



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE
PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

**Nematofauna e qualidade do solo em canaviais
fertirrigados com vinhaça e informações sobre o genoma
de *Pratylenchus brachyurus***

Natalia de Jesus Ferreira Costa

**Recife – PE
2022**

NATALIA DE JESUS FERREIRA COSTA

Nematofauna e qualidade do solo em canaviais fertirrigados com vinhaça e informações sobre o genoma de *Pratylenchus brachyurus*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientadora: Profa. Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa

Coorientadora: Profa. Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado

Coorientadora: Profa. Dra. Rosana Blawid

**RECIFE - PE
SETEMBRO - 2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C837n Costa, Natalia de Jesus Ferreira
Nematofauna e qualidade do solo em canaviais fertirrigados com vinhaça e informações sobre o genoma de *Pratylenchus brachyurus* / Natalia de Jesus Ferreira Costa. - 2022.
90 f. : il.
- Orientadora: Elvira Maria Regis Pedrosa.
Coorientadora: Andressa Cristina Zamboni Machado.
Inclui referências.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2022.
1. Saccharum spp.. 2. Índices ecológicos. 3. Mitogenoma. 4. Sequências repetitivas. 5. Nematóide das lesões radiculares. I. Pedrosa, Elvira Maria Regis, orient. II. Machado, Andressa Cristina Zamboni, coorient. III. Título

Nematofauna e qualidade do solo em canaviais fertirrigados com vinhaça e informações sobre o genoma de *Pratylenchus brachyurus*

NATALIA DE JESUS FERREIRA COSTA

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 27/09/2022

ORIENTADOR(A):

Profa. Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa (UFRPE)

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Andréa Cristina Baltar Barros (UNINASSAU)

Dr. José Mauro da Cunha e Castro (EMBRAPA SEMIÁRIDO)

Profa. Dra. Lilian Margarete Paes Guimarães (UFRPE)

Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz (UFAL)

Aos meus pais, pelo amor incondicional, ensinamentos e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela direção nesta jornada que é a vida.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo apoio institucional, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro, por meio da bolsa de estudos concedida durante a realização do curso.

Ao Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Iapar-Emater-PR), em especial ao Laboratório de Nematologia por ter cedido sua estrutura para o desenvolvimento de uma parte da pesquisa.

A minha querida orientadora, Prof^ª. Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa, pela orientação, conselho, apoio, confiança, paciência, exemplo profissional, e acima de tudo por sua amizade.

As minhas coorientadoras, Prof^ª. Dra. Andressa Machado e Prof^ª. Dra. Rosana Blawid, pela excepcional orientação, amizade, disposição e contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

À Dra. Thais Vicente, pelo apoio, paciência, incrível orientação e por me tranquilizar quando as coisas não davam certo ou fugiam do meu controle. Não tenho palavras para agradecer, tanto pelos ensinamentos como também por sua amizade.

Ao MSc. Santino pela paciência, por ter doado seu tempo para compartilhar seus conhecimentos e por toda ajuda na realização deste trabalho, muito obrigada.

Aos meus pais, que sempre me incentivaram e investiram no meu crescimento, muito obrigada pelo apoio e por acreditarem no meu potencial. E ao meu namorado, pelo amor, apoio e paciência, especialmente nos momentos difíceis.

Aos meus colegas do Laboratório de Fitonematologia da UFRPE, pela amizade e ajuda em diversos momentos dessa jornada.

Aos docentes e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pela colaboração e conhecimento compartilhado.

A todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho, e aos que me acompanharam ao longo dessa jornada, muito obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	7
GENERAL ABSTRACT	8
CAPÍTULO I	9
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	10
1.1 A cultura da cana-de-açúcar.....	10
1.2 Vinhaça.....	12
1.3 Nematoides como bioindicadores de qualidade do solo.....	13
1.4 O gênero <i>Pratylenchus</i> Filipjev, 1936.....	18
1.5 Identificação das espécies do gênero <i>Pratylenchus</i>	20
1.5.1 Sequenciamento do genoma mitocondrial.....	22
1.5.2 Sequências repetitivas de DNA.....	24
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
CAPÍTULO II	38
Nematode community structure in sugarcane fields under continuous vinasse fertiligation	39
CAPÍTULO III	65
Mitochondrial genome and identification of repetitive DNA sequences from a short- reads sequence of the plant-parasitic nematode <i>Pratylenchus brachyurus</i>	66
CAPÍTULO IV	89
CONCLUSÕES GERAIS	90

RESUMO GERAL

A vinhaça da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é um resíduo gerado durante a produção de etanol, com alto teor de nutrientes e matéria orgânica, por esta razão vem sendo fertirrigado nos canaviais, provocando alterações biológicas, químicas e físicas do solo. Problemas fitossanitários afetam drasticamente essa cultura, dentre os quais se destacam as doenças causadas pelos nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.), especialmente *P. brachyurus*, uma das espécies mais importantes em diversas culturas além da cana-de-açúcar. Este estudo teve como objetivos (i) avaliar a estrutura da comunidade de nematoides e a qualidade do solo em canaviais fertirrigados com vinhaça e (ii) sequenciar e montar o genoma mitocondrial (mtDNA) de *P. brachyurus*, além de identificar e caracterizar os elementos repetitivos do genoma completo deste parasita. No estudo da comunidade de nematoides, amostras de solo foram coletadas em quatro canaviais, três dos quais fertirrigados com vinhaça no Estado de Pernambuco, Brasil, realizando-se a identificação/caracterização da nematofauna, e análises físicas e químicas do solo. Para montagem do mtDNA e estudo dos elementos repetitivos do genoma de *P. brachyurus*, o sequenciamento foi realizado na plataforma Illumina NextSeq (2 x100 bp). Nove gêneros de fitonematoides e cinco famílias de nematoides de vida livre foram identificados nos canaviais sem e com fertirrigação da vinhaça. Os nematoides parasitas de plantas foram os mais dominantes, exceto na área com cinco anos de aplicação contínua de vinhaça, enquanto, os predadores e fungívoros foram os menos abundantes. De acordo com a atividade metabólica dos nematoides na cadeia alimentar do solo, os canaviais em estudo apresentam baixa a moderada perturbação. Na área sem aplicação da vinhaça o gênero *Meloidogyne* correlacionou-se positivamente com a condutividade elétrica do solo. O genoma mitocondrial parcialmente montado de *P. brachyurus* (17.369 pb) contém 24 genes, sendo 9 codificadores de proteínas, 13 tRNA e dois rRNA. Mais da metade do genoma de *P. brachyurus* (67,3 %) é composto por sequências de DNA repetitivo, no qual o satDNA foi o elemento repetitivo mais abundante no genoma de *P. brachyurus*. Sendo assim, neste estudo demonstramos que as alterações na estrutura e composição da comunidade de nematoides, podem ter ocorrido devido à fertirrigação da vinhaça nos canaviais, assim como foi o primeiro estudo a realizar a montagem do mitogenoma de *P. brachyurus* e a identificar e caracterizar os elementos repetitivos que compõe o genoma deste fitonematoide.

