativas. Editora UFMS, Campo Grande (MS), 59 p.
- ENGEL, V.L. 1999. Introdução aos Sistemas Agroflorestais. Editora FEPAF, Botucatu (SP), 70 p.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, 48 (9): 692.
- LEEUWEN, K.V. & J.M. SANTOS. 2001. Nematoides – flores do mal. Revista Cultivar Hortaliças e Frutas, 22-23.
- MACEDO, R.L.G., N. VENTURIN & A.A. TSUKAMOTO FILHO. 2000. Potencial de estabelecimento de clones de *Hevea brasiliensis* Muell Arg. (seringueira) introduzidos em sistemas agroflorestais com castanheira do Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb & Bompl), Lavras (MG). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ECOSISTEMAS FLORESTAIS, V, Porto Seguro (BA). Anais, p. 159-161.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Med. Landbouwhogeschool, Wageningen – Países Baixos, 66: 3-46.
- SANTOS, J. M., M.S. IKEDA, M.C.M. CROMBERG & S. SENA FILHO. 1998. Levantamento de nematoides em viveiros de citros em 14 municípios do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXII, Maringá (PR). Resumos. p. 38.
- SILVA, R.A. da. 2005. Técnicas para evitar a dispersão dos nematoides no cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, V, <http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/trabalhos_cba5/360.pdf> acesso 3 setembro 2012.
- SOLANO, O.M.F., F.P. ROJAS & A.S.Q. SOLÍS. 2002. Principales Nematodos Asociados a los Cultivos de Costa Rica. Ministério de Agricultura y Ganaderia Costa Rica, Servicio Fitosanitario del Estado, Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario. 22 p.
- VENTURIN, R.P., A.R. GUERRA, R.L.G. MACEDO, N. VENTURIN & H.A. MESQUITA. 2010. Sistemas agrossilvipastoris: origem, modalidades e modelos de implantação. Informe Agropecuário, 31 (257): 16-24.

Reação de Cultivares de Arroz de Terras Altas a Dois Isolados de *Pratylenchus brachyurus*

Vanessa M. Rack, Felipe Vigolo, Rosangela A. Silva*, Gesuino A. Gomes Filho & Paulo S. Santos

UNIVAG – Centro Universitário, Av. Dom Orlando Chaves 2655, 78188-000 Várzea Grande (MT) Brasil.

*Autora para correspondência: radsilvas@gmail.com

Recebido para publicação em 1 / 12 / 2011. Aceito em 29 / 11 / 2013

Editado por Cláudia R. Dias-Arieira (crdiasarieira@hotmail.com)

Resumo - Rack, V.M., F. Vigolo, R.A. Silva, G.A. Gomes Filho & P.S Santos. 2013. Reação de cultivares de arroz de terras altas a dois isolados de *Pratylenchus brachyurus*.

Foram conduzidos três experimentos em telado de sombrite com o objetivo de avaliar a reação de cultivares e híbridos de arroz a dois isolados de *Pratylenchus brachyurus*. Os isolados foram coletados em Lucas do Rio Verde (MT) e Rio Verde (GO); as cultivares avaliadas foram AN Cambará, BRS Cirad, BRSMG Curinga, AN Ipê, BRS monarca, BRS Pepita, BRS Primavera, BRS Sertaneja; e os híbridos Ecco CL e Ecco. A crotalaria e o quiabo foram o controle resistente e o suscetível, respectivamente. A reprodução de *P. brachyurus* foi estimada 60 dias após a inoculação no primeiro experimento e 62 dias nos demais. As variáveis analisadas foram fator de reprodução (FR), número de nematoide por grama de raízes e massa fresca das raízes. Os resultados mostraram que todas as cultivares e o híbrido Ecco CL foram suscetíveis ao isolado de Lucas do Rio Verde, com FR variando de 1,22 a 2,94. As cultivares BRSMG Curinga, BRS Ipê e BRS Sertaneja foram resistentes ao isolado de Rio Verde, e o híbrido Ecco foi resistente a ambos os isolados.

Palavras-chaves: *Oryza sativa*, nematoide das lesões, resistência genética, manejo.

Summary - Rack, V.M., F. Vigolo, R.A. Silva, G.A. Gomes Filho & P.S Santos. 2013. Suitability of upland rice cultivars to two *Pratylenchus brachyurus* isolates.

Three experiments were conducted in a lathhouse in order to evaluate the suitability of rice cultivars and hybrids to two isolates of *Pratylenchus brachyurus*. The isolates collected were used in Lucas do Rio Verde (Mato Grosso State) and Rio Verde (Goiás State); the cultivars were AN Cambará, BRS Cirad, BRSMG Curinga, AN Ipê, BRS Monarca, BRS Pepita, BRS Primavera, BRS Sertaneja; the hybrids were CL Ecco and Ecco. Showy crotalaria was used as resistant control, and okra as susceptible control. The reproduction of *P. brachyurus* was estimated 60 days after inoculation in the first experiment and 62 days and in the other. The variables analyzed were reproduction factor (RF), the number of nematodes per gram of roots and the weight of the roots. The results showed that all cultivars and the hybrid CL Ecco were susceptible to the isolate from Lucas do Rio Verde, with RF ranging from 1.22 to 2.94. Cultivars BRSMG Curinga, BRS Ipê and BRS Sertaneja were resistant to the isolated from Rio Verde, and the hybrid Ecco was resistance to both isolates.

Key words: *Oryza sativa*, lesion nematode, genetic resistance, management.

Introdução

A produção de arroz está concentrada na Ásia, que responde por aproximadamente 90 % da produção mundial, seguida das Américas (4,5 %), África (4,5 %), Europa e Oceania. O consumo também

está concentrado nos maiores produtores (Embrapa, 2009). Segundo o IBGE (2011), a produção brasileira na safra 2010/11 foi de 12,8 milhões de toneladas, a qual foi 12,6 % superior à obtida na safra anterior.

Há dois grandes ecossistemas para a cultura: de

várzea, irrigado por inundação controlada, e o de terras altas, sem irrigação e ou com irrigação suplementar por aspersão (Guimarães *et al.*, 2006). A cultura do arroz de terras altas, também chamado de sequeiro, é baseada no emprego de cultivares de arroz pouco exigentes em insumos e tolerantes a solos ácidos, e teve destacado papel como cultura pioneira durante o processo de ocupação agrícola dos cerrados, iniciado na década de 60 (Ferreira & Villar, 2003). No estado de Mato Grosso, essa cultura ainda é considerada desbravadora, apesar dos avanços tecnológicos alcançados nos últimos anos. A atividade continua carregando o estigma de pioneira na expansão da fronteira agrícola, sendo usada para a “domesticação” da terra e posterior substituição principalmente por soja ou pastagens (Perozzi, 2004).

Durante o ciclo, a cultura é afetada por fungos e nematoides que reduzem a qualidade dos grãos e a produtividade. Muitas espécies de nematoides já foram relatadas na cultura, dentre os quais *Pratylenchus brachyurus*, que é reconhecida atualmente como um dos maiores problemas na cultura da soja. Considerando os impactos econômicos mundiais para diferentes culturas agrícolas, o gênero *Pratylenchus* ocupa o segundo lugar em importância entre todos os fitonematoides (Goulart, 2008).

Levantamentos realizados em áreas de plantio de algodão e soja demonstraram que *P. brachyurus* era o fitonematoide mais frequente, com frequências de 94 e 98 % das amostras coletadas no estado de Mato Grosso (Silva *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2010).

Uma característica ainda pouco estudada em *P. brachyurus* é a diferença de agressividade dos isolados. Machado (2006) demonstrou diferença de agressividade em três isolados de *P. brachyurus*, pela avaliação da reprodução do nematoide em raízes de algodoeiro. Siqueira (2007), trabalhando com feijão caupi, também demonstrou diferença de agressividade entre isolados.

Considerando a importância da cultura do arroz para o estado de Mato Grosso e a elevada distribuição de *P. brachyurus*, informações sobre a reação de cultivares de arroz ao nematoide seriam valiosas para seu manejo. Porém, tais informações são ausentes na literatura, razão pela qual o presente estudo teve por objetivo avaliar a reação de diferentes cultivares de

arroz a dois isolados de *P. brachyurus*.

Material e Métodos

Três experimentos foram conduzidos em telado de sombrite 50 %, no campo experimental do UNIVAG, Centro Universitário, em Várzea Grande (MT). O primeiro foi conduzido de setembro a novembro de 2009 e o segundo e terceiro de março a junho de 2010, com temperatura do solo dentro copos variando de 22 a 38 °C.

Obtenção dos isolados. A população de *P. brachyurus* (Pb.UNIVAG) foi originária de trinta fêmeas retiradas de plantas de soja (*Glycine max*) oriunda do município de Lucas do Rio Verde (MT) e multiplicada em plantas de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*). O isolado de Rio Verde (GO) (Pb.FESURV), foi cedido pela Universidade de Rio Verde (FESURV). Para a identificação de *P. brachyurus*, algumas lâminas contendo fêmeas foram observadas em microscópio óptico e as características morfológicas foram comparadas com as descritas por Handoo & Golden (1989). O inóculo de *Pratylenchus brachyurus* (ovos, juvenis e adultos) foi preparado a partir de raízes de quiabeiro, processadas pelo método do liquidificador e centrífuga (Coolen & D’herde, 1972).

Obtenção das plantas. As plantas foram obtidas por semeadura direta em recipientes de isopor com capacidade de 390 cm³, contendo 380 cm³ de substrato. Foram semeadas seis sementes por recipiente e, após a emergência, foi realizado o desbaste, de modo a obter a população final de duas plantas por copo. O substrato utilizado foi autoclavado a 121 °C por 2 horas, 30 dias antes do início do experimento. As composições granulométricas dos substratos nos três ensaios foram de 66,12 % de areia; 3,68 % de silte e 30,20 % de argila. O inóculo foi depositado com auxílio de pipetador automático, em dois orifícios de 2 cm de profundidades, abertos a 1 centímetro do colo das plantas.

Experimentos 1. As cultivares de arroz de terras altas recomendadas pela Embrapa (2010) para o estado de Mato Grosso são BRS Primavera, BRS Bonança, BRSMG Curinga, BRS Sertaneja, BRS Pepita, BRS Monarca, Cirad 141, Best 2000, AN Jatobá, AN Cambará, além do híbrido Ecco. Com base nessa informação, foram escolhidos como tratamentos, para

o experimento 1, as cultivares BRS Primavera BRS, BRS Curinga, BRS Sertaneja, BRS Pepita, BRS Monarca e Cirad 141 e os híbridos: Ecco e Ecco CL. A crotalária (*Crotalaria spectabilis* 'Comum') foi escolhida para controle resistente a *P. brachyurus* e o quiabeiro 'Santa Cruz' como suscetível. O inóculo utilizado foi de Pb.UNIVAG. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com 10 tratamentos e seis repetições para cada tratamento. Vinte dias após a emergência, as plantas foram inoculadas individualmente com uma suspensão contendo 500 ovos, juvenis e adultos de *P. brachyurus*. Durante o período do experimento, as plantas foram irrigadas de acordo com a necessidade. A cada quinze dias após a inoculação, as plantas receberam adubações na dosagem de 0,3 g / copo do adubo Ouro Verde (5 % N, 12 % P₂O₅, 18 % K₂O, 2 % Ca, 2,5 % Mg, 1,5 % B, 0,5 % Cu, 0,1 % Fe, 0,5 % Mn, 0,2 % Mo, 0,4 % Zn).

Ao final do período experimental, 60 dias após a inoculação, os nematoides foram extraídos das raízes pelo método do liquidificador, peneiramento e centrifugação (Coolen & D'Herde, 1972). A população final (Pf) foi estimada pela contagem em lâmina de Peters, utilizando microscópio óptico. Após a contagem, foram calculados os fatores de reprodução (FR = Pf / Pi) segundo Oostenbrink (1966). Plantas com valor médio de FR < 1,0 foram consideradas resistentes, enquanto as com FR ≥ 1,0

foram consideradas suscetíveis. Além disso, foi determinada a massa fresca das raízes (MFR), número de ovos (NO) e o valor médio de nematoide por grama de raízes (Nem./g) em cada parcela.

Experimentos 2 e 3. Os experimentos foram conduzidos entre os meses de março a julho de 2010. Os tratamentos consistiam nas cultivares de arroz BRS MG Curinga, BRS Sertaneja, AN Ipê e AN Cambará; no híbrido Ecco; na crotalária; e no quiabeiro. Cada tratamento teve cinco repetições. Os isolados foram Pb.UNIVAG para o experimento 2 e Pb.FESURV para o experimento 3. Semeadura, inoculação, adubação e avaliação foram realizadas conforme mencionada para o experimento 1, porém as avaliações foram realizadas 62 dias após a inoculação.

Análise estatística. Os dados obtidos das variáveis NO e Nem./g foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2000).

Resultados e Discussão

Os altos valores de FR obtidos no quiabeiro em todos os três experimentos comprovaram a viabilidade dos inóculos estudados (Tabela 1). Nos experimentos 1 e 2, com o isolado Pb.UNIVAG, as cultivares BRS Sertaneja, AN Cambará e AN Ipê, Cirad 141, BRS Primavera, BRS Pepita e BRS Monarca, e o híbrido Ecco CL foram caracterizados como suscetíveis. A

Tabela 1 - Massa fresca das raízes (MFR), número de ovos (NO), nematoides por grama de raízes (Nem./g), fator de reprodução (FR) e reação (R) de dois isolados de *Pratylenchus brachyurus* em cultivares de arroz. Isolado de Lucas do Rio Verde (MT) (Pb.UNIVAG) e de Rio Verde (GO) (Pb.FESURV).

Tratamentos	Experimento 1 ¹ Pb.UNIVAG					Experimento 2 ² Pb.UNIVAG					Experimento 3 ² Pb.FESURV				
	MFR	NO	Nem./g	FR	R	MFR	NO	Nem./g	FR	R	MFR	NO	Nem./g	FR	R
Crotalária	5,76	7,8 a	36,4 a	0,07	R ³	17,89	72,0 a	4,0 a	0,15	R	12,89	2,0 a	0,9 a	0,02	R
Arroz 'Ecco'	4,81	126,2 a	169,9 a	0,36	R	4,35	68,0 a	59,4 a	0,54	R	3,95	20,0 a	16,9 a	0,13	R
Arroz 'Ecco CL'	4,65	1045,3 b	1046,8 c	2,54	S ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arroz 'BRS Sertaneja'	6,37	421,5 b	423,6 b	1,22	S	8,57	536,0 a	194,1 a	2,94	S	10,9	8,0 a	9,7 a	0,22	R
Arroz 'BRS Monarca'	7,05	570,4 b	559,4 c	1,87	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arroz 'BRSMG Curinga'	6,62	418,9 b	308,9 b	0,97	R	7,43	92,0 a	93,8 a	1,34	S	10,7	46,0 a	20,3 a	0,43	R
Arroz 'BRS Pepita'	4,46	562,6 b	745,1 c	1,52	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arroz 'BRS Primavera'	4,58	632,8 b	648,1 c	1,42	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arroz 'Cirad 141'	4,94	405,8 b	541,5 c	1,35	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arroz 'AN Ipê'	-	-	-	-	-	7,62	646,0 a	200,9 a	2,92	S	9,99	42,0 a	20,5 a	0,40	R
Arroz 'AN Cambará'	-	-	-	-	-	9,2	520,0 a	153,7 a	2,74	S	9,81	154,0 a	82,6 a	1,44	S
Quiabeiro	3,61	931,8 b	1293,2 c	2,19	S	7,79	2270,0 b	634,5 b	9,88	S	8,91	1074,0 b	408,9 a	6,89	S
CV (%)	-	53,1	38,0	-	-	-	51,6	39,6	-	-	-	51,6	39,6	-	-

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

¹Médias de seis repetições.

²Médias de cinco repetições.

³R= resistente; ⁴S= suscetível.

cultivar BRSMG Curinga e o híbrido Ecco foram resistentes ao isolado Pb.UNIVAG. Porém, as raízes do híbrido Ecco apresentaram escurecimento, possivelmente indicando intolerância ao nematoide. O híbrido Ecco tem baixa aceitação pelos rizicultores, apesar da alta produtividade, por não possui boa aceitação do mercado, devido a características como presença de muitos grãos gessados. Portanto, seu valor é o de fonte de resistência, em programas de melhoramento, visando à obtenção de cultivares ou híbridos de arroz resistentes a *P. brachyurus*.

A cultivar BRS Curinga apresentou resultados divergentes nos experimentos 1 e 2, possivelmente em função de diferenças ambientais.

As cultivares BRS Sertaneja, BRSMG Curinga e AN Ipê, e o híbrido Ecco foram resistentes ao isolado Pb.FESURV (experimento 3), e a cultivar AN Cambará foi suscetível. Nenhum dos genótipos de arroz apresentou escurecimento de raízes.

Portanto, o híbrido Ecco e a cultivar Curinga são alternativas para rotação em áreas infestadas com *P. brachyurus*.

O isolado Pb.UNIVAG mostrou maior agressividade que o isolado Pb.FESURV, com base nos valores de NO, Nem./g e FR (Tabela 2). Diferenças de agressividade entre os isolados da mesma espécie de nematoide devem ser levadas em consideração por programas de melhoramento genético, pois se uma cultivar for desafiada por um isolado de baixa agressividade, essa pode ser considerada resistente. Porém, se essa cultivar for semeada em áreas infestadas com isolados de elevada agressividade, o resultado provavelmente será desastroso. Anteriormente, Siqueira (2007) e Machado *et al.* (2006), em avaliações de cultivares de feijoeiro-caupi e algodoeiro, obtiveram resultados que indicaram a existência de isolados de *P. brachyurus* no Brasil com diferentes graus de agressividade.

A escolha do isolado do nematoide a ser utilizada

em avaliações da resistência de cultivares representa parte crucial nos programas de melhoramento. De acordo com Boerma e Hussey (1992), plantas com altos níveis de resistência ao nematoide podem ser identificadas ao se utilizar isolados agressivos. Por outro lado, é viável a seleção de plantas com resistência a vários isolados do nematoide com a utilização de mistura de populações do nematoide proveniente de diferentes regiões geográficas (Hussey & Boerma, 1981). Portanto, na avaliação da resistência de cultivares a nematoides, deve-se levar em consideração o local onde foi realizado o experimento. O ideal é o uso de uma mistura de isolados de diferentes regiões, resultando na seleção de cultivares com resistência a uma ampla gama de isolados do nematoide.

Agradecimentos

Os autores agradecem à RICAL (Rack Indústria e Comércio de Arroz Ltda) e à Ricetec, pela cessão de sementes de arroz.

Literatura Citada

BOERMA, H.R. & R.S. HUSSEY. 1992. Breeding plants for resistance to nematodes. *Journal of Nematology*, 24, 242-252.

COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A Method for the Quantitative Extration of Nematodes from Plant Tissue. *State Nematology and Entomology Research Station, Ghent - Belgium*, 77 p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. 2009. Informações Técnicas sobre o Arroz de Terras Altas: Estados de Mato Grosso e Rondônia – Safra 2010 / 2011. *Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás (GO)*, 94 p.

FERREIRA, D.F. 2000. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, São Carlos (SP). *Anais*, p. 225-258.

FERREIRA, C.M. & P.M. VILLAR. 2003. Cultivo de Arroz de Terras Altas: Importância Econômica. *Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás (GO)*. <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>

Tabela 2 - Comparação entre os isolados Pb.UNIVAG e Pb.FESURV, com base nas variáveis número de ovos (NO), nematoides por grama de raízes (Nem./g), população final (Pf) e fator de reprodução (FR).

Isolados	MFR (g)	NO	Nem./ g	Pf	FR
Pb.UNIVAG	9,571 a	601 b	192 b	1465 b	2,914
Pb.FESURV	9,000 a	192 a	80 a	4571 a	1,285
CV (%)	9,55	51,68	39,68	37,48	-

Médias de cinco repetições; médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

- FontesHTML/Arroz/ArrozTerrasAltas/importancia.htm> acesso 18 outubro 2010.
- GUIMARÃES, C. M. SANTOS, A.M. MAGALHÃES JÚNIOR, L.F. STONE. 2006. Sistemas de cultivo. In: SANTOS, A.B., L.F. STONE & N.R.A. VIEIRA (ed). A Cultura do Arroz no Brasil. 2 ed. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás (GO), p. 53-96.
- GOULART, A.M.C. 2008. Nematóides das Lesões Radiculares (Gênero *Pratylenchus*). Embrapa Cerrados, Planaltina (DF). <<http://www.agrosoft.org.br/agropag/103613.htm>> acesso 15 de novembro de 2010.
- HANDOO, Z.A. & M.A. GOLDEN. 1989. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev. Journal of Nematology, 21: 202-218.
- HUSSEY, R.S. & H.R.A. BOERMA. 1981. Greenhouse screening procedure for root-knot nematode resistance in soybeans. Crop Science, 21: 794-796.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2011. Censo Agropecuário. <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1819&id_pagina=1> acesso 30 novembro 2011.
- JENKINS W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, 48: 692 p.
- MACHADO, A.C.Z., D.B. BELUTI, R.A. SILVA, M.A.S. SERRANO & M.M. INOMOTO. 2006. Avaliação de danos causados por *Pratylenchus brachyurus* em algodoeiro. Fitopatologia Brasileira, Fortaleza (CE), 31 (1): 11-16.
- NASCIMENTO, V. 2008. Resposta a doses e época de aplicação do regulador de crescimento etil-trinexapax. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Ilha solteira (SP), 52 p.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Med. Landbouwhogeschool, Wageningen, 66: 3-46.
- PEROZZI, M. 2004. Estudo dinâmico de produção de arroz em MT. Arroz em foco. <<http://www.arroz.agr.br/site/arrozemfoco/040312.php>> acesso 8 dezembro 2009.
- RIBEIRO, N.R., W.P. DIAS & J.M. SANTOS. 2010. Distribuição de fitonematoides em regiões produtora de soja do Estado de Mato Grosso. In: HINOMOTO, D.M., J. CAJU & S.A. CAMACHO (ed). Boletim de Pesquisa de Soja 2010. Fundação MT, Rondonópolis (MT), p. 289-296.
- SILVA, R.A., M.A. SERRANO, A.C. GOMES, D.C. BORGES, G.L. ASMUS & M.M. INOMOTO. 2004. Ocorrência de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita* na cultura do algodoeiro no estado do Mato Grosso. Fitopatologia Brasileira, 29 (3): 337.
- SIQUEIRA, K.M.S. Importância de *Pratylenchus brachyurus* na cultura do caupi e estudos morfológicos e morfométricos sobre populações de *P. brachyurus* no Brasil. (Tese de Doutorado). ESALQ – Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba (SP), 2007.

Densidade Populacional e Distribuição Espacial de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* em Algodoeiro em Sistema de Plantio Adensado

Guilherme L. Asmus^{1*} & Rafael Galbieri²

¹Embrapa Agropecuária Oeste, C. Postal 449, 79804-970 Dourados (MS) Brasil.

²Instituto Mato-Grossense do Algodão, Av. Rubens de Mendonça, 157, Sala 100, 78008-000 Cuiabá (MT) Brasil.

*Autor para correspondência: guilherme.asmus@embrapa.br

Recebido para publicação em 17 / 06 / 2013. Aceito em 03 / 09 / 2013

Editado por Cláudia R. Dias-Arieira (crdiasarieira@hotmail.com)

Resumo - Asmus, G.L. & R. Galbieri. 2013. Densidade populacional e distribuição espacial de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* em algodoeiro em sistema de plantio adensado.

O cultivo de algodoeiro no sistema adensado, com menor espaçamento entre as linhas de plantio, é uma prática que está se consolidando no Cerrado brasileiro. Embora haja uma série de vantagens de tal sistema, ainda há necessidade de ajustes agrônômicos e de melhor entendimento sobre várias questões, dentre as quais o impacto sobre nematoides fitoparasitos. Assim, foram implantados três experimentos de campo, em áreas naturalmente infestadas por *Meloidogyne incognita* (em Campo Verde e Primavera do Leste, MT) ou *Rotylenchulus reniformis* (em Dourados, MS), visando conhecer o impacto da redução do espaçamento entre as linhas de plantio, sobre a densidade populacional e a distribuição horizontal desses nematoides. Nos três experimentos, foram comparados os espaçamentos de 0,90 m (convencional) e 0,45 m (adensado). Foram analisadas amostras de solo (0,20 m de profundidade) obtidas da linha de plantio, da entrelinha e entre as duas anteriores, e das raízes das plantas de algodoeiro. Ao final do ciclo, estimou-se a produtividade de algodão em caroço (nos experimentos de MT) e da matéria seca da parte aérea (no experimento de MS). A densidade populacional média de *M. incognita* e *R. reniformis* no solo não foi alterada pela redução do espaçamento entre as linhas de plantio. No entanto, houve concentração de *M. incognita* nas linhas de plantio, onde a densidade populacional foi significativamente superior àquelas da entrelinha e da posição intermediária. Não houve diferença significativa entre a distribuição horizontal de *R. reniformis*, independentemente do espaçamento entre as linhas de plantio. Com base nos resultados, conclui-se que o sistema de plantio de algodoeiro adensado não causa aumento da densidade populacional de *M. incognita* e *R. reniformis* e, tampouco, alterações no padrão de distribuição horizontal desses nematoides no solo.

Palavras-chaves: *Gossypium hirsutum*, nematoide das galhas, nematoide reniforme.

Summary - Asmus, G.L. & R. Galbieri. 2013. Population density and spatial distribution of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* in narrow row cotton.

Narrow row cotton is a practice that has been adopted by several farmers in the Brazilian "savanna". Although there are a number of advantages of using such a system, there is still need for technical adjustments and better understanding on several issues, among which the impact on plant-parasitic nematodes. Thus, three experiments were carried out in field areas naturally infested with *Meloidogyne incognita* (in Campo Verde and Primavera do Leste, Mato Grosso State, Brazil) and *Rotylenchulus reniformis* (in Dourados, Mato Grosso do Sul State, Brazil), to determine the impact of reducing the spacing between cotton planting rows on the population density and the horizontal distribution of these nematodes. In three experiments, the spacing of 0.90 m (conventional) and 0.45 m (narrow row) were compared. Soil samples (0.20 m deep) were taken at three lateral distances from the rows: on the planting rows, between planting rows, and in between the former two.

Roots of cotton plants were also sampled and nematode extracted and counted. Seed cotton yield and shoot dry matter were estimated at maturity. The average population densities of *M. incognita* and *R. reniformis* in the soil were not affected by reducing the spacing between rows. However, there was a concentration of *M. incognita* in the rows (rhizosphere) where the population density was significantly higher than that between the row and in the intermediate position. There was no significant difference between the horizontal distributions of *R. reniformis*, regardless of the spacing between the rows. Based on the results, it is concluded that the narrow row cotton causes no increase in the population densities of *M. incognita* and *R. reniformis* as well as no changes in the horizontal distribution patterns of these nematodes in the soil.

Key words: *Gossypium hirsutum*, root-knot nematode, reniform nematode.

Introdução

O nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) e o nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) constituem-se em importantes entraves para a produção de algodão (Starr, 1998; Silva *et al.*, 2003; Koenning *et al.*, 2004).

A distribuição de nematoides em solos agrícolas apresenta um padrão tipicamente em agregados (McSorley, 1998; Monfort *et al.*, 2008), em decorrência, entre outros motivos, de sua limitada capacidade de disseminação por movimentação própria. Assim, as densidades populacionais dos nematoides são maiores quanto mais próximos às plantas hospedeiras que lhes servem de alimento. Por conta disso, uma das estratégias possíveis utilizadas para o manejo do nematoide reniforme em algodoeiro tem sido a semeadura nas entrelinhas do cultivo anterior (Wright & Rich, 2002), onde a população é menor.

O cultivo de algodão em sistema de plantio adensado tem-se tornado uma prática comum no Brasil-Central (Yamaoka, 2010). Em 2013, em aproximadamente 10,5 % da área cultivada com algodoeiro em sucessão à soja (safrinha), foi utilizado o sistema de plantio adensado, com espaçamento entre linhas de plantio de 0,45 m (IMEA, 2013).

No plantio convencional, o espaçamento entre linhas é de 0,90 m. No plantio adensado, pela maior proximidade entre as plantas e, conseqüentemente das raízes, possivelmente há uma mudança no padrão de distribuição espacial dos nematoides, que passariam a ter distribuição mais generalizada na lavoura, dificultando o manejo “sítio-específico” e causando danos a um maior número de plantas na área.

Embora, sob o ponto de vista do efeito sobre

fitonematoides, a prática do cultivo adensado não tenha sido avaliada no país, alguns trabalhos realizados no estado da Flórida, nos EUA, com algodão super adensado (0,25m entre plantas), indicam haver aumento na produção de algodão em áreas infestadas pelo nematoide reniforme na ordem de 43 %, supostamente porque plantas menos ou não afetadas pelo nematoide compensariam com maior produção as perdas ocorrentes naquelas mais severamente afetadas (Wright *et al.*, 2008). Os mesmos trabalhos indicam a necessidade de uso de quantidades maiores (normalmente o dobro) de nematicidas, para que sejam obtidos os mesmos resultados de culturas não adensadas.

Objetivou-se com o presente trabalho conhecer os efeitos do plantio de algodoeiro com menor espaçamento entre linhas sobre a densidade populacional e a distribuição espacial de *M. incognita* e *R. reniformis* no solo.

Material e Métodos

Foram conduzidos três experimentos de campo, nos municípios de Campo Verde (15°27'33,1"S; 054°54'35,7"W) e Primavera do Leste (15°23'20,2"S; 054°18'18,2"W), em Mato Grosso, e Dourados (22°17'06,3"S; 054°48'17,6"W), em Mato Grosso do Sul, em áreas naturalmente infestadas por, respectivamente, *M. incognita* (270 e 105 nematoides / 200 cm³ de solo, respectivamente) e *R. reniformis* (1040 nematoides / 200 cm³ de solo).

Nos três experimentos, foram comparados os espaçamentos entre linhas de plantio de algodoeiro de 0,90 m e 0,45 m em delineamento de blocos ao acaso com dez (Campo Verde e Primavera do Leste) ou seis (Dourados) repetições. Padronizou-se a

semeadura para uma população final de dez plantas de algodoeiro por metro de plantio. A adubação e tratamentos culturais foram realizados de acordo com as recomendações técnicas para a cultura.

Em Campo Verde, o solo era constituído por 34,8 % de areia, 8,1 % de silte e 57,1 % de argila. Utilizou-se a cultivar BRS 269, semeada em 16 / 12 / 2009, em parcelas de quatro ou oito linhas de 10 m de comprimento, que constituíram a unidade experimental, com espaçamento de 0,90 m ou 0,45 m, respectivamente. A área útil das parcelas foi de 10,8m². Aos 70 e 110 dias após a semeadura, foram realizadas amostragens de solo e raízes de algodoeiro para a quantificação de *M. incognita*. As amostras de solo foram coletadas no perfil de 0,0 a 0,2 m, em três pontos equidistantes: na linha de plantio (rizosfera), na entrelinha de plantio e num ponto intermediário entre as duas anteriores, ou seja, a aproximadamente zero, 0,12 e 0,22 m (para o espaçamento de 0,45 m) e zero, 0,22 e 0,45 m (para o espaçamento de 0,90 m) de distância lateral da linha de plantio. Esse procedimento foi repetido três vezes de forma aleatória, de maneira a formar, para cada distância lateral à linha de plantio, amostras compostas de quatro subamostras. As raízes, em número de dez por parcela, foram coletadas com enxadão. Para a extração dos nematoides do solo foi utilizado o método de peneiramento seguido de flutuação em centrífuga (Jenkins, 1964). Para a extração dos nematoides das raízes, utilizou-se o método de Hussey & Barker modificado (Boneti & Ferraz, 1981) no caso de *M. incognita*, ou Coolen & D'Herde (1972), no caso de *R. reniformis*. Após a extração, os nematoides (ovos e juvenis) foram inativados em banho-maria (55 °C por 5 minutos) e conservados em formalina (2 %) até a realização das contagens em câmara de Peters, sob microscópio óptico binocular. Em 15 / 07 / 2010 foi realizada a colheita dos capulhos de 10,8 m² da área central das parcelas para a estimativa da produtividade de algodão em caroço.

Em Primavera do Leste, o solo era constituído de 59,1 % de areia, 3,1 % de silte e 37,2 % de argila. A cultivar utilizada foi a FM 993, semeada em 23 / 12 / 2009. As amostragens de solo e raízes foram realizadas aos 50 e 110 dias após a semeadura, e a colheita em 23 / 07 / 2010. Todos os demais procedimentos

experimentais foram similares aos realizados em Campo Verde.

Em Dourados, foi utilizada a cultivar BRS Cedro, semeada em 22 / 12 / 2009. O solo apresentava 6,3 % de areia, 21,2 % de silte e 72,6 % de argila. Diferentemente das demais localidades, o comprimento das parcelas foi de 5,0m. O número de sementes por metro linear foi mantido constante, de forma que o número de plantas por hectare correspondeu a 110 mil e 220 mil, respectivamente. Aos 114 dias após a semeadura foram realizadas as amostragens de solo e raízes para a estimativa da população do nematoide. Em função de ocorrência de estiagem, não foi realizada a colheita de capulhos e sim a determinação da matéria seca da parte aérea das plantas, em 10,8m² centrais das parcelas. Todos os demais procedimentos experimentais foram similares aos realizados nos demais experimentos.

Foram comparadas as densidades populacionais dos nematoides e suas distribuições horizontais no solo em função do espaçamento das entrelinhas de plantio. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste de F).

Resultados e Discussão

O número de espécimes de *M. incognita* no solo e nas raízes de algodoeiro foi estatisticamente semelhante nos espaçamentos entre as linhas de plantio de 0,45 m e 0,90 m, em ambas as amostragens, nos experimentos conduzidos em Campo Verde e Primavera do Leste (Tabelas 1 e 2). Não foram observadas interações significativas entre espaçamentos e épocas de amostragem. As produtividades de algodão em caroço foram significativamente superiores no espaçamento adensado (0,45 m entre linhas de plantio), tanto em Campo Verde quanto em Primavera do Leste.

No experimento em Dourados, o número de nematoides de *R. reniformis* no solo e nas raízes de algodoeiro foi semelhante em ambos espaçamentos entre linhas de plantio (Tabela 3). A produção de matéria seca da parte aérea do algodoeiro foi superior no tratamento com espaçamento convencional (0,90 m entre linhas de plantio).

A distribuição de *M. incognita* apresentou diferenças em função da distância lateral à linha de plantio (Tabela

Tabela 1 - Número de espécimes de *Meloidogyne incognita* e produção de algodão em função do espaçamento entre linhas de plantio em experimento conduzido em Campo Verde (MT). Agosto de 2013.

Espaçamento	1º. amostragem ¹		2º. amostragem ²		Produção ³ kg / ha
	Solo (200 cm ³)	Raiz (g)	Solo (200 cm ³)	Raiz (g)	
0,45 m (adensado)	755,5 a	357,6 a	2585,3 a	111,9 a	3100 a
0,90 m (convencional)	774,5 a	389,0 a	2185,3 a	138,1 a	2389 b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

¹70 dias após o plantio – DAP.

²110 DAP.

³Produção em caroço.

Tabela 2 - Número de espécimes de *Meloidogyne incognita* e produção de algodão em função do espaçamento entre linhas de plantio em experimento conduzido em Primavera do Leste (MT). Agosto de 2013.

Espaçamento	1º. amostragem ¹		2º. amostragem ²		Produção ³ kg / ha
	Solo (200 cm ³)	Raiz (g)	Solo (200 cm ³)	Raiz (g)	
0,45 m (adensado)	198,7 a	49,0 a	133,0 a	162,3 a	2595 a
0,90 m (convencional)	178,7 a	66,8 a	240,2 a	137,0 a	2024 b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

¹50 dias após o plantio – DAP.

²110 DAP.

³Produção em caroço.

Tabela 3 - Número de espécimes de *Rotylenchulus reniformis* e produção de matéria seca da parte aérea de algodoeiro em função do espaçamento entre linhas de plantio em experimento conduzido em Dourados, MS. Agosto de 2013.

Espaçamento	Solo (200 cm ³) ¹	Raiz (g) ¹	Matéria seca (g)
0,45 m (adensado)	899,4 a	33,4 a	975,2 a
0,90 m (convencional)	805,7 a	62,4 a	1.813,7 b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F a 5 % de significância.

¹114 dias após o plantio.

Tabela 4 - Densidade populacional de *Meloidogyne incognita* (Mi) e *Rotylenchulus reniformis* (Rr) no solo em função da distância lateral da linha de plantio de algodoeiro, em dois espaçamentos entre linhas, nos experimentos de Campo Verde, Primavera do Leste e Dourados. Agosto de 2013.

Espaçamento	Distância lateral (cm)	Campo Verde (Mi / 200 cm ³)	Primavera do Leste (Mi / 200 cm ³)	Dourados (Rr / 200 cm ³)
0,45m (adensado)	0	4032 a	272 a	1052 a
	12	1250 b	86 b	1168 a
	22	1635 b	40 b	1308 a
0,90 m (convencional)	0	4491 a	680 a	1100 a
	22	1105 b	221 b	873 a
	45	960 b	17 b	882 a

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas e em cada espaçamento, não diferem entre si pelo teste de Duncan (5%).

4) que, no entanto, não foi influenciada pelo espaçamento. A densidade populacional do nematoide foi maior na região do solo mais próxima às linhas de plantio, em ambos os experimentos. De forma contrária, a distribuição de *R. reniformis* foi uniforme, não havendo diferenças em função da distância da linha de semeadura, independente do espaçamento entre linhas (0,45 m ou 0,90 m). Neste caso, no entanto, observou-se tendência de aumento da densidade populacional nas entrelinhas de plantio de algodoeiro no espaçamento adensado (Tabela 4).