Palavras-chaves: *Saccharum* spp., Índices ecológicos, Nematoides do solo, Mitogenoma, Sequências repetitivas, Nematoide das lesões radiculares.

GENERAL ABSTRACT

Sugarcane vinasse (*Saccharum* spp.) is a residue from ethanol production, which has a high content of nutrients and organic matter, for this reason, it has been fertigated in sugarcane fields, improving biological, chemical and physical changes in the soil. Phytosanitary problems drastically affect this crop, among which the diseases caused by root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.), stand out *P. brachyurus* is one of the most important species in several crops besides sugarcane. This study aimed to (i) evaluate the nematode community structure and the quality of the soil in sugarcane fields under continuous vinasse fertigation and (ii) sequence and assembly the mitochondrial genome (mtDNA) of *P. brachyurus*, in addition to identify and characterize the repetitive DNA of the complete genome of this parasite. In the study of the nematode community, soil samples were collected in four sugarcane fields, three of which were fertigated with vinasse in the State of Pernambuco, Brazil, carrying out the identification/characterization of the nematofauna, and physical and chemical analysis of the soil. To assembly the mtDNA and study the repetitive elements of the *P. brachyurus* genome, sequencing was performed with Illumina NextSeq platform (2 x100 bp). Nine genera of plant-parasitic nematodes and five families of free-living nematodes were identified in sugarcane fields without and with vinasse fertigation. Plant-parasitic nematodes were dominant, except in the field with five years of continuous vinasse application, while predators and fungivores were the least abundant. According to the metabolic footprints of nematodes in the soil food web revealed that all sugarcane fields can be classified as low to moderately disturbed environments. In the area without vinasse application, the genus *Meloidogyne* was positively correlated with the electrical conductivity of the soil. The partially assembled mitochondrial genome of *P. brachyurus* (17,369 bp) contains 24 genes that comprises 9 protein-coding genes, 13 tRNA, and two rRNA. More than half of the genome of *P. brachyurus* (67.3 %) is composed of repetitive DNA sequences, being satDNA is the most abundant element in the genome of *P. brachyurus*. Therefore, in this study, we highlight those alterations in the structure and composition of the nematode community that can occur due to vinasse fertigation in sugarcane fields, as it was for the first time, the assembly of the mitogenome of *P. brachyurus* was performed and identified and characterized the repetitive elements that make up the genome of this plant-parasitic nematode.

Keywords: *Saccharum* spp., Ecological indices, Soil nematode, Mitogenome, Repetitive sequences, Root-lesion nematode.

CAPÍTULO I

Introdução Geral

NEMATOFAUNA E QUALIDADE DO SOLO EM CANAVIAIS FERTIRRIGADOS COM VINHAÇA E INFORMAÇÕES SOBRE O GENOMA DE *Pratylenchus brachyurus*

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) é uma gramínea originária do continente Asiático que foi introduzida no Brasil durante o período colonial, sendo esta cultura considerada um dos principais segmentos do agronegócio brasileiro (SCHNEIDER *et al.*, 2012). Taxonomicamente, pertence à ordem Cyperales, família Poaceae e gênero *Saccharum* L., cujas principais variedades atualmente cultivadas são híbridos interespecíficos entre as espécies *S. officinarum* L. e *S. spontaneum* L. (COX; HOGARTH; SMITH, 2000; DILLON *et al.*, 2007).

Em relação ao metabolismo, a cana-de-açúcar é classificada como uma planta C4, caracterizada por possuir alta taxa fotossintética e eficiência na conversão de energia luminosa em química. É também adaptada à temperatura alta, luminosidade elevada, tolerante à escassez de água, utilizando em média 120 litros de água por quilograma de massa seca da planta. Possui hábito de crescimento do tipo cespitoso ereto, formando touceiras, cuja parte aérea é composta por colmos, folhas, inflorescências e frutos. A parte subterrânea é formada por raízes fasciculadas e por rizomas, que são responsáveis pela formação dos perfilhos na touceira (SEGATO; MATTIUZ; MOZAMBANI, 2006).

A cana-de-açúcar é uma cultura semiperene, exigindo a renovação do canavial após várias colheitas ou cortes (VITTI *et al.*, 2007). A produção é dividida em dois ciclos básicos, sendo o primeiro denominado de cana-planta, iniciado no plantio e finalizado após a primeira colheita, e o segundo é a cana-soca, cujo início se dá no primeiro corte e se estende, em média, por mais quatro colheitas a partir da rebrota da cana cortada, totalizando 5 a 6 cortes (CHEAVEGATTI-GIANOTTO *et al.*, 2011). A duração do ciclo da cana-planta é de 12 a 18 meses, enquanto a da cana-soca é geralmente de 12 meses (CAIXETA, 2013).

O desenvolvimento da cana-de-açúcar é dividido em quatro estádios, cuja duração de cada estágio pode variar de acordo com o ciclo da cultura: (1) Brotação (30 a 60 dias); (2) Perfilhamento (60 a 90 dias); (3) Desenvolvimento e crescimento (180 a 210 dias) e (4) Maturação (60 a 90 dias) (DINARDO-MIRANDA; VASCONCELOS; LANDELL, 2010; DIOLA; SANTOS, 2012).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, tendo produzido 757.116.855 milhões de toneladas de colmos na safra de 2020 (FAOSTAT, 2020). O cultivo da cana-de-

açúcar é concentrado nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste. O Estado de São Paulo é considerado o maior produtor, responsável por aproximadamente 50% da produção nacional na safra de 2021 (IBGE, 2021). Na região Nordeste, extensas áreas ao longo dos Tabuleiros Costeiros são destinadas ao cultivo da cana-de-açúcar (BARROS *et al.*, 2010; CAVALCANTI *et al.*, 2019). Na safra de 2021, a região Nordeste foi responsável por 8,8% da produção nacional, gerando 53 milhões de toneladas de colmos. O Estado de Pernambuco, nesta mesma safra, foi o oitavo maior produtor do país e o segundo da Região Nordeste, produzindo 14.522.953 toneladas em 258.488 hectares de área plantada, alcançando uma produtividade de 56.616 kg/ha (IBGE, 2021).

Centenas de anos cultivando cana-de-açúcar na região Nordeste levaram ao comprometimento das áreas produtoras, reduzindo a produtividade em razão da compactação, diminuição da qualidade do solo e aumento da incidência de pragas e doenças. Um dos principais problemas fitossanitários é a ocorrência de doenças provocadas por fitonematoides, que ocasionam reduções significativas da produtividade na região Nordeste (CAIXETA *et al.*, 2011; CHAVES *et al.*, 2018). As espécies de fitonematoides que provocam mais danos à cultura são *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *Pratylenchus zae* Graham (JESUS *et al.*, 2020; NORONHA *et al.*, 2017). Entretanto, *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev & S. Stekhoven também tem sido encontrado em amostras de canaviais de diversas localidades, podendo em algumas situações, ser mais agressivo que *P. zae* (BARBOSA *et al.*, 2013). Essas espécies encontram-se amplamente disseminadas nos canaviais nordestinos. Perdas de rendimento da cana-de-açúcar de até 30 % são observadas nos primeiros cortes das cultivares suscetíveis, devido à presença de *P. zae* e *M. javanica* nos canaviais, e de 40 % ocasionadas por *M. incognita* (DINARDO-MIRANDA; GIL; MENEGATTI, 2003).

Apesar de não ocasionarem os mesmos prejuízos que os gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus*, outros gêneros associados à cultura da cana-de-açúcar foram relatados, como: *Helicotylenchus* Steiner, *Mesocriconema* Andrásy, *Paratrichodorus* Siddiqi, *Trichodorus* Cobb (SILVA; CARES; MOURA, 2019), *Xiphinema* Cobb, *Hemicycliophora* De Man, *Tylenchorhynchus* Cobb, *Tylenchulus* Cobb, *Aphelenchoides* Fisher, *Rotylenchulus* Linford & Oliveira e *Scutellonema* Andrásy (BELLÉ *et al.*, 2014; SINGH *et al.*, 2020).

Outro fator limitante da produtividade da cultura na região Nordeste é a água, devido ao déficit hídrico provocado pela distribuição irregular das chuvas durante o ano (SILVA *et al.*, 2014). Portanto, visto que o potencial produtivo da cana-de-açúcar pode sofrer variação, devido às condições edafoclimáticas de cada região, práticas diferenciadas de manejo são necessárias

para garantir uma boa produtividade dos canaviais (CASAGRANDE; VASCONCELOS, 2010; GAROFALO *et al.*, 2020).

1.2 Vinhaça

O Brasil é o maior produtor de etanol de cana-de-açúcar do mundo e ocupa a liderança em tecnologia para sua produção (UNICA, 2021). Entretanto, a produção de etanol está associada à geração de diversos resíduos, ocasionando um problema relacionado à sua destinação. Para atender a alta demanda por etanol, o volume da cana-de-açúcar processada no Brasil triplicou nos últimos 20 anos, provocando um grande problema para o meio ambiente (OLIVEIRA *et al.*, 2020; UNICA, 2021).

A vinhaça é o resíduo mais produzido pelas usinas sucroalcooleiras, sendo gerados cerca de 9 a 14 litros de vinhaça para cada litro de álcool produzido (CARRILHO; LABUTO; KAMOGWA, 2016). A vinhaça é um resíduo líquido composto aproximadamente por 93% de água e 7% de sólidos. É caracterizado por ser um composto ácido (pH 3,5-5,0), possuir alto teor orgânico, coloração marrom escura e odor desagradável (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013; REIS; HU, 2017). Ocasionalmente, contém metais pesados, como cobre, chumbo e zinco, que podem contaminar solos, lençóis freáticos, sedimentos e águas superficiais. Possui também altos teores de cálcio, potássio, magnésio, sulfato, fósforo total e nitrogênio (BARROS *et al.*, 2010; CARRILHO; LABUTO; KAMOGWA, 2016; MORAN-SALAZAR *et al.*, 2016).