A concentração de *M. incognita* junto às linhas de plantio do algodoeiro, observada nos experimentos de Campo Verde e Primavera do Leste, conduz à hipótese de que menores espaçamentos entre as linhas de plantio ocasionariam distribuição mais uniforme do nematoide e, por maior disponibilidade de raízes mais próximas umas das outras, o aumento da densidade populacional no espaçamento reduzido, fato este não observado no presente trabalho. É possível que em adensamentos superiores, tal como o de 0,25 m entre linhas de plantio, ou ao longo do

tempo, tais efeitos sejam mais pronunciados. A distribuição mais uniforme de *R. reniformis* observada no experimento realizado em Dourados, confirma observações anteriores (Starr, 1998) de que esta espécie apresenta, em geral, distribuição mais regular em solos agrícolas. Mesmo assim, está em desacordo com Wright & Rich (2002), que evidenciaram a concentração de *R. reniformis* na linha de plantio e postularam a possibilidade do cultivo de algodoeiro nas entrelinhas do ano anterior, como forma de manejo desse nematoide em áreas infestadas. Segundo McSorley (1998), a estratificação da população ao longo das linhas de plantio exerce importante influência sobre a distribuição horizontal de nematoides fitoparasitos. É possível, no entanto, que a alta densidade populacional inicial de *R. reniformis* na área experimental, em Dourados, tenha limitado a expressão dessa tendência.

Raízes de algodoeiro podem apresentar crescimento lateral de até dois metros, condicionado a fatores físicos, químicos e biológicos. Este crescimento, normalmente, não ultrapassa um metro de profundidade (McMichael *et al.*, 2010). Considerando tais características, seria esperado que o adensamento entre as linhas de plantio do algodoeiro propiciasse a concentração de raízes laterais nas entrelinhas e, conseqüentemente, o aumento da densidade populacional de nematoides fitoparasitos. Em 20 campos de produção de algodão, nos EUA, por exemplo, 50 % do total das raízes encontravam-se na profundidade média de aproximadamente 0,24 m (intervalo de 0,11 a 0,49 m), coincidindo em boa parte com o perfil do solo em que ocorre maior concentração de *R. reniformis* (Robinson *et al.* 2005).

A maior produtividade de algodão em caroço, observada nas parcelas com plantio adensado em Campo Verde e Primavera do Leste, e a maior quantidade de matéria seca observada nas parcelas com plantio convencional em Dourados, seguiram o esperado e já consistentemente relatado na literatura (Wright *et al.*, 2008; Yamaoka & Belot, 2011).

Com base nos resultados, conclui-se que o sistema de plantio de algodoeiro adensado não causa aumento da densidade populacional de *M. incognita* e *R. reniformis* e tampouco alterações no padrão de distribuição horizontal desses nematoides no solo.

Literatura Citada

- BONETI, J.I.S. & S. FERRAZ. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para a extração de ovos de *Meloidogyne incognita* em raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, 6 (3): 553.
- COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue. State Nematology and Entomology Research Station, Ghent - Bélgica, 77 p.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, 48 (9): 692.
- IMEA. 2013. Análise de algodão. Boletim Semanal, (167): 1-2. <http://www.imea.com.br/upload/publicacoes/arquivos/R401_2013_01_25_BSAldogdao.pdf> acesso 27 maio 2013.
- KOENNING, S.R., T.L. KIRKPATRICK, J.L. STARR, J.A. WRATHER, N.R. WALKER & J.D. MUELLER. 2004. Plant-parasitic nematodes attacking cotton in the United States: old and emerging production challenges. Plant Disease, 88 (2): 100-113.
- McMICHAEL, B.L., D.M. OOSTERHUIS, J.C. ZAK & C.A. BEYROUTY. 2010. Growth and development of root systems. In: STEWART, J.M., D.M. OOSTERHUIS, J.J. HEITHOLT & J.R. MAUNEY (ed). Physiology of Cotton. Springer, New York - EUA, p. 57-71.
- McSORLEY, R. Population dynamics. 1998. In: BARKER, K.R., G.A. PEDERSON & G.L. WINDHAM (ed). Plant and Nematode Interactions. American Society of Agronomy, Madison - EUA, p. 109-133.
- MONFORT, W.S., T.L. KIRKPATRICK & A. MAUROMOUSTAKOS. 2008. Spread of *Rotylenchulus reniformis* in an Arkansas cotton field over a four-year period. Journal of Nematology, 40 (3): 161-166.
- ROBINSON, A.F., A. AKRIDGE, J.M. BRADFORD, C.G. COOK, W.S. GAZAWAY, T.L. KIRKPATRICK, G.W. LAWRENCE, G. LEE, E.C. MCGAWLEY, C. OVERSTREET, B. PADGETT, R. RODRÍGUEZ-KÁBANA, A. WESTPHAL & L.D. YOUNG. 2005. Vertical distribution of *Rotylenchulus reniformis* in cotton fields. Journal of Nematology, 35 (3): 265-271.
- SILVA, R.A., M.A.S. SERRANO, A.C. GOMES, D.C. BORGES, A.A. SOUZA, G.L. ASMUS & M.M. INOMOTO. 2003. Nematóides associados ao algodoeiro no Estado do Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXIV, Petrolina (PE). Anais, p. 150.
- STARR, J.L. 1998. Cotton. In: BARKER, K.R., G.A. PEDERSON & G.L. WINDHAM (ed). Plant and Nematode Interactions. American Society of Agronomy, Madison - EUA, p. 359-379.
- YAMAOKA, R.S. 2010. Estado da arte de algodão adensado na Argentina, Paraguai e Brasil. In: BELOT, J.L. & P.A. VILELA (ed). O Sistema de Cultivo do Algodoeiro Adensado em Mato Grosso. IMA-MT, Cuiabá (MT), p. 21-37.

- YAMAOKA, R.S. & J.L. BELOT. 2011. Sistema de produção do algodão adensado. In: FREIRE, E.C. (ed). Algodão no Cerrado do Brasil. 2. ed. ABRAPA, Brasília (DF), p. 827-873.
- WRIGHT, D.L. & J.R. RICH 2002. Alternating row patters in cotton to reduce damage from reniform nematodes. Florida Cooperative Extension Service, EDIS, Gainesville - EUA, 3 p.
- WRIGHT, D.L., J.J. MAROIS, P.J. WIATRAC, R.K. SPRENKEL, J.R. RICH, B. BRECKE, B. & T.W. KATSVAIROZ. 2008. Production of Ultra Narrow Row Cotton. Florida Cooperative Extension Service, EDIS, Gainesville - EUA, 7 p.

Efeito de Diferentes Densidades Populacionais Iniciais de *Pratylenchus brachyurus* no Desenvolvimento de Plantas de Lírio

Samara Azevedo Oliveira¹ & Claudio Marcelo G. Oliveira^{2*}

¹Faculdade de Ciências Biológicas, Pontifícia Universidade Católica, Campinas (SP) Brasil - Bolsista do PIBIC/IB/CNPq.

²Instituto Biológico, C. Postal 70, 13001-970 Campinas (SP) Brasil.

*Autor para correspondência: marcelo@biologico.sp.gov.br

Recebido para publicação em 03 / 01 / 2013. Aceito em 04 / 02 / 2013

Editado por Claudia R. Dias-Arieira (crdiasarieira@hotmail.com)

Resumo - Oliveira, S.A. & C.M.G. Oliveira. 2013. Efeito de diferentes densidades populacionais iniciais de *Pratylenchus brachyurus* no desenvolvimento de plantas de lírio.

O efeito de diferentes densidades populacionais iniciais (P_i) de *Pratylenchus brachyurus* no desenvolvimento de plantas de lírio 'Muscadet' foi estudado em condições de casa de vegetação comercial. As P_i foram de 0, 50, 100, 500, 1000, 5000 e 10000 nematoides por vaso. Cento e dois dias após a inoculação, determinaram-se a massa fresca do sistema radicular (MFSR) e o fator de reprodução (FR). Os valores de MFSR foram ajustados pelo modelo não linear de Seinhorst: $Y = m + (1-m) \cdot Z^{P_i-T}$. De acordo com os resultados da equação, o limite de tolerância (T) foi igual a 8500 nematoides, o que comprova que o lírio somente sofrerá danos a partir de altas densidades populacionais iniciais de *P. brachyurus*, com redução de 12,8% ($m = 0,876$) da MFSR das plantas. Porém, não houve multiplicação do nematoide ($FR < 1$) em lírio, indicando resistência a *P. brachyurus*.

Palavras-chaves: *Lillium* sp., Muscadet, modelo de Seinhorst, nematoide das lesões.

Summary - Oliveira, S.A. & C.M.G. Oliveira. 2013. Effect of initial population densities of *Pratylenchus brachyurus* on the growth of lily plants.

The effect of initial population densities (P_i) of *Pratylenchus brachyurus* on the growth of *Lillium* sp. 'Muscadet' was studied in a commercial greenhouse. The P_i of *P. brachyurus* consisted of 0, 50, 100, 500, 1000, 5000 and 10000 nematodes per pot. Fresh root weight (FRW) and reproduction factor (RF) were evaluated 102 days later. The data of FRW were fitted to the Seinhorst nonlinear model $Y = m + (1 - m) \cdot Z^{P_i-T}$. The tolerance limit (T) was 8500 nematodes, showing that lily only will be damaged under high initial population density of *P. brachyurus* infection and that FRW of lily plants was reduced up to 12.8% ($m = 0.876$). However, the reproductive rate was low ($RF < 1$), indicating that lily 'Muscadet' was resistant host for the nematode.

Key words: *Lillium* sp., Muscadet, root lesion nematodes, Seinhorst model.

Conteúdo

No Brasil, mais de 20 gêneros de fitonematoides foram detectados em associação a plantas ornamentais (Oliveira, 2006; Oliveira *et al.*, 2007). De forma geral, as espécies pertencentes aos gêneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Radopholus* e *Aphelenchoides* são consideradas as principais, devido à frequência com que ocorrem e à intensidade das perdas causadas (Oliveira *et al.*, 2007). Porém, o conhecimento disponível na literatura a

respeito da ocorrência, danos causados e medidas de controle de nematoides em plantas ornamentais bulbosas é ainda limitado.

Com relação ao lírio, importante cultura ornamental, tanto como flor de corte quanto de vaso, Adekunle *et al.* (2006) relataram os seguintes nematoides fitoparasitas e vetores de viroses, associados aos híbridos asiáticos e orientais na Índia: *Aphelenchoides avenae*, *Criconeimoides* spp., *Hoplolaimus* spp.,

Longidorus spp., *Paratylenchus* spp., *Pratylenchus* spp., *Trichodorus* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Tylenchulus* spp. e *Xiphinema diversicaudatum*. Por outro lado, as perdas causadas por nematoides de parte aérea (*A. fragariae*) e das lesões radiculares (*Pratylenchus penetrans*) em lírio são conhecidas (Siddiqi, 1975; Westerdahl *et al.*, 1993; 1998). Ademais, cabe ressaltar que bulbos de lírios podem disseminar nematoides, constituindo em fator limitante para sua comercialização devido às restrições nas legislações fitossanitárias.

Recentemente, Oliveira *et al.* (2007), durante levantamento de nematoides em plantas ornamentais cultivadas nos estados de São Paulo e Minas Gerais, reportaram a ocorrência de *P. brachyurus* em diversos cultivares de lírios, mas, segundo os autores, futuros experimentos deveriam ser realizados para comprovar a patogenicidade e os danos causados por essa espécie de nematoides das lesões.

Assim o presente estudo foi elaborado com o objetivo de avaliar, em casa de vegetação, o efeito de diferentes densidades populacionais iniciais de *P. brachyurus* no desenvolvimento de plantas de lírio.

Os bulbos de lírio (*Lillium* sp. 'Muscadet'), isentos de nematoides e outros patógenos, foram importados da Holanda, sendo que o experimento foi conduzido em casa de vegetação de produção comercial localizada no município de Holambra (SP). Os bulbos (três bulbos por vaso) foram cultivados seguindo os padrões agrônômicos adotados pelo produtor, em vasos de 1 litro com substrato (85% de acícula de pínus + 15% turfa, pH 6,2) esterilizado com calor úmido.

A população de *P. brachyurus*, utilizada como fonte de inóculo, foi isolada a partir de raízes de café, provenientes de Dracena (SP) e multiplicadas em plantas de milho, mantidas em casa de vegetação. A extração dos nematoides foi feita pelo método de Coolen & D'Herde (1972).

A inoculação foi realizada imediatamente após o plantio dos bulbos, depositando-se a suspensão de nematoides (juvenis e adultos) em orifícios no substrato, ao redor dos bulbos. A concentração do inóculo foi variável, de modo a se obter os níveis de população iniciais (P_i), segundo os tratamentos pré estabelecidos. Para verificação da viabilidade do inóculo, plântulas de

milho híbrido Dow 2B710, obtidas previamente por semeadura direta em vasos de 1 litro, foram inoculadas com 1000 nematoides por recipiente.

O experimento foi realizado seguindo-se o delineamento inteiramente ao acaso, com sete tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram sete níveis de P_i : 0, 50, 100, 500, 1000, 5000 e 10000 nematoides por vaso.

Seguindo as técnicas de cultivo do lírio, após a inoculação, as parcelas foram mantidas em uma câmara fria (cerca de 12 °C), onde permaneceram pelo período de uma semana. Após esse período, foram realocadas para casa de vegetação (temperatura ambiente), onde permaneceram por 102 dias. Esse é o procedimento padrão realizado para toda a produção, sendo que as parcelas experimentais permaneceram nas mesmas condições das plantas destinadas à comercialização. Cabe ressaltar que as plantas de milho não passaram por esse processo de resfriamento a 12 °C, sendo mantidas em temperatura ambiente desde a inoculação.

Passado esse período, as amostras foram levadas para o Laboratório de Nematologia do Instituto Biológico (IB), em Campinas (SP), onde foram realizadas as análises das plantas. Dessa forma, os nematoides presentes nas raízes (10 g) foram extraídos pelo método Coolen & D'Herde (1972), sendo os espécimes obtidos mortos pelo calor, fixados e conservados em formalina 2 %. A estimativa populacional foi obtida por meio de contagem em lâminas de Peters, utilizando-se microscópio de luz, quantificando-se os ovos, juvenis e fêmeas de *P. brachyurus*. A população final (P_f) correspondeu ao número de nematoides extraídos do total de raízes de cada planta, em cada repetição. A seguir, determinou-se o fator de reprodução ($FR = P_f / P_i$), segundo o critério de Oostenbrink (1966).

Os dados de massa fresca do sistema radicular (MFSR) foram analisados de acordo com o modelo não linear proposto por Seinhorst que, segundo Oliveira *et al.* (1999), fundamenta-se na seguinte equação: $Y = m + (1-m) \cdot Z^{P_i \cdot T}$; em que Y é a razão entre a variável estimada para crescimento da planta numa densidade populacional inicial do nematoide (P_i) dividida pelo valor obtido na testemunha; m é o

rendimento mínimo da planta obtido sob altas densidades populacionais do nematoide; Z é uma constante menor que 1 ($Z < 1$); P_i é densidade populacional inicial do nematoide; e T é o limite de tolerância, ou seja, a densidade populacional mínima de nematoides capaz de influenciar o crescimento da planta. Assim, abaixo desse nível, o nematoide não causa danos na planta. Para execução das análises foi utilizado o programa SeinFit, versão DOS, desenvolvido por Viaene *et al.* (1997).

A partir da análise dos dados obtidos no presente experimento, verificou-se que os nematoides não se estabeleceram nas plantas de lírio ‘Muscadet’, o que mostra que o lírio não é uma boa hospedeira a *P.*

brachyurus. A população final em todos os tratamentos foi bastante reduzida, havendo um único caso no qual o FR foi maior que 1, o que ocorreu justamente no tratamento onde foi inoculado o menor número de nematoides (Tabela 1). No milho híbrido Dow 2B710 obteve-se $FR = 4,8$, comprovando a viabilidade do inóculo.

As médias de MFSR de lírio ‘Muscadet’, 102 dias após a inoculação, para a testemunha e nas densidades populacionais de 50, 100, 500, 1000, 5000 e 10000 nematoides foram, respectivamente, 60,2; 58,7; 56,6; 56,6; 54,6; 57,0; 50,2 g. A equação $Y = 0,876 + (0,124) \cdot 0,991^{P_i - 8500}$ (Figura 1) foi a que melhor ajustou a relação entre MFSR e a densidade populacional de

Tabela 1 - Número de *Pratylenchus brachyurus* extraídos das raízes de lírio ‘Muscadet’ e do milho híbrido Dow 2B710, aos 102 dias após a inoculação (população final, Pf), de acordo com o nível de população inicial testado (população inicial, Pi), e fator de reprodução (FR). Valores médios de cinco repetições.

Tratamentos (Pi)	Ovos	Juvenis e fêmeas	Total (Pf)	FR ¹
Controle (0)	0,0	0,0	0,0	-
Nível 1 (50)	0,0	71,5	71,5	1,4
Nível 2 (100)	40,1	9,3	49,4	0,5
Nível 3 (500)	27,4	44,6	72,0	0,1
Nível 4 (1000)	67,2	145,1	212,3	0,2
Nível 5 (5000)	238,3	659,5	897,8	0,2
Nível 6 (10000)	791,9	791,9	2680,0	0,3
Milho (1000)	504,8	4356,2	4861,0	4,8

¹FR = Pf / Pi.

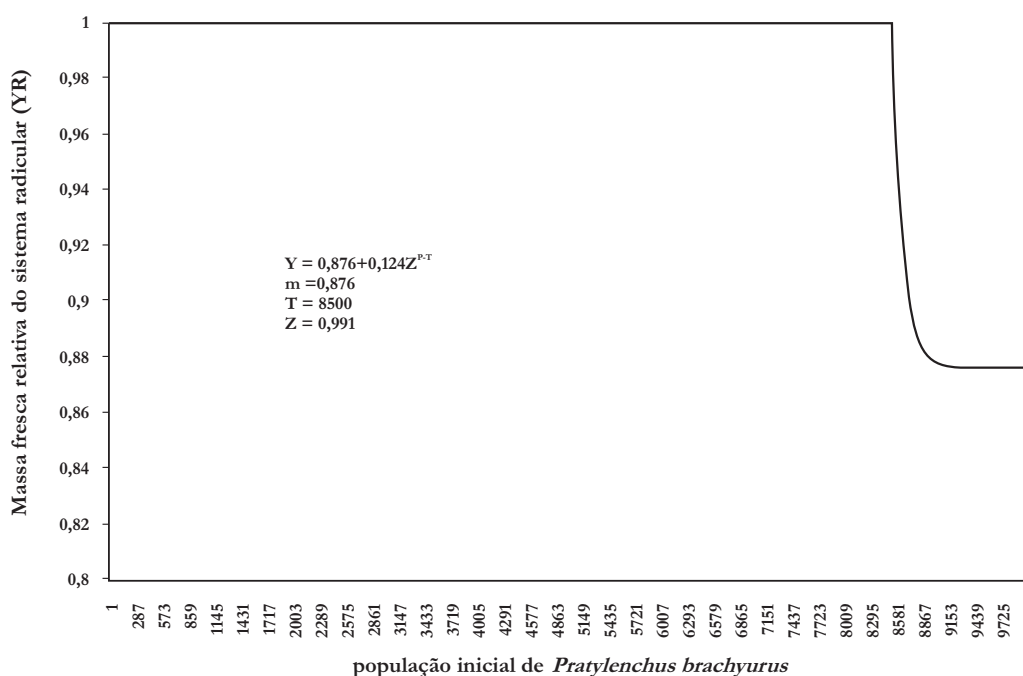


Figura 1 - Relação entre a população inicial de *Pratylenchus brachyurus* e a massa fresca relativa (YR) do sistema de raízes de lírio ‘Muscadet’, 102 dias após a inoculação.

P. brachyurus. Interpretando a equação obtida, o valor $T = 8500$ indica que a ‘Muscadet’ apresentou grande tolerância ao ataque do nematoide, sendo que a MFSR foi influenciada negativamente somente a partir de P_i maior que 8500. Ainda, de acordo com a mesma equação, o valor da massa fresca relativa mínima (m) foi igual a 0,876, indicando, numa escala percentual, que 87,6 % da MFSR das plantas dessa cultivar não foi afetada pelo nematoide, ou então, de maneira inversa, o nematoide das lesões radiculares promoveu reduções médias de 12,4 % somente a partir de altas densidades populacionais iniciais. Dessa forma, para que *P. brachyurus* possa promover algum dano no lírio ‘Muscadet’, os bulbos devem ser cultivados em solo ou substrato contendo alta população do nematoide e que, mesmo assim, os prejuízos esperados são pequenos, de 12,4 % na redução do desenvolvimento do sistema radicular. Cabe ressaltar que não foram observadas lesões radiculares ou sintomas de desenvolvimento insatisfatório na parte aérea.

Os nematoides do gênero *Pratylenchus* são considerados fitoparasitos de elevada relevância em ornamentais bulbosas, graças à sua frequência e aos danos causados às plantas, o que resulta na redução da produção e desvalorização do produto devido sua baixa qualidade (Oliveira *et al.*, 2007). Por exemplo, *P. penetrans* é bastante conhecido pelos danos causados em lírios e em diversos outros tipos de plantas. Os principais sintomas são: baixo desenvolvimento da parte aérea da planta e crescimento limitado das raízes, muitas vezes com presença de lesões (Westerdahl *et al.*, 1998). Já *P. brachyurus*, espécie amplamente disseminada no Brasil e responsável por perdas em diversas plantas cultivadas (Castillo & Vovlas, 2007), apresentou baixo potencial de dano à cultura do lírio, pois se reproduziu pouco e aparentemente causou danos apenas sob elevadas densidades populacionais, não sendo, portanto, problema à cultivar estudada. Além disso, o cultivo de lírio é de ciclo curto, de no máximo três meses, mantidos em vasos, em casa de vegetação, onde dificilmente tais densidades populacionais (por exemplo, a partir de 8500 nematoides por planta) podem ser atingidas.

Por outro lado, o resfriamento à temperatura de 12 °C por uma semana, técnica essencial para o

desenvolvimento inicial das raízes de lírio, a qual os nematoides foram expostos logo após a inoculação, pode ter comprometido a sobrevivência e a penetração de *P. brachyurus*. Nesse caso, são necessários novos estudos visando esclarecer se a condição de baixa temperatura exerce influência na hospedabilidade e patogenicidade de *P. brachyurus* na cultura do lírio.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de iniciação científica à primeira autora, e Jan de Wit Lírios, pelo apoio na condução do experimento.

Literatura Citada

- ADEKUNLE, O.K., S. KULSHRESTHA, R. PRASAD, V. HALLAN, G. RAIKHY, N. VERMA, R. RAM, J. KUMAR & A.A. ZAIDI. 2006. Plant parasitic and vector nematodes associated with Asiatic and Oriental hybrid lilies. *Bioresource Technology*, 97: 364-371.
- CASTILLO, P. & N. VOVLAS. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. *Nematology Monographs and Perspectives*, vol. 6, Brill, Leiden – Países Baixos, 529 p.
- COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue. *State Nematology and Entomology Research Station, Ghent - Bélgica*, 77 p.
- OLIVEIRA, C. M. G. 2006. Nematoides parasitos de plantas ornamentais no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 31 (S): 117-S118.
- OLIVEIRA, C.M.G., M.M. INOMOTO, A.M.C. VIEIRA & A.R. MONTEIRO. 1999. Efeito de densidades populacionais de *Pratylenchus brachyurus* no crescimento de plântulas de *Coffea arabica* cv. Mundo Novo e *C. canephora* cv. Apoatã. *Nematropica*, 29: 215-221.
- OLIVEIRA, C.M.G., R.K. KUBO, S.R. ANTEDOMENICO, A.R. MONTEIRO & M.M. INOMOTO. 2007. Ocorrência de nematoides fitoparasitos em plantas ornamentais nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, 13: 135-141.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematode and plants. *Mededelingen voor Landb Hoogeschool*, 66: 3-46.
- SIDDIQI, M.R. 1975. *Aphelenchoides fragariae*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 5, n°. 74. Commonwealth Institute of Parasitology. C.A.B. International.
- VIAENE, N.M., P. SIMOENS & G.S. ABAWI. 1997. SeinFit, a computer program for the estimation of the Seinhorst equation. *Journal of Nematology*, 29: 474-477.

WESTERDAHL, B.B., D. GIRAUD, S. ETTER, L.J. RIDDLE & C.A. ANDERSON. 1998. Problems associated with crop rotation for management of *Pratylenchus penetrans* on easter lily. *Journal of Nematology*, 30 (4S): 581-589.

WESTERDAHL, B.B., D. GIRAUD, J.D. RADEWALD, C.A. ANDERSON & J. DARSO. 1993. Management of *Pratylenchus penetrans* on oriental lilies with drip and foliar nematicides. *Journal of Nematology*, 25 (4S): 758-767.

Tratamento de Sementes de Feijoeiro no Controle de *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*

Daniel B. Gonçalves Júnior¹, Miria Roldi², Francielly M. Namur¹ & Andressa C.Z. Machado^{1*}

¹Laboratório de Nematologia, IAPAR, Instituto Agronômico do Paraná, 86047-902 Londrina (PR) Brasil.

²Universidade Estadual de Maringá, 87507-190 Umuarama (PR) Brasil.

*Autora para correspondência: andressa_machado@iapar.br

Recebido para publicação em 20 / 03 / 2013. Aceito em 16 / 04 / 2013

Editado por Cláudia R. Dias-Arieira (crdiasarieira@hotmail.com)

Resumo - Gonçalves Júnior, D.B., M. Roldi, F.M. Namur & A.C.Z. Machado. 2013. Tratamento de sementes de feijoeiro no controle de *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*.

O feijão é umas das culturas agrícolas de importância econômica no Paraná. Entretanto, o manejo de nematoides na cultura é atualmente um grande desafio. Objetivou-se avaliar a eficiência da abamectina, tiametoxam, difenoconazole e *Trichoderma harzianum*, utilizados via tratamento de sementes, no controle de *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* raça 3 e *M. javanica* na cultura do feijão. Sementes de feijão foram tratadas com a dosagem recomendada pelos fabricantes e semeadas em vasos contendo solo estéril. No momento da semeadura, fez-se um orifício, onde foi depositada a semente e o inóculo, sendo a densidade populacional utilizada de 1.000 espécimes dos respectivos nematoides. As avaliações foram realizadas aos 3, 9, 15 e 60 dias após a germinação das sementes de feijão. Nas três primeiras datas quantificou-se o número de nematoides penetrados nas raízes das plantas. Aos 60 dias, os nematoides foram extraídos das raízes e, a partir de sua quantificação, foram calculados o fator de reprodução (FR) e o número de nematoides/g de raiz (nema/g). A abamectina foi o tratamento que mais reduziu a penetração dos três nematoides avaliados, o FR e nema/g, em relação ao controle. Em geral, o tratamento de sementes pode ser considerado uma importante ferramenta no manejo de *P. brachyurus*, *M. incognita* e *M. javanica* na cultura do feijoeiro. Entretanto, serão necessários testes em campo para confirmação da efetividade do tratamento de sementes na cultura do feijão.

Palavras-chaves: manejo, nematoide das lesões radiculares, nematoides das galhas, *Phaseolus vulgaris*.

Summary - Gonçalves Júnior, D.B., M. Roldi, F.M. Namur & A.C.Z. Machado. 2013. Seed treatment of common bean on the control of *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*.

Common bean is one of the most important economic crops in Paraná State. However, nematode management in this culture crop is challenging. The objective of the present work was evaluate the efficacy of abamectin, tiametoxan, difenoconazol, and *Trichoderma harzianum*, as seed treatment, in the control of *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* race 3, and *M. javanica* in common bean. For this, seeds were treated with the recommended dosage and sowed in plastic pots containing sterilized soil. In the sowing, a hole was made where seed and inocula were deposited, in which 1,000 specimens from each nematode were inoculated. Evaluations were done at 3, 9, 15, and 60 days after germination; at 3, 9, and 15 days, number of nematodes that penetrated roots were observed. At 60 days, nematodes were extracted from roots and reproduction factor (RF) and number of nematodes per gram of roots (nema/g) were calculated. Abamectin was the treatment more efficient in the reduction of nematode penetration, RF, and nema/g for the three species, in relation to the control. Therefore, seed treatment should be considered an important tool for the management of *P. brachyurus*, *M. incognita*, and *M. javanica* in common bean. However, field tests are necessary in order to confirm the effectiveness of seed treatment.

Key words: management, root lesion nematode, root knot nematode, *Phaseolus vulgaris*

Conteúdo

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é, atualmente, uma das culturas agrícolas de grande importância econômica no cenário paranaense. Não obstante, o modelo de exploração agrícola vigente, baseado no monocultivo sucessivo de culturas suscetíveis, tem acarretado o aparecimento e/ou intensificação dos mais diversos problemas fitossanitários. Entre estes, destacam-se as doenças causadas por nematoides, sobretudo os nematoides das galhas radiculares (*Meloidogyne* spp.) e o nematoide das lesões (*Pratylenchus* spp.). Na cultura do feijoeiro, as perdas de produtividade causadas por nematoides têm sido frequentemente relatadas por produtores e pesquisadores (Inomoto, 2011). Dentre as principais práticas para o controle de nematoides estão o controle químico, o uso de cultivares resistentes, a rotação de culturas, o tratamento de sementes com produtos nematicidas, a adição de matéria orgânica ao solo e o controle biológico (Machado, 2012).

O tratamento de sementes, por ser eficiente, menos danoso ao ambiente e fácil de ser aplicado, surge como opção de manejo dos fitonematoides em culturas como soja e algodoeiro. Nesse sentido, Bessi *et al.* (2010) e Lovato *et al.* (2007a) verificaram que o tratamento de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) com abamectina foi eficiente para o controle de *Meloidogyne incognita*, não sendo observada fitotoxidez do produto à cultura. Faske & Starr (2007) verificaram, em teste *in vitro*, que a maior mortalidade de juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. incognita* e *Rotylenchulus reniformis* na cultura do algodoeiro estava associada à maior concentração de abamectina na casca da semente em relação às radículas. Para *R. reniformis*, o efeito da abamectina também já foi verificado no tratamento de sementes de algodão, sob condições de casa de vegetação, por Lovato *et al.* (2007b) e Kubo *et al.* (2012).

O tratamento de sementes também tem sido utilizado para o controle de nematoides na cultura da soja. De acordo com a Embrapa Soja, o tratamento de sementes representa apenas 0,6% do investimento na produção da cultura. Resultados de pesquisa e trabalhos em andamento têm demonstrado que o uso em tratamento de sementes de produtos dos grupos químicos abamectina, neonicotinoides e carbamatos

oferece proteção contra nematoides (Cassetari Neto *et al.*, 2011).

Entretanto, a eficiência de produtos com ação nematicida ainda não foi estudada no tratamento de sementes de feijoeiro para o controle de nematoides. Portanto, no presente trabalho objetivou-se avaliar a eficiência do nematicida abamectina (Avicta[®]), do inseticida tiametoxam (Cruiser[®]), além do fungicida difenoconazole (Spectro[®]) e do fungicida biológico Trichodermil[®], à base do fungo *Trichoderma harzianum*, utilizados via tratamento de sementes, no controle de *M. incognita* raça 3, *M. javanica* e *P. brachyurus* em feijoeiro, em condições de casa de vegetação.

Para tal, sementes de feijoeiro 'IAPAR 81', suscetível aos nematoides, foram tratadas com abamectina (Avicta[®] 500 FS, 500 g / l), tiametoxam (Cruiser[®] 350 FS, 350 g / l), difenoconazole (Spectro[®], 150 g / l) e *T. harzianum* (Trichodermil[®] SC 1306, 2 x10⁹ conídios viáveis / ml), nas doses de 125, 200, 33,4 e 500 ml/dos produtos comerciais / 100 kg de sementes, respectivamente, segundo recomendações dos fabricantes, e semeadas em copos de plástico (uma por copo) de 500 cm³ de capacidade, contendo 400 cm³ de uma mistura de solo e areia (3:1, v:v), previamente autoclavada por 2 horas a 120 °C. A inoculação foi realizada concomitantemente com a semeadura, pela pipetagem de suspensão aquosa contendo 1.000 espécimes de *M. incognita* (origem: Londrina, PR), *M. javanica* (origem: Londrina, PR) ou *P. brachyurus* (origem: São Luis, MA), no orifício de semeadura. Plantas oriundas de sementes não tratadas foram também inoculadas com os nematoides e consideradas como testemunhas.

As avaliações foram realizadas aos 3, 9, 15 e 60 dias após a emergência das plântulas de feijoeiro. Em cada data experimental, seis plântulas de cada tratamento foram retiradas dos copos e o solo eliminado por meio de água, em balde de 4 litros. Nas três primeiras datas de avaliação aos 3, 9 e 15 dias após a germinação (dag), procedeu-se à contagem dos indivíduos dentro das raízes das plantas de feijoeiro, previamente coloridas pelo método de hipoclorito-fucsina ácida (Byrd *et al.*, 1983), que consiste na descoloração das raízes com hipoclorito de sódio e posterior coloração dos nematoides em seu interior, sob fervura, com fucsina ácida 1%. Aos

60 dias, os nematoides foram extraídos das raízes (Boneti & Ferraz, 1981; Coolen & D'Herde, 1972) e contados sob microscópio óptico no aumento de 100 x, em lâmina de contagem de Peters. Tal quantificação foi utilizada para o cálculo do fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (nema/g).

O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com seis repetições por tratamento / data de avaliação. Os valores de número de nematoides, FR e nema/g obtidos nas avaliações foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa SAS. Após análise, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de LSD, a 5 % de significância.

Todos os produtos utilizados foram eficientes no controle de *M. incognita* e *M. javanica*, aos 3, 9 e 15 dag (Tabelas 2 e 3). Porém, somente abamectina (3, 9 e 15 dag) e tiametoxam (3 e 15 dag) foram eficientes na redução da penetração de *P. brachyurus* nas raízes de feijoeiro.

Na avaliação final (60 dag), todos os tratamentos foram eficientes na redução do FR e do nema/g no experimento com *P. brachyurus*, com destaque para abamectina, que se diferenciou dos demais (Tabela 1). Todos os tratamentos reduziram o FR de *M. incognita* e *M. javanica*, com maior eficiência da abamectina. Porém, somente abamectina e tiametoxam reduziram o nema/g (Tabelas 2 e 3).

Em geral, abamectina foi o produto mais eficiente

Tabela 1 - Número de nematoides no interior de raízes de feijoeiro aos 3, 9 e 15 dias após a inoculação, fator de reprodução (FR) e *Pratylenchus brachyurus* e número de nematoides por grama de raízes (nema/g), aos 60 dias após a inoculação.

Tratamento	Dias após inoculação			FR	nema/g
	3	9	15		
Controle	53 a	34 a	52 a	4,55 a	1.649 a
Abamectina	2 c	7 b	3 c	0,55 d	158 c
Tiametoxam	14 bc	15 ab	12 bc	1,70 c	336 b
Difenoconazole	20 ab	17 ab	18 ab	2,35 bc	425 b
<i>Trichoderma barzianum</i>	21 ab	19 a	17 ab	2,85 b	378 b
CV %	27,51	23,81	22,65	19,41	10,23

Valores correspondem à média de 6 repetições. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de LSD a 5 % de probabilidade.

Tabela 2 - Número de nematoides no interior de raízes de feijoeiro aos 3, 9 e 15 dias após a inoculação, fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita* e número de nematoides por grama de raízes (nema/g), aos 60 dias após a inoculação.

Tratamento	Dias após inoculação			FR	nema/g
	3	9	15		
Controle	36 a	79 a	197 a	76,5 a	10.818 a
Abamectina	2 c	5 d	94 d	21,0 c	2.889 c
Tiametoxam	10 b	38 c	146 c	53,3 b	7.377 b
Difenoconazole	12 b	42 bc	170 b	58,5 b	11.567 a
<i>Trichoderma barzianum</i>	16 b	49 b	154 c	57,7 b	8.551 ab
CV %	19,54	15,45	15,23	14,97	8,53

Valores correspondem à média de 6 repetições. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de LSD a 5 % de probabilidade.

Tabela 3 - Número de nematoides no interior de raízes de feijoeiro aos 3, 9 e 15 dias após a inoculação, fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* e número de nematoides por grama de raízes (nema/g), aos 60 dias após a inoculação.

Tratamento	Dias após inoculação			FR	nema/g
	3	9	15		
Controle	47 a	76 a	206 a	77,60 a	10.684 a
Abamectina	2 d	11 d	101 d	20,1 c	2.706 d
Tiametoxam	8 cd	41 c	151 c	52,3 b	5.968 c
Difenoconazole	14 bc	52 bc	177 bc	58,8 b	8.388 b
<i>Trichoderma barzianum</i>	17 b	65 ab	159 b	58,2 b	8.825 ab
CV %	26,51	22,78	21,31	18,10	8,94

Valores correspondem à média de 6 repetições. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de LSD a 5 % de probabilidade.

para o controle de nematoides por tratamento de sementes, conferindo reduções no FR de 88 % para *P. brachyurus*, 72,5 % para *M. incognita* e 74 % para *M. javanica*, com valores proporcionais para nema/g (90,4 %, 73,3 % e 74,68 %, respectivamente). Apesar disso, os FR de *M. incognita* e *M. javanica* nas raízes dos feijoeiros do tratamento abamectina foram elevados (21,0 e 20,1, respectivamente), evidenciando que o efeito do tratamento de sementes é mais acentuado na fase inicial da cultura, fato comprovado pela menor incidência de nematoides no interior das raízes dos feijoeiros aos 3, 9 e 15 dias da germinação, em todos os tratamentos utilizados.

O controle da população de nematoides na fase inicial da cultura é fundamental para que a produtividade possa atingir elevados patamares. Entretanto, essa tática de manejo de nematoides não deve ser utilizada como uma medida isolada, pois, passado o período residual dos produtos, a população do nematoide cresce acentuadamente, como visto no presente trabalho, com a produção de grandes quantidades de inóculo para a próxima safra. A adoção de medidas complementares, como a rotação de culturas ou as cultivares resistentes, deve ser incentivada para garantir o adequado manejo dos fitonematoides.

Conclui-se que o tratamento de sementes de feijão com abamectina e tiametoxam é eficiente no controle de *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*.