O inadequado descarte da vinhaça, pode ocasionar danos tanto em ambientes aquáticos como terrestres, visto que esse resíduo é altamente tóxico para plantas, animais terrestres, aquáticos, microrganismos e microflora de água doce. Possui também um alto potencial poluidor, aproximadamente cem vezes mais que o esgoto doméstico, devido ao alto teor de matéria orgânica, causando um esgotamento de oxigênio, diminuição do pH, alta corrosividade e altos níveis de demanda bioquímica de oxigênio (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013).

Por outro lado, devido ao alto teor de nutrientes e matéria orgânica neste resíduo, a vinhaça tem sido utilizada como fertilizante, melhorando a fertilidade e diminuindo a compactação do solo (MORAN-SALAZAR *et al.*, 2016; NASPOLINI *et al.*, 2017; PRADO; CAIONE; CAMPOS, 2013). O principal destino da vinhaça no Brasil tem sido a aplicação no canavial como fertilizante líquido, promovendo grandes benefícios para a produção agrícola (PARNAUDEAU *et al.*, 2008). A fertirrigação é umas das modalidades mais empregadas de aplicação da vinhaça nos canaviais, que além de servir como irrigação, fertiliza a lavoura, reduzindo assim os custos com fertilizantes químicos (LAIME *et al.*, 2011).

O baixo pH, a alta condutividade elétrica e os elementos químicos presentes na vinhaça de cana-de-açúcar podem causar alterações nas propriedades físicas e químicas do solo, bem como promover efeitos benéficos à microbiota do solo (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013), diminuindo a incidência de pragas e doenças, uma vez que a adição de vinhaça pode mudar significativamente as populações de bactérias e fungos presentes do solo (SANTOS *et al.*, 2009).

O desenvolvimento de estudos sobre os impactos da fertirrigação com vinhaça na estrutura da cadeia alimentar dos nematoides e as relações com as propriedades do solo é escasso no Brasil. A realização desse tipo de estudo é de grande importância para o manejo do sistema solo-planta. A vinhaça, que é produzida em grande quantidade nas usinas, melhora a condição dos solos, que são plantados há centenas de anos com a cultura, favorecendo tanto a microbiota natural, como também o desenvolvimento da cana-de-açúcar. Além disso, auxilia na reposição de água para o sistema solo-planta, que sofre com variações hídricas anuais, comuns na região Nordeste do Brasil.

1.3 Nematoides como bioindicadores de qualidade do solo

Os nematoides representam o grupo de organismos multicelulares mais abundantes e podem ser encontrados no solo, ambiente aquático, plantas e animais (SEESAO *et al.*, 2017). Pertencem ao Reino Animal, Filo Nematoda, possuem corpo tipicamente vermiforme e não apresentam segmentação (FERRAZ, 2018; VIGLIERCHIO, 1991). Atualmente, em 8 classes, 32 ordens e 276 famílias, já foram descritos 3030 gêneros e 28.537 espécies (HODDA, 2022). Podem ser separados em grupos funcionais, de acordo com a sua alimentação e estratégia de vida (BONGERS; BONGERS, 1998; YEATES *et al.*, 1993).

Os grupos tróficos, de acordo com o hábito alimentar, são divididos em: parasitas de plantas ou fitófagos, que se nutrem das raízes e/ou parte aérea; micófagos ou fungívoros, que se alimentam de hifas fúngicas perfurando-as com um estilete rudimentar; bacteriófagos, que se alimentam de células bacterianas; entomopatogênicos, que se alimentam de insetos; predadores, que se alimentam de invertebrados incluindo outros nematoides; e onívoros, que possuem mais de uma fonte alimentar durante o ciclo de vida (YEATES *et al.*, 1993). E, com base na estratégia de vida, podem ser classificados como organismos de vida livre ou parasitas (BONGERS; BONGERS, 1998).

A ampla distribuição dos nematoides em diferentes ambientes, bem como suas diferentes estratégias de vida, coloca-os como peça-chave na produção vegetal, na saúde humana e animal e no equilíbrio do ecossistema (SEESAO *et al.*, 2017). Os nematoides parasitas de plantas são o grupo mais estudado, em decorrência das significativas perdas para a

agricultura mundial ao parasitarem culturas de elevada importância econômica (AGRIOS, 2005; FERRAZ, 2018). O controle é muito dispendioso e eleva significativamente os custos, acarretando redução dos lucros dos produtores. Perdas anuais causadas à produção agrícola internacional são estimadas entre US\$ 100 e 157 bilhões (SINGH; HODDA; ASH, 2013).

Os nematoides ocupam importantes posições na cadeia alimentar do solo. Desempenham papéis fundamentais nos processos ecossistêmicos, como melhorar as propriedades físicas do solo, participar da ciclagem do carbono e do nitrogênio e manter a saúde dos ecossistemas (FERRIS, 2010a; ZHANG *et al.*, 2017). Além disso, possuem vários atributos que permitem o seu uso como bioindicadores de qualidade do solo e de distúrbios ambientais (CARES; HUANG, 2012; NEHER, 2001), como sensibilidade a mudanças no ambiente, variação na temperatura e umidade do solo (FERRIS, BONGERS; GOEDE, 2001; YEATES *et al.*, 1993), presença nos mais diversos tipos de habitats, diversidade taxonômica, trófica e funcional (GOULART, 2007).

Diversas ações antrópicas sobre os ecossistemas naturais, monocultivos, substituição de ambientes naturais por agroecossistemas, aplicação indiscriminada de pesticidas e fertilizantes têm alterado a abundância, diversidade e distribuição das espécies de nematoides e seus serviços ecossistêmicos relacionados (SILVA *et al.*, 2020; YAN *et al.*, 2018). Áreas cultivadas, em comparação com áreas naturais, apresentam menor diversidade de nematoides, sendo o grupo dos parasitas de plantas os mais predominantes (HÁNEL, 2003). Textura e tipo de solo, teor de matéria orgânica, umidade e fatores climáticos também podem provocar mudanças na composição da comunidade de nematoides do solo (FERRIS; SÁNCHEZ-MORENO; BRENNAN, 2012; HODSON *et al.*, 2014; SIEBERT *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2020).