Literatura Citada

- BESSI R., F.R. SUJIMOTO & M.M. INOMOTO. 2010. Seed treatment affects *Meloidogyne incognita* penetration, colonization and reproduction on cotton. *Ciência Rural*, 40: 1428-1430.
- BONETTI, J.I. & S. FERRAZ. 1981. Modificações no método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6: 533 (Resumo).
- BYRD JUNIOR, D.W., J. KIRKPATRICK & K.R. BARKER. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology*, 15: 142-143.
- CASSETARI NETO, D., A.Q. MACHADO, R.A. SILVA, E.R. BERNARDO & C. PAULUS. 2011. Tempo de Tratar. Caderno Técnico Revista Cultivar – Grandes Culturas. 5 p.
- COOLEN, W.A. & C.J. D'HERDE. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Nematology and Entomology Research Station, Ghent – Bélgica, 77 p.
- FASKE, T.R. & J.L. STARR. 2007. Cotton root protection from plant-parasitic nematodes by abamectin-treated seeds. *Journal of Nematology*, 39: 27-30.
- INOMOTO, M.M. 2011. Nematoides do gênero *Pratylenchus* em algodoeiro e feijoeiro no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXIX, Brasília. Resumos, p.147-149.
- KUBO, R.K., A.C.Z. MACHADO & C.M.G. OLIVEIRA. 2012. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em dois cultivares de algodão. *Arquivos do Instituto Biológico*, 79: 239-245.
- LOVATO, B.V., A.C. NASCIMENTO JUNIOR, N.F. BUZZERIO & L. MARTINHO. 2007a. Avaliação da eficiência do nematicida Avicta 500 FS para o controle de *Meloidogyne incognita* em diferentes cultivares de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) através do tratamento de sementes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, VI, Uberlândia. CD-ROM.
- LOVATO, B.V., A.C. NASCIMENTO JUNIOR, N.F. BUZZERIO & L. MARTINHO. 2007b. Eficiência do nematicida abamectina (Avicta 500 FS) para o controle de *Rotylenchulus reniformis* em algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) através do tratamento de sementes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, VI, Uberlândia. CD-ROM.
- MACHADO, A.C.Z. 2012. Medidas eficientes podem afastar nematoides. *Revista Campo & Negócios*, p. 46-49.
- MONFORT, W.S., T.L. KIRKPATRICK, D.L. LONG & S. RIDEOUT. 2006. Efficacy of a novel nematicidal seed treatment against *Meloidogyne incognita* on cotton. *Journal of Nematology*, 38: 245-249.

Reação de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*

Samara L.S. Silva^{1*}, Tânia F.S. Santos¹, Neucimara R. Ribeiro², Alexsandro T. Silvério³ & Thays S. Morais⁴

¹Associação dos Produtores de Semente do Mato Grosso (APROSMAT), Rua dos Andradas, 688, 78745-420 Rondonópolis (MT) Brasil.

²Don Mario Sementes, Av. Ayrton Senna, 550 - 13º. andar, 86050-460 Londrina (PR) Brasil.

³Instituto Federal do Mato Grosso (IFMT), Rodovia BR 364 km 329, 78106-970 São Vicente (MT).

⁴Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Rodovia MT 270 km 6 - saída para Guiratinga, 78735-901 Rondonópolis (MT) Brasil.

*Autora para correspondência: samara.loraine@hotmail.com

Recebido para publicação em 10 / 01 / 2013. Aceito em 16 / 07 / 2013

Editado por Claudio Marcelo G. de Oliveira (marcelo@biologico.sp.gov.br)

Resumo - Silva, S.L.S., T.F.S. Santos, N.R. Ribeiro, A.T. Silvério & T.S. Morais. 2013. Reação de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de 22 espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*, em dois experimentos. As plantas daninhas foram individualmente inoculadas com 5000 ovos e juvenis de segundo estágio (J₂) e mantidas em casa de vegetação por 60 dias. Após esse período, os ovos e J₂ foram extraídos, quantificados e os fatores de reprodução (FR = população final / população inicial) foram estimados. As seguintes espécies de plantas daninhas comportaram-se como suscetíveis (FR > 1) para *M. incognita* e *M. javanica*: *Amaranthus hybridus*, *Echinochloa colonum*, *Euphorbia heterophylla*, *Alternanthera tenella*, *Aeschynomene rudis*, *Chenopodium ambrosioides*, *Commelina benghalensis*, *Hyptis suaveolens*, *Solanum americanum* e *Polygonum persicaria*. Por outro lado, *Digitaria horizontalis*, *Pennisetum setosum* e *Bidens pilosa* mostraram-se resistentes a *M. incognita* (FR < 1), mas suscetíveis a *M. javanica*.

Palavras-chaves: hospedabilidade, nematoide das galhas, plantas daninhas.

Summary - Silva, S.L.S., T.F.S. Santos, N.R. Ribeiro, A.T. Silvério & T.S. Morais. 2013. Host response of weed species to *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*.

Two experiments were carried out in order to evaluate the host status of 22 weed species to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. The weed plants were individually inoculated with 5,000 eggs and second stage juveniles (J₂) and kept in a greenhouse for 60 days. After this period, the eggs and J₂ were extracted, counted and the reproduction factors (RF = final population / initial population) were estimated. The following weed species were all susceptible (RF > 1) to both *M. incognita* and *M. javanica*: *Amaranthus hybridus*, *Echinochloa colonum*, *Euphorbia heterophylla*, *Alternanthera tenella*, *Aeschynomene rudis*, *Chenopodium ambrosioides*, *Commelina benghalensis*, *Hyptis suaveolens*, *Solanum americanum* and *Polygonum persicaria*. In contrast, *Digitaria horizontalis*, *Pennisetum setosum* and *Bidens pilosa* were resistant to *M. incognita* (RF < 1) but susceptible to *M. javanica*.

Keywords: host reaction, root knot nematode, weed species.

Conteúdo

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne incognita* e *M. javanica*) podem se multiplicar em plantas daninhas presentes nas lavouras, tanto durante a safra como na entressafra. Em áreas onde ocorrem infestações dessas

espécies de nematoides e de plantas daninhas, os prejuízos causados são mais significativos, pois algumas dessas plantas podem ser hospedeiras desses patógenos, possibilitando que os nematoides se multipliquem mesmo quando na ausência das plantas

cultivadas (Lordello *et al.*, 1988; Roese, 2003). De acordo com Pitelli (1987), já foram relatadas 57 espécies de plantas daninhas que atuam como hospedeiras alternativas de *M. javanica*, destacando-se entre elas espécies de ocorrência frequente nos ambientes agrícolas do Brasil, como *Brachiaria plantaginea* e *Bidens pilosa*.

Dessa maneira, se faz importante a caracterização das espécies de plantas daninhas que são boas hospedeiras dos nematoides, para que se mantenha a área livre destas plantas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a hospedabilidade de diferentes espécies de plantas daninhas a *M. incognita* e *M. javanica*.

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação da Aprosmat (Associação dos Produtores de Sementes de Mato Grosso), localizada no município de Rondonópolis (MT). Foram avaliadas 22 espécies de plantas daninhas (Tabela 1) para *M. javanica* e *M. incognita*. Soja ‘BRS/MT Pintado’ foi utilizada como controle e para verificação da

viabilidade dos inóculos.

A semeadura ocorreu em vasos de argila com capacidade de 1,0 litro contendo a mistura de areia e solo (proporção 2:1), que foi desinfestada por autoclavagem. Foram colocadas cinco sementes por vaso, realizando-se o desbaste após o quinto dia da emergência das plântulas, deixando-se apenas uma plântula por vaso. A semeadura ocorreu de forma a começar pelas sementes das plantas infestantes que possuíam uma menor velocidade de germinação e desenvolvimento, terminando com as espécies de rápido desenvolvimento. Nesse sentido, primeiramente, foi semeado a erva-quente e a seguir as demais plantas daninhas, com um intervalo de 14 dias entre a primeira e a última semeadura.

Os inóculos utilizados nos experimentos foram obtidos de populações puras de *M. javanica* e *M. incognita*, mantidas e multiplicadas em cultivar de soja ‘BRS/MT Pintado’, em casa de vegetação por 60 dias. Decorrido este período, as raízes foram lavadas e

Tabela 1 - Reação de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, determinada pela população final (Pf = ovos e J₂) e pelo fator de reprodução (FR = Pf / Pi).

Espécie	Nome vulgar	<i>Meloidogyne incognita</i>			<i>Meloidogyne javanica</i>		
		Pf ¹	FR ²	Reação ³	Pf ¹	FR ²	Reação ³
<i>Glycine max</i> (L.) Merrill	Soja ‘BRS/MT Pintado’	60373 a	12,1 a	S	6619833 a	38,7 a	S
<i>Amaranthus hybridus var. paniculatus</i>	Caruru-roxo	56800 a	11,4 a	S	85867 b	17,2 b	S
<i>Echinochloa colonum</i> (L.) Link	Capim-arroz	46293 a	7,6 b	S	59573 b	13,2 b	S
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Amendoim-bravo	37813 b	7,9 b	S	46667 b	9,3 c	S
<i>Alternanthera tenella</i> Colla	Apaga-fogo	30613 b	6,1 b	S	16107 c	3,2 d	S
<i>Aeschynomene rudis</i> Benth	Angiquinho	26027 b	5,2 b	S	52427 b	10,5 c	S
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Erva-de-santa-maria	26560 b	5,3 b	S	65813 b	14,1 b	S
<i>Commelina benghalensis</i> L.	Trapoeraba	10453 c	2,1 c	S	38133 b	7,6 c	S
<i>Hypis suaveolens</i> (L.) Point.	Hortelã	8427 c	1,7 c	S	19147 b	3,8 d	S
<i>Solanum americanum</i> Mill.	Maria-preta	5707 c	1,2 c	S	34720 b	7,0 c	S
<i>Polygonum persicaria</i> L.	Erva-de-bicho	5493 c	1,1 c	S	6507 c	1,3 e	S
<i>Senna occidentalis</i> L. (Link)	Fedegoso	2287 d	0,5 d	R	3413 c	0,7 f	R
<i>Pennisetum setosum</i> (Sw.) Rich	Capim-custódio	1600 d	0,3 d	R	9547 c	1,9 e	R
<i>Digitaria horizontalis</i> Wild	Capim-colchão	1280 d	0,3 d	R	20053 b	4,0 d	R
<i>Brachiaria plantaginea</i> (Link) Hitchc	Capim-marmelada	907 d	0,2 d	R	213 c	0,1 f	R
<i>Sida cordifolia</i> L.	Guaxuma	518 d	0,1 d	R	480 c	0,1 f	R
<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H. S. Irwin & Barnett	Fedegoso	587 d	0,1 d	R	1440 c	0,3 f	R
<i>Acanthospermum australe</i> (Loefl)	Carrapichinho	480 d	0,1 d	R	960 c	0,2 f	R
<i>Bidens pilosa</i> L.	Picão-preto	373 d	0,1 d	R	6613 c	1,3 e	R
<i>Acanthospermum hispidum</i>	Carrapicho de carneiro	373 d	0,1 d	R	1333 c	0,3 f	R
<i>Spermacoe latifolia</i> Aubl.	Erva- quente	320 d	0,1 d	R	1813 c	0,4 f	R
<i>Cenchrus echinatus</i> L.	Capim-carrapicho	213 d	0,1 d	R	107 c	0,0 f	R
<i>Desmodium tortuosum</i> (Sw.) DC.	Pega-pega	160 d	0,0 d	R	160 c	0,0 f	R

Média de 6 repetições. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferiram entre si pelo Teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade.

¹Pf = população final de J₂ e ovos.

²FR = Pf / população inicial (Pi = 5.000).

³R = Resistente (FR < 1); S = Suscetível (FR > 1).

trituras em liquidificador como proposto por Boneti & Ferraz (1981). Para ambas as espécies de *Meloidogyne*, as concentrações das suspensões de ovos e juvenis (J_2) foram determinadas como o auxílio de microscópio de luz e câmara de Peters. A seguir, foram inoculados 5 ml das respectivas suspensões de ovos e J_2 (1000 ovos + J_2 / ml) diretamente no sistema radicular das plântulas, a 2 cm de profundidade.

No sexagésimo dia posterior à inoculação, a parte aérea das plantas daninhas foi eliminada e as raízes retiradas dos vasos, lavadas em água corrente para a eliminação de substrato e, em seguida, o sistema radicular de cada planta foi triturado em liquidificador como proposto por Boneti & Ferraz (1981). Para cada espécie de planta daninha avaliada foi calculado o fator de reprodução (FR) do nematoide (FR = população final / população inicial) e conseqüentemente a determinação da reação das plantas segundo Oostenbrink (1966), ou seja, as plantas que proporcionaram $FR < 1$ foram consideradas resistentes e $FR > 1$ suscetíveis.

Para as análises estatísticas, os dados de produção de ovos foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. Os dados foram analisados usando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2003). A viabilidade dos inóculos de *M. incognita* e *M. javanica* foi confirmada pelos números de ovos produzidos na cultivar de soja 'BRS/MT Pintado' (Tabela 1).

Das 22 espécies de plantas daninhas testadas para *M. incognita*, 45,5 % delas foram caracterizadas como suscetíveis: amendoim-bravo, apaga-fogo, angiquinho, caruru-roxo, capim-arroz, erva-de-santa-maria, trapoeraba, hortelã, maria-preta e erva-de-bicho. As plantas caracterizadas como suscetíveis a *M. javanica* foram: caruru-roxo, erva-de-santa-maria, capim-arroz, angiquinho, amendoim-bravo, maria-preta, capim-colchão, hortelã, apaga-fogo, capim-custódio, erva-de-bicho, picão-preto e trapoeraba, ou seja, 59 % das espécies avaliadas (Tabela 1).

No Brasil, a reação de hospedabilidade de nematoides em plantas daninhas já foi estudada por vários autores (Zem, 1977; Antônio & Lehman, 1978; Lordello *et al.*, 1988; Mônaco *et al.*, 2009). No presente trabalho, confirmou-se a suscetibilidade de

amendoim-bravo a *M. javanica*, anteriormente relatada por Lordello *et al.* (1988), porém divergente da reação de resistência encontrada por Mônaco *et al.* (2009).

A suscetibilidade do apaga-fogo a *M. incognita* e a *M. javanica* concorda com os resultados de Lordello *et al.* (1988) e Mônaco *et al.* (2009). Da mesma forma, a reação de suscetibilidade de maria-preta a *M. incognita* já foi relatada anteriormente por Zem (1977) e Antônio & Lehman (1978), enquanto que picão-preto comportou-se como suscetível a *M. javanica*, confirmando relato de Lordello *et al.* (1988), e guanxuma comportou-se como suscetível em relação a *M. incognita*, em concordância com Antônio & Lehman (1978). A reação de resistência de carrapichinho e capim-marmelada a *M. javanica* observada neste trabalho confirma as observações do estudo de Zem (1977).

Já o capim-carrapicho comportou-se como resistente a *M. javanica*, mas esse resultado é divergente quando comparado ao encontrado por Lordello *et al.* (1988), que o caracteriza como suscetível.

De acordo com Mônaco *et al.* (2009), as diferenças de reação encontradas entre as mesmas plantas daninhas nos diferentes trabalhos podem ser decorrentes de variabilidade intraespecífica das plantas daninhas ou dos nematoides.

Espera-se que as informações geradas no presente trabalho sejam úteis no manejo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*.

Literatura Citada

- ANTONIO, H. & P.S. LEHMAN. 1978. Nota sobre a ocorrência de nematoides do gênero *Meloidogyne* em algumas ervas daninhas nos estados do Paraná e do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO DE NEMATOLOGIA, III, Mossoró. Anais, p. 29-32.
- BONETI, J.I.S. & S. FERRAZ. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para a extração de ovos de *Meloidogyne exigua*, em raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, 6 (3): 553.
- FERREIRA, D.F. 2003. Sisvar. versão 4.2. DEX - UFPA, Lavras (MG), 79 p.
- LORDELLO, R.R.A., A.I.L. LORDELLO & E.M. PAULO. 1988. Multiplicação de *Meloidogyne javanica* em plantas daninhas. Nematologia Brasileira, 12: 84-92.
- MÔNACO, A. P. A., R.G. CARNEIRO, W.M. KRANZ, J.C. GOMES, A. SCHERER & D.C. SANTIAGO. 2009. Reação de espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 3, a *M. javanica* e a *M. paranaensis*.

- Nematologia Brasileira, 33 (3): 235-242.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristic of the relation between nematodes and plant. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen – Países Baixos, 46 p.
- PITELLI, R.A. 1987. Competição e Controle das Plantas Daninhas em Áreas Agrícolas. Série Técnica IPEF, Piracicaba, 4 (12): 1-24.
- ROESE, A. D. 2003. Reações de cultivares de soja (*Glycine max* L. Merrill) e de espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne paranaensis* (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 59 p.
- ZEM, A.C. 1977. Informações preliminares sobre os nematoides que se hospedam em plantas invasoras. In: REUNIÃO DE NEMATOLOGIA, II, Piracicaba. Anais, p. 45-48.

Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em Pimentas *Capsicum* dos Grupos Habanero e Murupi

Jadir B. Pinheiro¹, Francisco J. B. Reifschneider², Ricardo B. Pereira¹ & Antonio W. Moita¹

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

²Embrapa Relações Internacionais (SRI), C. Postal 40315, 70770-901 Brasília (DF) Brasil.

Autor para correspondência: jadir.pinheiro@embrapa.br

Recebido para publicação em 31 / 5 / 2013. Aceito em 2 / 8 / 2013

Editado por Luiz Carlos C.B. Ferraz (lccbferr@esalq.usp.br)

Resumo - Pinheiro, J.B., F.J.B. Reifschneider, R.B. Pereira & A.W. Moita. 2013. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em pimentas *Capsicum* dos grupos Habanero e Murupi.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em 22 genótipos de pimentas do grupo Habanero e 25 do grupo Murupi. Aos 30 dias de idade, as mudas foram transplantadas para vasos, inoculadas com *M. enterolobii* e mantidas em casa-de-vegetação. Genótipos de pimenta, pimentão e tomateiro foram utilizados como testemunhas. Genótipos de Murupi e Habanero apresentaram fatores de reprodução de 1,75 a 35,33 e 1,33 a 8,43, respectivamente. Genótipos de Habanero, no geral, apresentaram fatores de reprodução inferiores aos do grupo Murupi.

Palavras-chaves: nematoide das galhas, resistência a doenças, *Capsicum chinense*, fator de reprodução.

Summary- Pinheiro, J.B., F.J.B. Reifschneider, R.B. Pereira & A.W. Moita. 2013. Reproduction of *Meloidogyne enterolobii* in Habanero and Murupi peppers.

The aim of this study was to evaluate the reproduction of *Meloidogyne enterolobii* in 22 Habanero group and 25 Murupi group pepper genotypes. Thirty day-old seedlings were transplanted to pots, inoculated with *M. enterolobii* and maintained in a greenhouse. Genotypes of pepper, sweet pepper and tomato were used as controls. Murupi and Habanero genotypes showed reproduction factors ranging from 1.75 to 35.33 and 1.33 to 8.43, respectively. Habanero genotypes, in general, showed lower reproductive factors when compared to genotypes from the Murupi group.

Key words: root-knot nematode, disease resistance, *Capsicum chinense*, reproduction factor.

Conteúdo

Em pimentas do gênero *Capsicum*, os nematoides das galhas assumem grande importância econômica, pois atacam o sistema radicular das plantas e prejudicam a absorção e translocação de nutrientes e, conseqüentemente, a produtividade das culturas. A espécie mais comumente relatada causando danos em pimentas é *Meloidogyne incognita* (McSorley & Thomas, 2003), ocorrente principalmente em regiões de clima quente, incluindo as regiões tropicais e subtropicais. Em hortaliças, outra espécie que tem causado preocupação entre os pesquisadores é *Meloidogyne*

enterolobii (sin. *M. mayaguensis*), devido à capacidade de infestar ou colonizar genótipos resistentes a outras espécies de *Meloidogyne* (Bitencourt & Silva, 2010). Apesar de muitas pesquisas terem sido realizadas ao longo dos anos, pouco conhecimento foi obtido sobre a resistência de genótipos de *Capsicum* spp. a *M. enterolobii*. Oliveira (2007) relatou que somente a espécie *C. frutescens* foi considerada resistente a *M. enterolobii* no gênero. Contudo, esta foi incompatível para a enxertia com cultivares comerciais de pimentão suscetíveis ao nematoide.