Os solos são considerados complexos ecossistemas que abrigam, em um delicado equilíbrio, uma enorme variedade de plantas, microrganismos e pequenos animais. E é esse equilíbrio microscópico nos solos é que sustenta os agroecossistemas e ecossistemas naturais (WILSON, 1994). Atualmente, os solos encontram-se altamente ameaçados por atividades que atendam à crescente demanda humana, principalmente por alimentos. Apesar das modernas tecnologias existentes, a produção de alimentos tem provocado excessiva degradação e desgaste do solo, devido ao manejo inadequado do solo (EMBRAPA, 2018; GOULART, 2007).

A crescente preocupação com a conservação dos solos impulsionou estudos que desenvolvessem indicadores biológicos de qualidade para avaliar, principalmente, os agroecossistemas. Portanto, investigar a biodiversidade e a estrutura das comunidades dessas áreas é fundamental para: a) identificar o efeito dos sistemas de manejo sobre a biodiversidade do solo; b) construir uma base de dados que auxiliem no estudo do impacto dos sistemas

agrícolas sobre as propriedades físico-químicas, dinâmica da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes, e c) definir estratégias sustentáveis de manejo das áreas produtoras (GOULART, 2007; ZHANG *et al.*, 2018;).

Neste contexto, índices baseados nos nematoides podem ser utilizados para avaliar e descrever a estrutura da cadeia alimentar do solo, o status de nutrientes no ecossistema e a relevância dos canais de decomposição (bacteriano vs. fúngico) (FERRIS; BONGERS; GOEDE, 2001). Bongers (1990) classificou os nematoides em uma escala colonizador-persistente (c-p) que varia de 1 a 5, com base em suas estratégias de vida. Os nematoides c-p1 e 2 são compostos por bacteriófagos e fungívoros, com curto ciclo de vida, alta taxa de fecundidade, rápida reprodução e tolerância a ambientes enriquecidos. Já as guildas cp-3 a cp-5 são compostas principalmente por nematoides onívoros, predadores, fungívoros e alguns bacteriófagos, sendo caracterizados por apresentarem ciclo de vida mais longo, baixa taxa de reprodução, cutícula semipermeável, tornando-os mais sensíveis a poluentes e distúrbios ambientais (BONGERS, 1990; BONGERS; BONGERS, 1998).

Baseado na escala c-p, foram desenvolvidos o índice de maturidade (IM), o índice de maturidade para nematoides com valores c-p variando de 2 a 5 (IM 2-5) e o índice de parasita de plantas (IPP) (BONGERS, 1990). O IM avalia o nível de perturbação do sistema, numa escala que vai de 1 (sistemas perturbados enriquecidos por nutrientes) a 4 (ambientes mais estáveis ou menos perturbados) (BONGERS; FERRIS, 1999; BONGERS, 1990). O IM 2-5 avalia o nível de perturbação levando em consideração apenas os nematoides com valor c-p de 2 a 5, com o intuito de observar se os nematoides colonizadores (c-p1) influenciam o IM, pois estes são considerados oportunistas que se multiplicam rapidamente em resposta à adição de matéria orgânica e diminuem sua população quando ocorre redução do alimento. Desta forma, poderiam não expressar se houvesse mudança nas condições ecológicas do solo a longo prazo (BONGERS; KORTHALS, 1995; BONGERS *et al.*, 1995; NEHER, 2001). O IPP é calculado levando em consideração apenas os nematoides parasitas de plantas, e é inversamente proporcional ao IM. Logo, sob condições de enriquecimento, este índice apresenta um valor maior (BONGERS, 1990; BONGERS; VAN DER MEULEN; KORTHALS, 1997).

As guildas funcionais foram desenvolvidas por Bongers e Bongers (1998), para uma melhor compreensão da biodiversidade e funções dos nematoides no solo, integrando os grupos tróficos (bacteriófagos, fungívoros, predadores, onívoros e parasitos de planta) (YEATES *et al.*, 1993) aos colonizadores-persistentes (c-p), sendo representadas por Ba_x, Fu_x, Pr_x, On_x e Pp_x (x = 1 -5, corresponde ao valor c-p) e as letras aos grupos tróficos (BONGERS; BONGERS, 1998; FERRIS, BONGERS; GOEDE, 2001) (Tabela 1).

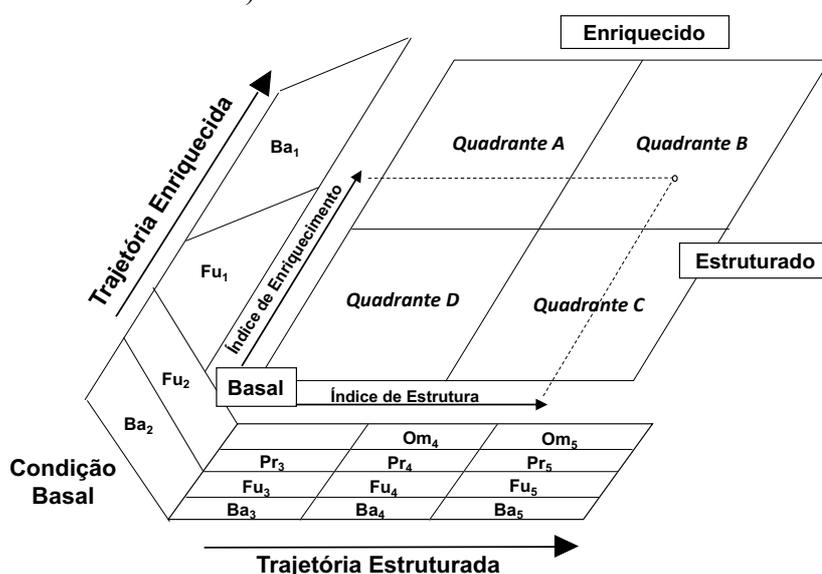
Tabela 1. Diagrama funcional com possíveis combinações entre os grupos tróficos e a estratégia de vida dos nematoides.