Este trabalho teve como objetivo verificar a

reprodução de *M. enterolobii* em genótipos de pimenta dos grupos Habanero e Murupi (*Capsicum chinense*) do banco de germoplasma de *Capsicum* da Embrapa diante da necessidade de obtenção de cultivares de *Capsicum* resistentes a *M. enterolobii*.

O experimento foi realizado em casa de vegetação e as avaliações no Laboratório de Nematologia, Embrapa Hortaliças, Brasília (DF), no período de outubro de 2008 a março de 2009.

Após a confirmação da espécie *M. enterolobii*, identificada mediante caracterização isoenzimática (Carneiro & Almeida, 2001), plantas de tomateiro 'Rutgers' foram inoculadas mediante a deposição de 5,0 ml de suspensão em água, contendo 5000 ovos e juvenis de segundo estágio (J_2), em orifício na superfície próximo a região do colo das plantas e mantidas em casa de vegetação na temperatura de $27\text{ }^\circ\text{C} \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$, para a produção e manutenção do inóculo. Quarenta e cinco dias após a inoculação, ovos e J_2 foram extraídos dos sistemas radiculares das plantas de acordo com Bonetti & Ferraz (1981) para a imediata inoculação do experimento.

Vinte e dois genótipos de pimenta do grupo Habanero (CNPH 0780, CNPH 2825, CNPH 2850, CNPH 2851, CNPH 3040, CNPH 3188, CNPH 3234, CNPH 3269, CNPH 3272, CNPH 3278, CNPH 3375, CNPH 3471, CNPH 3480, CNPH 3522, CNPH 3573, CNPH 3627, CNPH 3864, CNPH 3871, CNPH 3937, CNPH 4137, CNPH 4159 e CNPH 4160), 25 genótipos do grupo Murupi (CNPH 0060, CNPH 0436, CNPH 0578, CNPH 3260, CNPH 3283, CNPH 3429, CNPH 3449, CNPH 3454, CNPH 3458, CNPH 3459, CNPH 3466, CNPH 3467, CNPH 3485, CNPH 3511, CNPH 3521, CNPH 3523, CNPH 3536, CNPH 3543, CNPH 3553, CNPH 3572, CNPH 3633, CNPH 3713, CNPH 3714, CNPH 3717 e CNPH 3883), as testemunhas de pimenta 'BRS Mari', 'BRS Moema', 'BRS Sarakura', 'BRS Garça', 'BRS Brasilândia' e de pimentão 'California Wonder', 'Silver' 'CNPH 148', assim como o tomateiro 'Rutgers', utilizado para avaliar a viabilidade do inóculo, foram semeados em bandejas de isopor de 72 células contendo substrato composto de vermiculita expandida, matéria orgânica, macro e micronutrientes. Trinta dias após a semeadura, as mudas foram

transplantadas para vasos com capacidade de 2,0 litros contendo substrato autoclavado, composto de solo de cerrado, areia lavada, esterco de gado e palha de arroz carbonizada, na proporção de 1:1:1:1. A inoculação das plantas com *M. enterolobii* foi realizada mediante a deposição de 5,0 ml de suspensão em água, contendo 5000 ovos e J_2 , distribuídos em orifícios na superfície próximos a região do colo das plantas, em cada vaso. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições e parcelas compostas por uma planta.

As variáveis nematológicas índice de massa de ovos (IMO), índice de galhas (IG), número de ovos por grama de raízes (NOGR) e fator de reprodução (FR) foram avaliadas 84 dias após a inoculação. As plantas foram retiradas dos vasos e avaliadas separadamente. Os sistemas radiculares foram lavados cuidadosamente em água corrente até a retirada do excesso de solo e as massas de ovos coloridas conforme metodologia de Taylor & Sasser (1978). Em seguida, procederam-se às contagens dos números de massas de ovos dos nematoides presentes no sistema radicular das plantas sob estereoscópio. O IMO e o IG foram determinados conforme Huang *et al.* (1986) e Charchar *et al.* (2003), respectivamente. Para avaliação do NOGR, as raízes de todos os tratamentos foram lavadas, secas em temperatura ambiente por cinco horas e pesadas antes de serem processadas de acordo com a técnica Bonetti & Ferraz (1981). O FR dos nematoides nos diferentes genótipos foi obtido pela divisão entre as densidades populacionais finais e iniciais ($FR = Pf / Pi$) (Oostenbrink, 1966). Foi considerado como população inicial (Pi) o inóculo extraído, quantificado e calibrado para conter 5000 ovos e J_2 por vaso. As análises estatísticas dos dados foram realizadas no programa estatístico Genes (v. 2006.4.1) (Cruz, 1997) e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

A inoculação realizada no experimento foi bem sucedida, visto que houve uma boa multiplicação de *M. enterolobii* nas plantas testemunhas, onde *M. enterolobii* apresentou FR de 3,45 a 6,55, enquanto nas de pimentão este apresentou FR de 3,07 a 6,13 (Tabela 1). No tomateiro 'Rutgers', *M. enterolobii* apresentou FR de 1,93. Embora o tomateiro seja comumente

Tabela 1 - Reação de genótipos de pimentas (*Capsicum chinense*) dos grupos Habanero e Murupi a *Meloidogyne enterolobii*. Brasília, Embrapa Hortaliças, 2012.

Genótipos		IMO ¹	IG ²	NOGR ³	FR ⁴	
Murupi	CNPH 3467	5,00 a	4,67 a	5.248,11 a	35,33 a	
	CNPH 3572	5,00 a	3,67 a	3.281,57 a	21,82 b	
	CNPH 3521	4,50 a	3,33 b	2.578,85 b	16,23 c	
	CNPH 3536	4,50 a	3,83 a	1.912,00 b	14,42 c	
	CNPH 3717	4,67 a	4,33 a	2.515,57 b	14,32 c	
	CNPH 3523	4,00 b	2,67 c	2.179,61 b	13,83 c	
	CNPH 3459	4,33 a	3,33 b	1.733,08 b	11,38 c	
	CNPH 3543	5,00 a	3,00 b	1.765,05 b	10,53 c	
	CNPH 3553	4,17 a	2,50 c	1.364,84 b	10,05 c	
	CNPH 3449	4,33 a	2,33 c	1.692,84 b	9,27 c	
	CNPH 3714	4,83 a	3,83 a	1.652,68 b	8,50 c	
	CNPH 3713	4,00 b	3,67 a	2.020,55 b	7,45 d	
	CNPH 3466	4,50 a	4,00 a	953,60 c	7,17 d	
	CNPH 3511	4,83 a	3,83 a	949,81 c	6,13 d	
	CNPH 3429	3,33 b	3,50 b	821,42 c	5,95 d	
	CNPH 3883	4,67 a	4,00 a	794,48 c	5,75 d	
	CNPH 3458	4,17 a	3,33 b	734,29 c	5,18 d	
	CNPH 3283	4,17 a	3,67 a	727,87 c	4,95 d	
	CNPH 0060	2,83 b	2,33 c	562,57 c	4,40 d	
	CNPH 0578	3,00 b	3,00 b	1.095,96 c	4,32 d	
	CNPH 3485	4,17 a	3,00 b	680,66 c	3,87 d	
	CNPH 3454	3,17 b	2,67 c	577,35 c	2,50 e	
	CNPH 3633	4,00 b	3,67 a	379,90 c	2,30 e	
	CNPH 3260	3,67 b	3,17 b	303,47 c	1,98 e	
CNPH 0436	3,50 b	3,50 b	322,82 c	1,75 e		
Habanero	CNPH 2850	3,67 b	3,33 b	1.372,75 b	8,43 c	
	CNPH 3573	4,80 a	5,00 a	2.140,11 b	8,17 d	
	CNPH 3480	4,50 a	4,00 a	1.171,75 b	6,40 d	
	CNPH 2825	4,50 a	3,67 a	735,39 c	5,77 d	
	CNPH 2851	4,33 a	4,33 a	622,41 c	4,67 d	
	CNPH 3522	4,50 a	4,17 a	723,06 c	4,50 d	
	CNPH 0780	4,17 a	3,67 a	1.314,23 c	3,80 d	
	CNPH 3471	3,67 b	4,00 a	635,81 c	3,49 d	
	CNPH 3627	3,83 b	3,83 a	1.170,33 b	2,83 e	
	CNPH 3272	3,17 b	3,00 b	716,13 c	2,71 e	
	CNPH 3188	3,83 b	4,00 a	738,77 c	2,62 e	
	CNPH 3864	4,17 a	3,33 b	487,57 c	2,35 e	
	CNPH 3937	3,83 b	3,50 b	979,53 c	2,25 e	
	CNPH 3040	3,83 b	4,00 a	367,57 c	2,18 e	
	CNPH 3278	4,00 b	3,33 b	632,56 c	1,88 e	
	CNPH 3269	3,83 b	3,83 a	464,65 c	1,87 e	
	CNPH 4160	3,83 b	4,17 a	730,81 c	1,83 e	
	CNPH 3234	4,17 a	3,83 a	349,46 c	1,78 e	
	CNPH 3871	4,33 a	4,17 a	617,84 c	1,55 e	
	CNPH 4159	3,33 b	3,00 b	464,72 c	1,48 e	
	CNPH 4137	3,17 b	3,83 a	448,41 c	1,33 e	
	CNPH 3375	4,00 b	3,67 a	359,03 c	1,27 e	
	Pimenta	BRS Mari	4,50 a	4,17 a	1.305,51 b	6,55 d
		BRS Moema	4,17 a	4,17 a	1.670,40 b	6,48 d
BRS Sarakura		4,33 a	4,33 a	1.160,87 b	5,85 d	
BRS Garça		4,67 a	4,67 a	750,29 c	3,48 e	
BRS Brasilândia		4,17 a	4,00 a	565,04 c	3,45 e	
Pimentão	Silver	4,50 a	4,50 a	1.239,61 b	6,13 d	
	CNPH 148	4,67 a	3,17 b	1.008,55 c	4,55 d	
	Califórnia Wonder	4,67 a	4,83 a	549,70 c	3,07 e	
Tomate	Rutgers	3,83 b	5,00 a	292,11 c	1,93 e	
Média		4,13	3,70	1.102,63	6,05	
C.V. (%)		9,28	9,93	42,98	34,58	

Dados transformados para log (x+1). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).¹Índice de massa de ovos.²Índice de galhas.³Número de ovos por grama de raiz.⁴Fator de reprodução.

utilizado como padrão de susceptibilidade em experimentos visando à seleção de materiais resistentes, o valor do FR observado foi baixo em relação aos demais tratamentos. Tal resultado é atribuído ao severo dano causado no sistema radicular das plantas e ao pequeno número de raízes. A susceptibilidade das testemunhas pode ser confirmada pelos altos valores obtidos nas variáveis IMO e IG.

Os genótipos de pimenta dos grupos Murupi e Habanero apresentaram FR de 1,75 a 35,33 e de 1,33 a 8,43, respectivamente. Os IMO avaliados nos genótipos dos grupos Murupi e Habanero foram semelhantes às testemunhas de pimenta, pimentão e/ou tomateiro. Alguns genótipos do grupo Murupi (CNPH 3523, CNPH 3553, CNPH 3449 e CNPH 3454) apresentaram IG inferiores às testemunhas. Com relação ao NOGR, verificou-se que todos os genótipos dos grupos Habanero e Murupi apresentaram valores semelhantes ou superiores às testemunhas.

De forma geral, genótipos de pimenta pertencentes ao grupo Habanero apresentaram FR inferiores aos observados no grupo Murupi. Dentre os genótipos do grupo Murupi, os que apresentaram FR menores foram CNPH 3454, CNPH 3633, CNPH 3260 e CNPH 0436. No grupo Habanero, os genótipos CNPH 3627, CNPH 3272, CNPH 3188, CNPH 3864, CNPH 3937, CNPH 3040, CNPH 3278, CNPH 3269, CNPH 4160, CNPH 3234, CNPH 3871, CNPH 4159, CNPH 4137 e CNPH 3375 apresentaram menores valores em relação aos FR. Este comportamento sugere que genótipos de pimenta do grupo Habanero são menos suscetíveis a *M. enterolobii* do que genótipos do grupo Murupi. Alguns genes de resistência em *Capsicum* (*Me4*, *Mech1* e *Mech2*) são específicos a certas espécies ou populações de *Meloidogyne*, enquanto outros (*Me1*, *Me3* e *Me7*) são efetivos contra várias espécies de *Meloidogyne* (Dijian-Caporalino *et al.*, 2006). Assim, genes podem apresentar diferentes padrões de resposta, dependendo da linhagem de *Capsicum* e espécie de nematoide. A maior susceptibilidade de genótipos do grupo Murupi em relação à Habanero sugere que um menor número de genes de resistência parcial está presente nos genótipos do grupo Murupi (Berge *et*

al., 1974) ou que os grupos possuem genes de diferentes mecanismos de defesa a nematoides em *Capsicum* (Fuller *et al.*, 2008). Segundo Dijian-Caporalino *et al.* (2006), a resistência ao nematoide das galhas em *C. annuum* está associada a vários genes de resistência dominante.

Plantas de pimenta do grupo Murupi apresentaram IG e NOGR médios de 3,39 e 1316,7, respectivamente, enquanto plantas de Habanero apresentaram IG e NOGR médios de 3,79 e 783,7, respectivamente. De modo geral, plantas do grupo Habanero, apesar de apresentarem maiores IG, apresentaram menor produção de ovos e menor FR. Vale ressaltar que a busca por fontes de resistência a *M. enterolobii* em genótipos de pimenta *C. chinense* é essencial, visto que alguns destes apresentam características interessantes, como resistência a oídio (Blat *et al.*, 2006), ao mosaico amarelo do pimentão (Bento *et al.*, 2009) e à murcha bacteriana (Demosthenes & Bentes, 2011).

Atualmente, encontram-se disponíveis comercialmente no Brasil os híbridos intraespecíficos de pimentão ‘Silver’ e ‘Snooker’, com resistência a *M. incognita* raças 1, 2, 3 e 4, *M. javanica* e *Phytophthora capsici* Leonian (Sakata, 2012; Syngenta, 2012), uma cultivar de pimenta BRS Sarakura com resistência a *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* e quatro cultivares - BRS Mari, BRS Moema, BRS Garça e BRS Seriema - todas com resistência a *M. javanica* (Pinheiro *et al.* 2009). Contudo, estes apresentam suscetibilidade a *M. enterolobii*. Assim, a busca por genótipos de pimenta resistentes a esta espécie, bem como o desenvolvimento e a adoção de estratégias de controle para evitar a infestação de novas áreas são essenciais, visto que em *Capsicum* spp., relatos de danos causados por *M. enterolobii* têm sido mais frequentes a cada ano.

Literatura Citada

- BENTO, C.S., R. RODRIGUES, F. ZERBINI JUNIOR & C.P. SUDRÉ. 2009. Source of resistance against *Pepper yellow mosaic virus* in *chilli pepper*. Horticultura Brasileira, 27: 196-201.
- BERGE, J.B., A. DALMASSO & M. RITTER. 1974. Influence de la nature de l'hôte sur le développement et le déterminisme du sexe du nématode phytoparasite *Meloidoghyne hapla*. C. Rendus de l'Academie d'Agriculture de France, 60: 946-952.

- BITENCOURT, N.V. & G.S. SILVA. 2010. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas. *Nematologia Brasileira*, 34: 181-183.
- BLAT, S.F., C.P. da COSTA, R. VENCOVSKY & F.C. SALA. 2006. Hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) inheritance of reaction to powdery mildew. *Scientia Agricola*, 63: 471-474.
- BONETTI, J.I.S. & S. FERRAZ. 1981. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6: 553.
- CARNEIRO, R.M.D.G. & M.R.A. ALMEIDA. 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira*, 25 (1): 35-44.
- CHARCHAR, J.M., V. GONZAGA, L.B. GIORDANO, L.S. BOITEUX, N.V.B. REIS & F.A.S. ARAGÃO. 2003. Reações de cultivares de tomate à infecção por população mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em estufa plástica e campo. *Nematologia Brasileira*, 27(1): 49-54.
- CRUZ, C.D. 1997. Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Editora UFV, Viçosa (MG), 442 p.
- DEMOSTHENES, L.C.R. & J.L.S. BENTES. 2011. Fontes de resistência à murcha bacteriana em germoplasma de *Capsicum* spp. do estado do Amazonas. *Acta Amazonica*, 41: 435-438.
- DIJIAN-CAPORALINO, C., A. FAZARI, M.J. ARGUEL, T. VERNIE, C. VANDE-CASTEELE, I. FAURE, G. BRUNOUND, L. PIJAROWSKY, A. PALLOIX, V. LEFEBVRE & Q. ABAD. 2006. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) *Me* resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. *Theoretical and Applied Genetics*, 144: 473-486.
- FULLER, V.L., C.J. LILLEY & P.E. URWIN. 2008. Nematode resistance. *New Phytologist*, 180: 27-44.
- HUANG, S.P., J.E.C. MIRANDA & W.R. MALUF. 1986. Resistance to root-knot nematodes in a Brazilian sweet potato collection. *Fitopatologia Brasileira*, 11(4): 761-767.
- MCSORLEY, R., S.H. THOMAS. 2003. Disease caused by nematodes. In: PERNEZNY, K.L., P.D. ROBERTS, J.F. MURPHY & N.P. GOLDBERG (ed). *Compendium of Pepper Disease*. The American Phytopathological Society, Saint Paul – EUA, p. 46-49.
- OLIVEIRA, D.C. 2007. Enxertia de plantas de pimentão em *Capsicum* spp. no manejo de nematoides de galhas. (Tese de Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Jaboaticabal (SP), 134 p.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededelingen Landbouw*, 66 (4): 1-46.
- PINHEIRO, J.B., F.J.B. REIFSCHNEIDER, G.B. AMARO, C.A. LOPES & J.S. PEREIRA. 2009. Programa de Melhoramento de *Capsicum* da Embrapa: Avaliação de genótipos para reação ao nematoide das galhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, V, Vitória (ES). Resumos, p.1-4. 2009.
- SAKATA - Seed Sudamerica Ltda. Silver: pimentão – porta enxerto. 2012. <<http://www.sakata.com.br/index.php?action=catalogo&cultura=4&produto=1098&language=pt>> acesso 3 abril 2012.
- SYNGENTA - Syngenta do Brasil. Pimentão Snooker - porta enxerto. 2012. <<http://www.syngenta.com/country/br/pt/produtosemarcas/sementes/vegetais/Pages/pimentao-snooker-porta-enxerto.aspx>> acesso 2 abril 2012.
- TAYLOR, A.L. & J.N. SASSER. 1978. Biology, Identification and Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* Species). North Carolina State University Graphics, Raleigh – EUA, 111 p.

Caracterização Molecular de Nematoides Entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) dos Estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo

Raphaella Dell'Acqua^{1*}, Melissa D. O. Tomazini², Ricardo Harakava³, Claudio Marcelo G. de Oliveira¹, Juliana M. O. Rosa¹ & Luís G. Leite^{1**}

*Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora.