	c-p1	c-p2	c-p3	c-p4	c-p5
Parasitas de planta (H)	-	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅
Bacteriófagos (Ba)	Ba ₁	Ba ₂	Ba ₃	Ba ₄	-
Fungívoros (Fu)	-	Fu ₂	Fu ₃	Fu ₄	-
Predadores (Pr)	-	-	Pr ₃	Pr ₄	Pr ₅
Onívoros (On)	-	-	-	On ₄	On ₅

Fonte: Adaptado de Bongers e Bongers (1998).

Ferris, Bongers e Goede (2001) desenvolveram uma análise faunística dos nematodoides para avaliar as condições da cadeia alimentar do solo, classificando-as em: basal, enriquecida e estruturada. A condição basal é observada quando algum tipo de estresse reduz a cadeia alimentar. A enriquecida ocorre devido à disponibilidade de recursos em razão de mudanças favoráveis no ambiente, como a adição de resíduos com alto teor de matéria orgânica ou adubação, ou pela morte dos organismos. Na estruturada, os recursos tornam-se mais abundantes ou a cadeia alimentar está se recuperando de um estresse (Figura 1). Desta forma, as características da cadeia alimentar do solo podem ser descritas por meio do cálculo do índice de enriquecimento (IE), índice de canal (IC), índice basal (IB) e índice de estrutura (IS) (FERRIS, BONGERS; GOEDE, 2001).

Figura 1. Análise faunística dos nematoides indicando a condição da cadeia alimentar do solo. Quadrante A (condição enriquecida, mas desestruturada); Quadrante B (condição enriquecida e estruturada); Quadrante C (limitação de recursos e estruturada); e Quadrante D (recursos esgotados e com estrutura mínima).



Fonte: Adaptado de Ferris; Bongers e Goede (2001).

O IE fornece informações sobre o status do recurso do ecossistema investigado, que é avaliado medindo o número de bacteriófagos e fungívoros oportunistas que respondem rapidamente ao enriquecimento de recursos (fontes C e N), apresentando alto valor quando ocorre aumento da atividade microbiana. As informações sobre o canal de decomposição predominante da matéria orgânica na cadeia alimentar do solo por fungos ou bactérias são fornecidas pelo IC (FERRIS, BONGERS; GOEDE, 2001). Baixos valores de IC indicam que o canal de decomposição bacteriano é o dominante, enquanto altos valores referem-se a uma decomposição dominada por fungos (CESARZ *et al.*, 2015).

O IB avalia a perturbação da cadeia alimentar do solo que foi reduzida em razão de algum estresse, limitações de recursos e contaminação, com base nos grupos de nematoides tolerantes à perturbação. O IS mensura o status e complexidade da cadeia alimentar do solo como estruturada, degradada, em maturação ou perturbada (FERRIS, 2010a; FERRIS, BONGERS; GOEDE, 2001). Altos valores de IS indicam um ecossistema estruturado, enquanto baixos valores representam sistemas simplificados e perturbados (CESARZ *et al.*, 2015).

Esses índices oferecem informações complementares e, quando usados em combinação, revelam informações descritivas e quantitativas da comunidade de nematoide do solo e as condições dos ecossistemas naturais e/ou agrícolas (MONDINO *et al.*, 2009). Apesar de os índices descritos acima serem ferramentas descritivas de grande utilidade para avaliar o status da cadeia alimentar do solo, estes não são capazes de informar sobre funções e serviços dos ecossistemas fornecidos pelos organismos na cadeia alimentar do solo. Sendo assim, a atividade metabólica dos nematoides é a variável capaz de fornecer essas métricas de funções e estrutura do ecossistema, dividindo a quantidade de carbono utilizada pelos nematoides na atividade metabólica (respiração) e no crescimento e produção de ovos (biomassa), ou seja, permite mensurar a magnitude da energia do solo e do fluxo de carbono (FERRIS, 2010b).

A atividade metabólica de enriquecimento é representada pelos nematoides (bacteriófagos cp-1 e fungívoros cp-2) que respondem rapidamente ao enriquecimento dos recursos. A atividade metabólica de estrutura possui uma função reguladora na cadeia alimentar do solo, indicando também a abundância de organismos que possuem funções similares. Já a atividade metabólica funcional resulta da combinação da atividade metabólica de enriquecimento e estrutura (FERRIS, 2010b).

Um alto valor de atividade metabólica de estrutura reflete a atividade de guildas tróficas superiores (cp-3, cp-4 e cp-5) que possuem uma função reguladora na cadeia alimentar do solo, como um potencial supressor de organismos oportunistas. Por outro lado, um maior valor da

atividade metabólica de enriquecimento indica a utilização de biomassa-C pelas guildas tróficas menores (cp-1 e cp-2), em resposta ao enriquecimento de nutrientes (FERRIS, 2010b). A atividade metabólica dos herbívoros, onívoros, predadores, fungívoros e bacteriófagos podem ser mensuradas a partir dos respectivos grupos tróficos de nematoides e indicam fluxo de energia para a cadeia alimentar do solo através de seus respectivos canais (FERRIS, 2010b; FERRIS; SÁNCHEZ-MORENO; BRENNAN, 2012).