¹Instituto Biológico, C. Postal 70, 13001-970, Campinas (SP) Brasil.

²Pós-Doutoranda, Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Biotecnologia e Produção Vegetal e Animal, 13600970, Araras (SP) Brasil.

³Instituto Biológico, Avenida Conselheiro Rodrigues Alves 1.252, 04014-002, São Paulo (SP) Brasil.

**Autor para correspondência: lgleite@biologico.sp.gov.br

Recebido para publicação em 14 / 11 / 2012. Aceito em 17 / 03 / 2014

Editado por Mário Inomoto

Resumo - Dell'Acqua, R., M.D.O. Tomazini, R. Harakava, C.M.G. Oliveira, J.M.O. Rosa & L.G. Leite. 2013. Caracterização molecular de nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) dos Estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo.

A relação mutualística com bactérias patogênicas a insetos torna os nematoides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* uma eficiente alternativa para o controle biológico de pragas de solo. Consequentemente, a busca por novos isolados e os estudos taxonômicos têm se intensificado cada vez mais. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar 15 isolados de nematoides entomopatogênicos (NEPs) por métodos moleculares. Para tanto, foi amplificada a expansão D2/D3 do 28S DNA ribossômico (rDNA) dos isolados de NEPs e, posteriormente, feita análise filogenética juntamente com outras sequências depositadas no GenBank. A caracterização dos isolados de NEPs revelou duas espécies de *Heterorhabditis*, *H. indica* e *H. amazonensis*. Os isolados de *Steinernema* estudados foram identificados como: *S. riobrave*, *S. glaseri*, *S. puertoricense*, *S. brazilense* e *S. australe*.

Palavras-chaves: *Steinernema*, *Heterorhabditis*, taxonomia, 28S rDNA.

Summary - Dell'Acqua, R., M.D.O. Tomazini, R. Harakava, C.M.G. Oliveira, J.M.O. Rosa & L.G. Leite. 2013. Molecular characterization of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) from Mato Grosso do Sul and São Paulo States, Brazil.

The mutualistic relationship between bacteria pathogenic and insects makes the nematodes of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis* efficient alternatives for the biological control of soil pests. Consequently, the search for new isolates and taxonomic studies has continuously increased. The objective of this study was to characterize 15 populations of entomopathogenic nematodes (EPNs) by molecular methods. For this purpose, the D2/D3 expansion of 28S ribosomal DNA (rDNA) of populations of EPNs was amplified, sequenced and compared with other sequences deposited in GenBank. The characterization of populations of EPNs revealed two *Heterorhabditis* species: *H. indica* and *H. amazonensis*; and five *Steinernema* species: *S. riobrave*, *S. glaseri*, *S. puertoricense*, *S. brazilense* and *S. australe*.

Key words: *Steinernema*, *Heterorhabditis*, taxonomy, 28S rDNA.

Introdução

O controle biológico de pragas de solo tem sido amplamente estudado, sendo uma prática há muito

tempo adotada especialmente pelo uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs) dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Esses agentes apresentam um conjunto

de atributos peculiares, que os tornam alternativas promissoras para o controle de pragas. NEPs vivem em associação com bactérias mutualísticas, localizadas no trato intestinal de juvenis infectivos, e apresentam a habilidade de localizar e invadir o corpo de insetos hospedeiros através de aberturas naturais ou até mesmo através de rompimentos da cutícula. Após invadir o corpo do inseto, alcançam a hemocele e liberam a bactéria simbiótica, a qual provoca septicemia, matando-o dentro de 24 a 48 horas (Ferraz, 1998).

Dentre os motivos para o avanço nessa área, além dos progressos alcançados na tecnologia de produção e formulação, destaca-se também a descoberta de novas espécies e isolados com mais características desejáveis para a exploração como bioinseticida (maior virulência, menor duração do ciclo de desenvolvimento, maior taxa de reprodução e maior capacidade de busca do hospedeiro).

Os estudos relacionados à taxonomia de NEPs realizados antes de 1980 eram confusos, as descrições de novas espécies eram frequentemente duvidosas, e as identificações das espécies mais comuns do gênero *Steinernema* (*S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *S. bibionis*) eram incertas (Poinar, 1989). Na década de 90, a identificação em nível de espécie começou a se tornar mais confiável com a utilização de técnicas moleculares e chaves taxonômicas mais elaboradas. Atualmente, já são conhecidas no mundo pelo menos 61 espécies de *Steinernema* e 14 de *Heterorhabditis* (Nguyen *et al.*, 2010).

Apesar do avanço nos estudos de identificação e caracterização de NEPs, a taxonomia desses agentes ainda se mostra complexa, especialmente pela irregularidade observada nos dados biométricos das fêmeas de primeira e segunda gerações, resultantes principalmente das variações na qualidade e quantidade

de nutrientes obtidos pelos nematoides nos insetos parasitados (Doucet & Doucet, 1990; Poinar, 1990; Nguyen & Smart, 1992; Dolinski *et al.*, 2008).

Comparativamente à taxonomia descritiva, as técnicas moleculares diferem principalmente quanto à quantidade de amostra necessária, assim, com apenas um indivíduo, independente do estágio de desenvolvimento, pode-se obter sua identificação precisa, ao contrário da taxonomia descritiva em que os diversos espécimes devem estar bem preservados, além da necessidade de um taxonomista especializado. Com isso, a identificação por meio das técnicas moleculares é rápida e altamente sensível, não estando sujeita às variações fenotípicas, à ação do ambiente, ao estágio de desenvolvimento do nematoide e a outros fatores que possam alterar a morfologia do organismo (Oliveira *et al.*, 2011).

O objetivo do presente estudo foi caracterizar quinze isolados de nematoides entomopatogênicos coletados nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo, por meio de métodos moleculares, baseando-se nas relações filogenéticas das sequências da expansão D2/D3 do 28S rDNA e aplicação da técnica do código de barras do DNA.

Materiais e Métodos

Isolados de nematoides entomopatogênicos (NEPs). Foram estudados 15 isolados de NEPs disponíveis no banco de nematoides entomopatogênicos da coleção de entomopatogênicos Oldemar Cardim de Abreu, do Laboratório de Controle Biológico localizado no Centro Experimental Central (Campinas / SP) do Instituto Biológico - São Paulo, provenientes de municípios dos Estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul (Tabela 1).

Tabela 1 - Isolados de nematoides entomopatogênicos provenientes dos Estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul.

Isolado	Gênero	Cultura/Ecossistema	Fonte	Cidade (Estado)
IBCBn 1	<i>Steinernema</i>	-	Ovos de <i>Migdolus</i> sp.	Araras (SP)
IBCBn 5	<i>Heterorhabditis</i>	Citros	Solo	Itapetininga (SP)
IBCBn 9	<i>Steinernema</i>	Floresta	Solo	Porto Murtinho (MS)
IBCBn 10	<i>Heterorhabditis</i>	Manga	Solo	Santa Fé do Sul (SP)
IBCBn 24	<i>Heterorhabditis</i>	-	<i>Sphenophorus levis</i>	Piracicaba (SP)
IBCBn 25	<i>Steinernema</i>	Floresta	Solo	Mogi Guaçu (SP)
IBCBn 27	<i>Steinernema</i>	Floresta	Solo	Mogi Guaçu (SP)
IBCBn 28	<i>Steinernema</i>	Floresta	Solo	Mogi Guaçu (SP)
IBCBn 36	<i>Steinernema</i>	Pastagem	Percevejo	Naviraí (MS)
IBCBn 38	<i>Steinernema</i>	Pastagem	Solo	Naviraí (MS)
IBCBn 40	<i>Heterorhabditis</i>	Pastagem	Solo	Tabororã (SP)
IBCBn 44	<i>Heterorhabditis</i>	Cana-de-Açúcar	Solo	Santa Adélia (SP)
IBCBn 46	<i>Heterorhabditis</i>	Cana-de-Açúcar	Solo	Sto. Antônio de Posse (SP)
IBCBn 48	<i>Steinernema</i>	Citros	Solo	Itapetininga (SP)
IBCBn 49	<i>Steinernema</i>	-	-	Jaboticabal (SP)

Análise molecular dos NEPs

Extração do DNA. Inicialmente cada isolado de NEP foi reproduzido em lagartas de 3^o. /4^o. ínstar de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) seguindo os métodos descritos por Kaya & Stock (1997). O DNA foi extraído a partir de um único indivíduo adulto (fêmea), utilizando-se o roteiro da Proteinase-K, segundo Willians et al. (1994).

Amplificação da expansão D2/D3 do 28S rDNA. A expansão D2/D3, localizada no 28S DNA ribossômico (rDNA), foi amplificada a partir do DNA genômico, com os primers D2, 5'-CCTTAGTAACGGCGAGTGAAA 3' (anverso), e primer D3, 5'-CAGCTATCCTGAGGAAAC-3' (reverso), segundo metodologia sugerida por Mráček et al. (2006). Todas as reações de PCR foram conduzidas em termociclador Techne TC -3000 com o seguinte perfil de ciclo: 1 ciclo de 94 °C por 7 minutos, seguido de 35 ciclos de 94 °C por 60 segundos (s), 55 °C por 60 s, 72 °C por 60 s. O último passo foi um ciclo de 72 °C por 10 minutos. Os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio, e visualizados em fonte de luz ultra violeta.

Purificação do DNA, sequenciamento e alinhamento dos fragmentos de DNA. A purificação dos fragmentos de DNA foi realizada com o auxílio do kit GFX PCR DNA produzido por GE Healthcare. O sequenciamento dos fragmentos amplificados da região D2/D3 do rDNA, foi feito por meio de PCR utilizando o kit Big Dye Terminator (Perkin Elmer, Norwalk, CT, EUA), de acordo com os procedimentos descritos por Oliveira *et al.* (2009). As sequências obtidas foram alinhadas e comparadas com auxílio do *software* BioEdit Sequence Alignment Editor com a finalidade de identificar polimorfismo nas sequências nucleotídicas. Ademais, as sequências dos isolados de *Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp. foram comparadas às sequências de espécies de nematoides depositadas no banco de dados (GenBank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para a identificação de homologia através da aplicação da tecnologia do código de barras do DNA (Oliveira *et al.*, 2009).

Análises filogenéticas. As análises filogenéticas foram realizadas por meio do programa TREE-PUZZLE (Strimmer & Von Haeseler, 1996) e dos

aplicativos do programa PHYLIP (Felsenstein & Churchill, 1996).

Resultados e Discussão

***Steinernema* spp.** As sequências dos isolados de NEPs do gênero *Steinernema* amplificadas pelos primers D2 e D3 variaram de 502 a 630 nucleotídeos de comprimento. O menor e maior comprimento foram apresentados pelos isolados IBCBn 49 (Jaboticabal / SP) e IBCBn 36 (Naviraí / MS), respectivamente, não ocorrendo uma faixa padrão de comprimento de sequências quando amplificada a região D2/D3. Esses valores revelam a heterogeneidade e diversidade de comprimento de sequências de nucleotídeos dentro do gênero *Steinernema* com relação aos isolados estudados.

A partir do estudo e alinhamento das sequências da região D2/D3 dos isolados de *Steinernema*, incluindo as sequências de outras espécies de *Steinernema* obtidas no GenBank e a espécie *outgroup* (*Panagrellus redivivus*), foi possível obter uma sequência consenso de 428 caracteres, dos quais 153 (35,7 %) foram constantes. A frequência média de nucleotídeos entre as espécies estudadas foi: 26,2 % (T), 22,3 % (A), 31,6 % (G) e 19,9 % (C).

Baseando-se na técnica do código de barras do DNA, obtiveram-se porcentagens de similaridade entre as sequências dos isolados de *Steinernema* estudados e as depositadas no GenBank que variaram de 98% a 100 %, conforme apresentado na Tabela 2. Concluiu-se, portanto, que o isolado IBCBn 1 (Araras / SP) é coespecífico com *S. glaseri*, pois foram encontrados 100 % de bases idênticas entre as sequências em análise com as sequências desse organismo provenientes de um isolado dos EUA (Tabela 2). Da mesma forma, os isolados IBCBn 9 (Porto Murtinho / MS) e IBCBn 49 (Jaboticabal / SP) apresentaram 99 % de similaridade com *S. brazilense* e *S. riobrave*, respectivamente. Com relação aos isolados IBCBn 27 (Mogi Guaçu / SP), IBCBn 36 (Naviraí / MS) e IBCBn 38 (Naviraí / MS), os resultados evidenciaram que é *S. puertoricense*, uma vez que apresentou alto grau de homologia, 99 %, com um isolado dessa espécie. Os isolados IBCBn 25 (Mogi Guaçu / SP) e IBCBn 28 (Mogi Guaçu / SP) apresentaram similaridade genética de 98% com *S. australe*, correspondendo a 5 pares de bases de diferença genética. O isolado IBCBn 48 (Itapetinga / SP)

Tabela 2 - Valores de similaridade (%) entre as seqüências de nucleotídeos dos isolados de *Steinernema* estudados e as depositadas no GenBank.

Isolado	Espécie (GenBank)	Número de acesso	Máxima identidade (%)
IBCBn 1	<i>S. glaseri</i>	GU177832.1	100
IBCBn 9	<i>S. braziliense</i>	FJ410326.1	99
IBCBn 25	<i>S. australe</i>	FJ235126.1	98
IBCBn 27	<i>S. puertoricense</i>	AF331903.1	99
IBCBn 28	<i>S. australe</i>	FJ235126.1	98
IBCBn 36	<i>S. puertoricense</i>	AF331903.1	99
IBCBn 38	<i>S. puertoricense</i>	AF331903.1	99
IBCBn 48	<i>S. puertoricense</i>	AF331903.1	98
IBCBn 49	<i>S. riobrave</i>	AF331893.1	99

apresentou 98% de similaridade com *S. puertoricense*.

Foi possível criar uma árvore filogenética consenso (Figura 1) em que os isolados foram separados em subgrupos diferentes com suporte nos valores de *bootstrap*. Foi produzido um subgrupo compreendendo: IBCBn 49 (Jaboticabal / SP), próximo a *S. riobrave*; assim como de IBCBn 1 (Araras / SP), agrupado com *S. glaseri*; IBCBn 28 e IBCBn 25 (Mogi Guaçu / SP), agrupados com *S. australe*; IBCBn 9 (Porto Murtinho / MS), agrupado com *S. braziliense*; e outro subgrupo formado por IBCBn 27 (Mogi Guaçu / SP) e IBCBn 38 (Naviraí / MS), agrupados com *S. puertoricense*. IBCBn 36 (Naviraí / MS) e IBCBn 48 (Itapetinga / SP), sem agrupamento definido com nenhuma espécie.

Steinernema puertoricensis e *S. cubanum* apresentam grande proximidade filogenética com *S. glaseri* (Roman & Figueroa, 1994; Saux et al., 1999; respectivamente). Fato observado na árvore gerada a partir da avaliação das relações filogenéticas entre os isolados estudados no presente trabalho e aquelas já descritas, onde *S. glaseri* agrupou-se a *S. cubanum* e ao isolado IBCBn 1.

Nguyen et al. (2010), a partir da análise filogenética da região D2/D3, utilizando-se o método da máxima parsimônia, observaram a formação de um grupo contendo *S. puertoricense* e *S. braziliense*. De maneira semelhante, no presente trabalho, *S. braziliense* se agrupou a *S. puertoricense*. Qiu et al. (2005) e Nguyen et al. (2008), ao estudarem as relações filogenéticas de duas novas espécies, *S. aciari* e *S. cholashanense*, em relação à outras espécies de *Steinernema*, baseados no domínio D3 e D2/D3, respectivamente, de seqüências da região 28S do rDNA, produziram uma árvore filogenética contendo um grupo formado por *S. affine* e *S. intermedium*, e outro grupo incluindo as espécies *S. bicornutum*, *S. ceratophorum*, *S. riobrave* e *S. abbasi*. Ambos os grupos foram reproduzidos pela árvore

filogenética criada no presente trabalho, porém Qiu et al. (2005) apresentaram a formação de um outro grupo com as espécies *S. monticolum*, *S. scapterisci*, *S. siamkayai* e *S. carpocapse*, as quais não se agruparam no presente trabalho. Essa diferença de arranjo pode estar relacionada com o fato de Qiu et al. (2005) terem utilizado somente o prolongamento D3, enquanto que no presente estudo foram utilizadas a expansão D2/D3.

As seis espécies, *S. cholashanense*, *S. feltiae*, *S. krausseii*, *S. kushidai*, *S. monticolum* e *S. oregonense* formaram um grupo de alto valor pela proporção de *bootstrap* (99 %) no trabalho desenvolvido por Nguyen et al. (2008) enquanto que no presente estudo essa proporção baixou para 74%, possivelmente, devido ao agrupamento de mais espécies diferentes nesse mesmo grupo.

Heterorhabditis spp. As seqüências dos isolados de *Heterorhabditis* sp., amplificadas pelos *primers* D2/D3 variaram de 550 a 626 nucleotídeos de comprimento. O menor e maior comprimento foram apresentados pelos isolados IBCBn 24 (Piracicaba / SP) e IBCBn 46 (Sto. Antônio de Posse / SP), respectivamente.

Visando obter um ponto comum de início e fim entre o múltiplo alinhamento das seqüências, incluindo a espécie *outgroup* (*Caenorhabditis elegans*) e as demais seqüências de outras espécies de *Heterorhabditis* obtidas no GenBank, excluiu-se o excesso de nucleotídeos de ambas extremidades 5' e 3'. Assim, obteve-se uma seqüência consenso de 633 caracteres, dos quais 453 (71,6 %) foram constantes. A frequência média de nucleotídeos entre as espécies de *Heterorhabditis* estudadas foi: 25,3 % (T), 25,3 % (A), 29,7 % (G) e 19,8 % (C).