A combinação de todas estas ferramentas para a avaliação da cadeia alimentar do solo é um excelente instrumento para o estudo da estrutura da comunidade de nematoides presentes nos mais diversos ambientes. Estudos realizados por Cardoso *et al.* (2015) e Cardoso *et al.* (2016) foram uns dos primeiros e poucos a avaliar a estrutura da comunidade de nematoides por meios dos índices e da atividade metabólica dos nematoides nas áreas de mata e canaviais da região Nordeste do Brasil. Portanto, tendo em vista a escassez de estudos sobre a estrutura da cadeia alimentar dos nematoides em canaviais fertirrigados com vinhaça, faz-se necessário avaliar o status desse agroecossistema e identificar os efeitos oriundos desse manejo.

1.4 O gênero *Pratylenchus* Filipjev, 1936

Os nematoides das lesões radiculares, pertencentes ao gênero *Pratylenchus* Filipjev (1936), são considerados um dos gêneros mais importantes no mundo, para diferentes culturas agrícolas (HANDOO *et al.*, 2021). Esse gênero é composto por muitas espécies polípagas e encontra-se amplamente distribuído geograficamente, tanto em regiões de clima tropical e subtropical, como também em clima temperado (CASTILLO; VOVLAS, 2007; GOULART, 2008).

A primeira espécie desse gênero foi encontrada na Holanda e na Inglaterra, sendo originalmente descrita como *Tylenchus pratensis* por De Man, 1880 [= *Pratylenchus pratensis* (De Man, 1880) Filipjev, 1936]. Após a publicação de uma revisão taxonômica (BAYLIS; DAUBNEY, 1926), as espécies atualmente incluídas no gênero *Pratylenchus* deixaram de pertencer ao gênero *Tylenchus* Bastian, 1865 (FERRAZ, 1999). No Brasil, o primeiro relato desse gênero foi em 1928, sendo registrada a ocorrência de *Tylenchus coffeae*, *T. coffeae* var. *brevicauda*, *T. musicola* [= *P. coffeae*] e *T. penetrans* [= *P. penetrans*] em lavouras de café, banana e laranja no Estado de São Paulo (CAFÉ FILHO; HUANG, 1988). A classificação taxonômica dos nematoides das lesões radiculares de acordo com De Ley e Blaxter (2002):

Reino: Animalia

Filo: Nematoda Potts, 1932

Classe: Chromadorea Inglis, 1983

Subclasse: Chromadoria Pearse, 1942

Ordem: Rhabditida Chitwood, 1933

Subordem: Tylenchina Thorne, 1949

Superfamília: Tylenchoidea Örley, 1880

Família: Pratylenchidae Thorne, 1949

Subfamília: Pratylenchinae Thorne, 1949

Gênero: *Pratylenchus* Filipjev, 1936

O gênero *Pratylenchus* ocupa o segundo lugar em importância econômica para as plantas cultivadas no Brasil. As espécies de maior ocorrência associadas a diferentes culturas são *P. brachyurus*, *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhover, 1941, *P. jaehni* Inseerra et al., 2001, *P. penetrans* (Cobb, 1917) Chitwood & Oteifa, 1952, *P. vulnus* Allen & Jensen, 1951 e *P. zae* Graham, 1951 (CASTILLO; VOVLAS, 2007; GONZAGA et al., 2016).

P. brachyurus é uma espécie polífaga, com ação patogênica sobre várias culturas agrícolas de grande interesse econômico. Os adultos dessa espécie medem 0,5 a 0,7 mm de comprimento, possuem região labial angulosa e reproduzem-se por partenogênese (FERRAZ, 2009; GONZAGA et al., 2016). No Brasil, as culturas mais atacadas por *P. brachyurus* são: soja (*Glycine max* (L.) Merr., algodão (*Gossypium* spp.), milho (*Zea mays* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merr.), arroz (*Oryza sativa* L.), cana-de-açúcar, café (*Coffea arabica* L.) e banana (*Musa* spp.) (GOULART, 2008).

As espécies de *Pratylenchus* são parasitos obrigatórios, endoparasitos migradores, que penetram através ou entre as células do córtex e se alimentam do conteúdo celular, com auxílio da liberação de enzimas e toxinas no córtex radicular, provocando a morte das células e o aparecimento de lesões necróticas nas raízes. Em decorrência dos danos provocados pelas lesões radiculares, a planta hospedeira tem o crescimento reduzido, amarelecimento das folhas, redução da produtividade e se torna mais suscetível ao estresse hídrico (COSTA et al., 2019; JONES et al., 2013; LORDELLO, 1984).

Os nematoides das lesões radiculares possuem corpo fusiforme que varia de 0,3 a 0,9 mm de comprimento, com região labial baixa e estilete com comprimento médio de 16 µm, cuja forma dos nódulos basais pode variar de acordo com a espécie. As glândulas esofagianas se sobrepõem ventralmente ao intestino, e as fêmeas são monodélficas e prodelfas, sendo que a vulva se situa no terço posterior do corpo, geralmente em 70-80% do comprimento total do corpo (ORLANDO et al., 2020; SOUSA, 2018).

O ciclo de vida de *Pratylenchus* spp. dura em média de três a nove semanas, dependendo da espécie e das condições ambientais, como temperatura e umidade. Quando as condições são favoráveis e o hospedeiro é suscetível, o ciclo de vida é mais curto. O ciclo é dividido nas fases: ovo, quatro estádios juvenis (J1 a J4) e adulto (macho ou fêmea) (JONES; FOSU-NYARKO, 2014).

Todos os estádios móveis das espécies desse gênero podem infectar a planta hospedeira. As fêmeas dessas espécies produzem 70 a 120 ovos, depositando-os preferencialmente nas raízes, um por um, e ocasionalmente no solo (FERRAZ; BROWN, 2016; GONZAGA *et al.*, 2016). A reprodução das espécies de *Pratylenchus* pode ocorrer por anfimixia, dependendo da presença de machos, ou por partenogênese mitótica ou meiótica (assexual), quando os machos são raros ou inexistentes (JONES; FOSU-NYARKO, 2014).