Na Tabela 3 são apresentadas as porcentagens

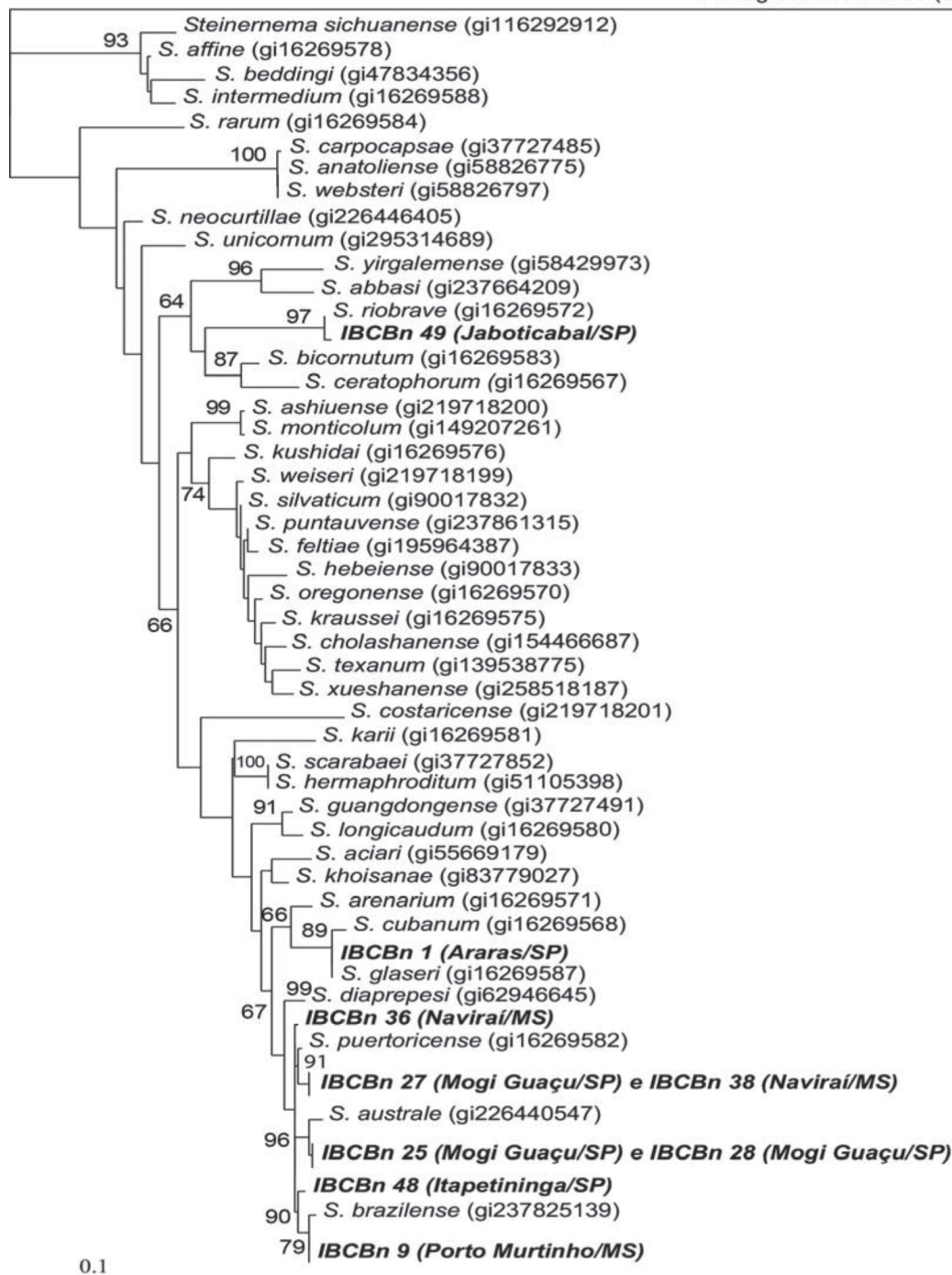


Figura 1 - Árvore filogenética mostrando as relações entre os isolados de *Steinerinema* spp. estudados no presente trabalho, em comparação com outras espécies de *Steinerinema* disponíveis no Genbank (número de acesso entre parênteses), baseada nas sequências da região 28S do rDNA. *Panagrellus redivivus* foi utilizado como *outgroup*.

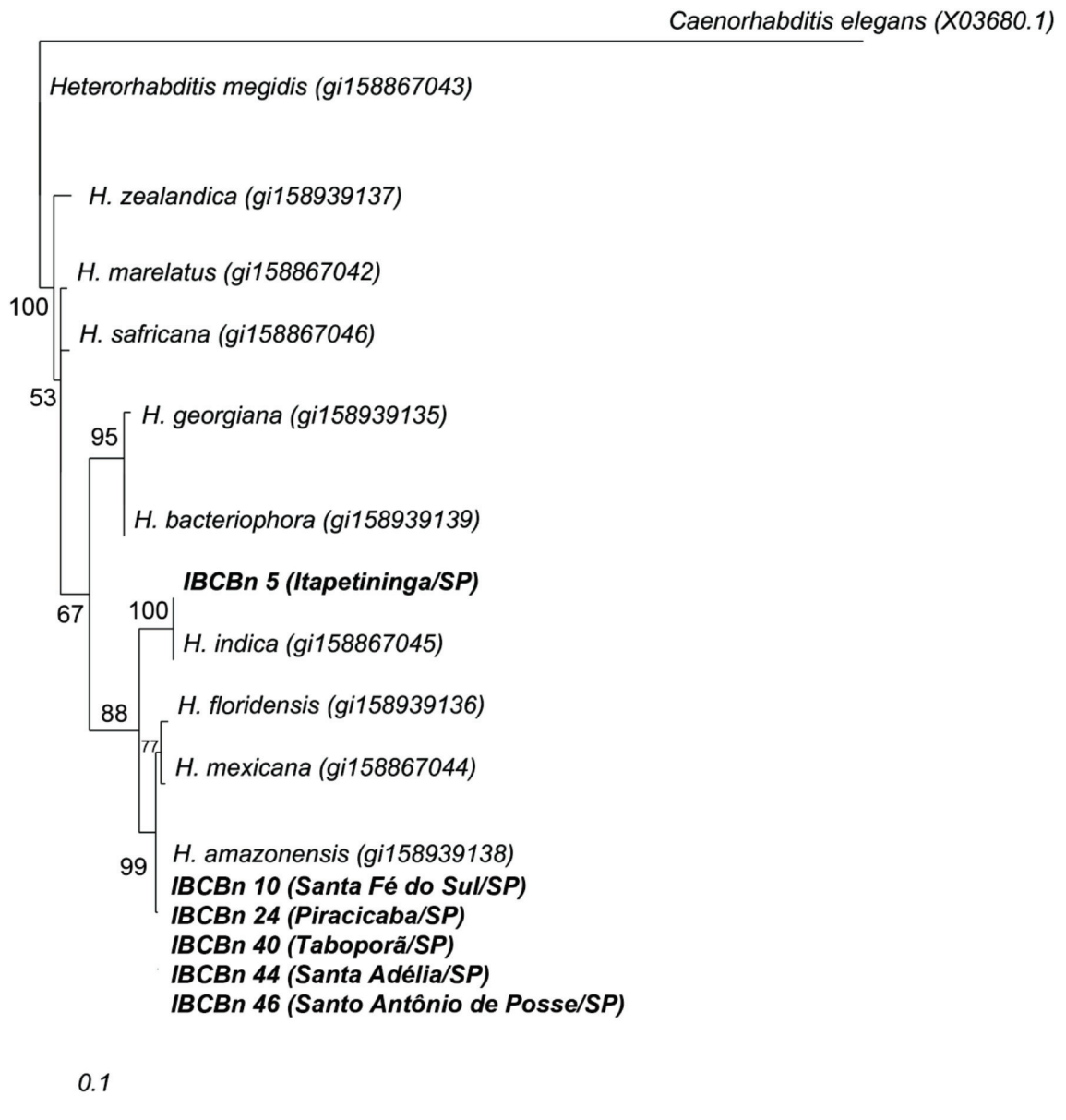
de similaridade entre as sequências dos isolados de *Heterorhabditis* estudados e aquelas depositadas no banco do GenBank. Assim, concluiu-se que o isolado IBCBn 5 (Itapetininga / SP) é coespecífico com *H. indica*, pois foram encontrados 99 % de bases idênticas entre as sequências em análise com as sequências desse organismo. Os demais isolados estudados

apresentaram 99 % a 100 % de similaridade com *H. amazonensis*.

Pela análise filogenética, baseada nas sequências da região D2/D3 (Figura 2), observou-se que as relações entre os isolados de *Heterorhabditis* foram bem definidas, uma vez que houve grande embasamento estatístico para separar claramente as espécies em dois

Tabela 3 - Valores de similaridade (%) entre as sequências de nucleotídeos dos isolados de *Heterorhabditis* estudados e as depositadas no GenBank.

Isolado	Espécie (GenBank)	Número de acesso	Máxima identidade (%)
IBCBn 5	<i>H. indica</i>	GU177840.1	99
IBCBn 10	<i>H. amazonensis</i>	EU099036.1	100
IBCBn 24	<i>H. amazonensis</i>	EU099036.1	100
IBCBn 40	<i>H. amazonensis</i>	EU099036.1	100
IBCBn 44	<i>H. amazonensis</i>	EU099036.1	100
IBCBn 46	<i>H. amazonensis</i>	EU099036.1	99

**Figura 2** - Árvore filogenética mostrando as relações entre os isolados de *Heterorhabditis* spp. estudados no presente trabalho, em comparação com outras espécies de *Heterorhabditis* disponíveis no Genbank (número de acesso entre parênteses), baseada nas sequências da região 28S do rDNA. *Caenorhabditis elegans* foi utilizado como *outgroup*.

subgrupos distintos. A árvore filogenética consenso produziu um subgrupo compreendendo IBCBn 5 (Itapetininga / SP), geneticamente idêntico a *H. indica* e outro subgrupo formado pelos isolados IBCBn 10 (Santa Fé do Sul / SP), IBCBn 24 (Piracicaba / SP), IBCBn 40, IBCBn 44 (Santa Adélia / SP) e IBCBn 46 (Santo Antônio de Posse / SP), todos agrupados com *H. amazonensis*.

Andaló *et al.* (2006), ao descreverem a espécie *H. amazonensis*, observaram que as relações filogenéticas da região ITS entre espécies desse gênero indicaram a formação de um grupo contendo *H. baujardi*, *H. floridensis*, *H. indica* e *H. mexicana* chamado de grupo indica, enquanto que *H. amazonensis* é próxima do grupo formado por *H. floridensis*, *H. baujardi* e *H. mexicana*. Apesar da região de estudo do presente trabalho ser a região 28S do rDNA, foram observadas semelhanças com as análises filogenéticas conduzidas por Andaló *et al.* (2006). Assim a partir da análise da árvore filogenética observou-se a formação de um grupo com alto valor de bootstrap (88 %) compreendendo as espécies *H. indica*, *H. floridensis*, *H. mexicana* e IBCBn 5, enquanto que *H. amazonensis* é próxima desse grupo juntamente com os outros isolados de nematoides estudados.

Andaló *et al.* (2009), a partir do estudo de dois isolados de *H. amazonensis* provenientes de Lavras / MG, verificaram que a espécie mais próxima desses isolados era *H. indica*, a qual possuía um comprimento da sequência similar ao dos isolados estudados, enquanto que as espécies *H. bacteriophora* e *H. georgiana* foram as mais divergentes. Fato confirmado no presente trabalho, em que os grupos formados por *H. indica*, e por *H. bacteriophora* e *H. georgiana* apresentaram valores de *bootstrap* de 88 % e 67 %, respectivamente, em relação ao grupo formado por *H. amazonensis*.

A distribuição geográfica de *Heterorhabditis* spp. indica que esses nematoides são cosmopolitas (Hominick *et al.*, 1996; Griffin *et al.*, 1999; Stock *et al.*, 1999). No entanto, a partir de uma amostragem usando iscas de *G. mellonella* realizada por Choo *et al.* (1995), na Coreia, foram recrutados quatro espécies de *Steinernema* (*S. carpocapsae*, *S. glaseri*, *S. longicaudum* e *S. monticolum*) e uma espécie de *Heterorhabditis* (*H.*

bacteriophora) de 499 amostras.

Segundo Rosa *et al.* (2000), *H. bacteriophora* não exibe nenhuma preferência de habitat, tendo sido isolado a partir de terras agrícolas, de vegetação nativa, florestas, pastagens e pomares. Pesquisas recentes em florestas tropicais indicam que as espécies mais comuns neste tipo de habitat são *H. indica* e *H. baujardi* (Mason *et al.*, 1996; Josephraj Kumar & Sivakumar, 1997; Phan *et al.*, 2003). No presente trabalho, da mesma forma, o isolado IBCBn 5, idêntico filogeneticamente a *H. indica*, foi isolado de uma plantação de *Citrus* sp. localizada em Itapetininga (SP), região subtropical.

Andaló *et al.* (2006) descreveram *H. amazonensis* obtido de solo coletado em uma área florestal na parte norte do Estado do Amazonas, perto da cidade de Benjamin Constant, e mais recentemente, em 2009, esses mesmos autores identificaram dois isolados de nematoides provenientes de Lavras / MG, como sendo *H. amazonensis*. De modo semelhante, foi observado no presente trabalho cinco isolados de *Heterorhabditis* isolados de diferentes habitats e regiões do Estado de São Paulo (Santa Fé do Sul, Piracicaba, Tabaporã, Santa Adélia e Sto. Antônio de Posse) filogeneticamente semelhantes a *H. amazonensis*.

No presente estudo, as técnicas moleculares permitiram a caracterização genética e identificação de parte dos NEPs da Coleção de Nematoides Entomopatogênicos do Banco de Entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu”, do Instituto Biológico. Baseando-se nessas técnicas foi possível diagnosticar duas espécies de *Heterorhabditis*, *H. indica* (IBCBn 5) e *H. amazonensis* (IBCBn 10, IBCBn 24, IBCBn 40, IBCBn 44 e IBCBn 46) e cinco espécies de *Steinernema*: *S. riobrave* (IBCBn 49), *S. glaseri* (IBCBn 1), *S. australe* (IBCBn 25 e IBCBn 28), *S. puertoricense* (IBCBn 27 e IBCBn 38) e *S. brazilense* (IBCBn 9). O isolado de *Steinernema* IBCBn 36, apesar do alto valor de similaridade com *S. puertoricense* e de estar próxima dessa espécie da árvore filogenética construída, merece melhor investigação, principalmente através da integração com a taxonomia clássica. Dentre as espécies identificadas, as seguintes constituiram novas ocorrências no Brasil: *S. australe*, *S. puertoricense* e *S. riobrave*.

Literatura Citada

- ANDALÓ, V., G.F. MOREIRA & A. MOINO Jr. 2009. Studies of two new populations of *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Nematropica*, 39 (2): 199-211.
- ANDALÓ, V., K. NGUYEN & A. MOINO Jr. 2006. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. *Nematology*, 8: 853-867.
- CHOO, H.Y., H.K. KAYA & S.P. STOCK. 1995. Isolation of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Korea. *Japan. Journal of Nematology*, 25: 44-51.
- DOLINSKI, C., F.L. KAMITANI, I.R. MACHADO & C.E. WINTER. 2008. Molecular and morphological characterization of heterorhabditid entomopathogenic nematodes from the tropical rainforest in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103 (2): 150-159.
- DOUCET, M.M.A. & M.E. DOUCET. 1990. *Steinernema ritteri* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae) with a key to the species of the genus. *Nematologica* 36: 257-265.
- FELSENSTEIN, J. & G.A. CHURCHILL. 1996. A hidden Markov model approach to variation among sites in rate of evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 13: 93-104.
- FERRAZ, L.C.C.B. 1998. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (ed). *Controle Microbiano de Insetos*. FEALQ, Piracicaba Brasil, p.541-569.
- GRIFFIN, C.T., I. DIX, S.A. JOYCE, A.M. BURNELL & M.J. DOWNES. 1999. Isolation and characterization of *Heterorhabditis* spp. (Nematoda: Heterorhabditidae) from Hungary, Estonia and Denmark. *Nematology*, 1: 321-332.
- HOMINICK, W.M., A.P. REID, D.A. BOHAN & B.R. BRISCOE. 1996. Entomopathogenic nematodes: biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 317-331.
- JOSEPHRAJKUMAR, A. & C.V. SIVAKUMAR. 1997. A survey for entomopathogenic nematodes in Kanyakumari district, Tmail Nadi, India. *Indian Journal of Entomology*, 59: 45-50.
- MASON, J.M., A.R. RAZAK, & D.J. WRIGHT. 1996. The recovery of entomopathogenic nematodes from selected areas within Peninsular Malaysia. *Journal of Helminthology*, 70: 303-307.
- MRÁČEK, Z., K.B. NGUYEN, P. TAILLER, N. BOAMARE & S. CHEN. 2006. *Steinernema sichuanense* n. sp. (Rhabditida, Steinernematidae) a new species of entomopathogenic nematode from the province of Sichuan, east Tibetan Mts., China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93: 157-169.
- NGUYEN, K.B. & G.C. SMART Jr. 1992. *Steinernema neocurtillis* n. sp. (Rhabditida, Steinernematidae) and a key to species of the genus *Steinernema*. *Journal of Nematology*, 24: 463-477.
- NGUYEN, K.B., D.I. SHAPIRO-ILAN & G. MBATA. 2008. *Heterorhabditis georgiana* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Georgia, USA. *Nematology*, 10: 433- 448.
- NGUYEN, K.B., C.M. GINARTE, L.G. LEITE, J.M. SANTOS & R. HARAKAVA. 2010. *Steinernema braziliense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Mato Grosso, Brazil. *Journal of invertebrate Pathology*, 103: 8-20.
- OLIVEIRA, C.M.G., A.R. MONTEIRO & V.C. BLOK. 2011. Morphological and molecular diagnostics for plant-parasitic nematodes: working together to get the identification done. *Tropical Plant Pathology*, 36: 65-73.
- OLIVEIRA, C.M.G., A.C.Z. MACHADO, R.K. KUBO & R. HARAKAVA. 2009. Diagnose de Aphelenchoides fragariae e Pratylenchus spp. pela aplicação da Tecnologia do Código de Barras do DNA. *Nematologia Brasileira*, 33: 218-225.
- PHAN L.K., S.A. SUBBOTIN, C.N. NGUYEN & M. MOENS. 2003. *Heterorhabditis banjardi* sp. n. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Vietnam with morphometric data for *H. indica* populations. *Nematology*, 5: 367-382.
- POINAR Jr., G.O. 1989. Examination of the neoplectanid species feltiae Filipjev, carpocapsae Weiser and bibionis Bovien (Nematoda: Rhabditida). *Revue de Nematologie*, 12: 375-377.
- POINAR Jr., G.O. 1990. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: GAULGER, R. & H.K. Kaya (eds). *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, Boca Raton, USA. p. 23-61.
- QIU, L., X. YAN, Y. ZHOU, K.B. NGUYEN & Y. PANG. 2005. *Steinernema aciari* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Guangdong, China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 88: 58-69.
- ROMAN, J. & W. FIGUEROA. 1994. *Steinernema puertoricensis* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Puerto Rico. *Journal of Agriculture*, 78: 167-175.
- ROSA, J.S., E. BONIFASSI, J. AMARAL, L.A. LACEY, N. SIMÕES & C. LAUMOND. 2000. Natural occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernema, Heterorhabditis) in the Azores. *Journal of Nematology* 32: 215-222.
- SAUX, F.M., V. VIALARD, B. BRUNEL, P. NORMAND & N.E. BOEMARE. 1999. Polyphasic classification of the genus *Photorhabdus* and proposal of new taxa: *P. luminescens* subsp. *luminescens* subsp. nov., *P. luminescens* subsp. *akhurstii* subsp. nov., *P. luminescens* subsp. *laumondii* subsp. nov., *P. temperata* sp. nov., *P. temperata* subsp. *temperata* subsp. nov. and *P. asymbiotica* sp. nov.. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49: 1645-1656.

- STOCK, S.P., B.M. RRYOR & H.K. KAYA. 1999. Distribution of entomopathogenic nematodes (Steinemematidae, Heterorhabditidae) in natural habitats in California. *Biodiversity and Conservation*, 8: 339-345.
- STRIMMER, K., & A. VON HAESELER. 1996. Quartet puzzling, a quartet maximum likelihood method for reconstructing tree topologies. *Molecular Biology and Evolution*, 13: 964-969.
- WILLIAMS, B.D., B. SCHRANK, C. HUYNH, R. SHOWNKEEN & R.H. WATERSTON. 1992. A genetic mapping system in *Caenorhabditis elegans* based on polymorphic sequence-tagged sites. *Genetics*, 131: 609-624.