A umidade e a textura do solo são os fatores que mais influenciam na distribuição das espécies de *Pratylenchus*, sendo que a maioria das espécies está associada a solos arenosos, devido a maior disponibilidade de oxigênio, e a solos com teor de umidade em torno de 70 a 80% da capacidade de campo (CASTILLO; VOVLAS, 2007; WALLACE, 1973).

As espécies de *Pratylenchus* podem causar perdas de rendimento de até 85% da produção, e perdas ainda maiores quando estes nematoides interagem sinergicamente com outros fitopatógenos habitantes do solo (BUCKI *et al.*, 2020; NICOL *et al.*, 2011), como os fungos do gênero *Fusarium* Link, 1809 (HAJIHASSANI; SMILEY; AFSHAR, 2013) e *Verticillium* Nees, 1816 (HARDING; WICKS, 2007). O grande número de espécies de *Pratylenchus*, bem como o grande número de hospedeiros, torna este gênero muito importante sob o ponto de vista econômico (HANDOO *et al.*, 2020).

Portanto, tendo em vista a importância desse gênero para o agronegócio mundial, medidas de manejo devem ser adotadas antes do estabelecimento de uma nova cultura, a fim de reduzir as populações do fitonematoide na área, diminuindo assim prejuízos futuros decorrentes do parasitismo desse patógeno (MACEDO *et al.*, 2012). Uma vez estabelecido em uma área, as práticas de manejo visando à erradicação do nematoide são consideradas complexas. A melhor prática de manejo é a preventiva, evitando assim a entrada e o estabelecimentos desses patógenos em áreas isentas (FERRAZ *et al.*, 2012; FERRAZ; FREITAS, 2004).

1.5 Identificação das espécies do gênero *Pratylenchus*

O gênero *Pratylenchus* possui atualmente mais de 100 espécies descritas, parasitando uma ampla gama de hospedeiros. A tomada de decisões no manejo desses fitonematoides em

áreas infestadas, depende da correta identificação em nível de espécie (ASSUNÇÃO *et al.*, 2019; JANSSEN *et al.*, 2017). A separação taxonômica entre as espécies do gênero *Pratylenchus* é uma tarefa complexa, devido à grande variabilidade intraespecífica e ao reduzido número de caracteres empregados para o diagnóstico a nível de espécie (LOOF, 1960; LUC, 1987).

A identificação de espécies de *Pratylenchus* com base nos caracteres morfológicos e morfométricos ainda é bastante utilizada para fins taxonômicos; porém, hoje já existem técnicas mais precisas baseadas em análises biomoleculares (FERRAZ; BROWN, 2016; GOULART, 2008). A taxonomia das espécies do gênero *Pratylenchus* é geralmente realizada com base na morfologia das fêmeas adultas, pois estas possuem mais caracteres diagnósticos do que os machos (LOOF, 1991).

Os caracteres morfométricos que definem as espécies de nematoides podem variar não apenas entre espécimes de populações distintas, mas também entre indivíduos pertencentes à mesma população. Fatores ambientais, como isolamento geográfico, temperatura e planta hospedeira, influenciam parcialmente as diferenças morfométricas existentes entre as populações de uma espécie (DOUCET *et al.*, 2001; OLOWE; CORBETT, 1984). Recente estudo demonstrou claramente esse problema, no qual foi detectada a presença de diferentes morfotipos dentro de uma única espécie (*Pratylenchus bolivianus* Corbett, 1983), sugerindo que várias das características morfológicas para diagnóstico podem ser dependentes da estratégia reprodutiva de uma população (TROCCOLI *et al.*, 2016).

Diante das limitações da identificação morfológica clássica, a utilização de técnicas moleculares e análises filogenéticas, caminham em direção para uma identificação através da taxonomia integrativa para espécies de *Pratylenchus* (GONZAGA *et al.*, 2016). Com o advento do diagnóstico molecular baseado em técnicas de PCR (reação em cadeia da polimerase), novas espécies e reclassificações têm sido realizadas por meio da análise do DNA, pois permitem o estudo do genótipo do indivíduo e possibilitam a avaliação de hipóteses evolutivas. O DNA pode ser extraído a partir de pequenas quantidades de tecido de qualquer estágio de desenvolvimento e de ambos os sexos (GONZAGA *et al.*, 2016; JONES; FOSU-NYARKO, 2014; MENDONÇA *et al.*, 2015).

A análise de sequências a partir do DNA ribossomal (rDNA) e do DNA mitocondrial (mtDNA) tem sido a mais utilizada para a identificação de espécies de *Pratylenchus* (SULTANA *et al.*, 2013; JONES *et al.*, 2013). A análise comparativa de regiões do rDNA é uma ferramenta bastante útil para a identificação de espécies de *Pratylenchus*, pois, no rDNA de eucarióticos, ocorre a repetição dos genes 18S, 5.8S e 28S, separados por duas regiões

intergênicas transcritas (ITS1 e ITS2), e cada repetição é separada por um espaçador transcrito externo (ETS) e por um espaçador intergênico (IGS) (CASTILLO; VOVLAS, 2007; JONES; PHILLIPS; ARMSTRONG, 1997). Os genes do rDNA são altamente conservados e evoluem lentamente, enquanto as regiões ITS evoluem rapidamente. Desta forma, os genes são mais indicados para estudos de taxa mais distantes e, as regiões ITS, para discriminar espécies próximas e subespécies (JONES; FOSU-NYARKO, 2014).

O emprego de genes do mtDNA como marcadores filogenéticos para o estudo de populações, análise e identificação a nível de gênero e espécie tem como vantagem o fato de ser facilmente amplificado, altamente conservado entre animais, com raras duplicações, sem íntrons e regiões intergênicas muito curtas (GISSI; IANNELLI; PESOLE, 2008). As sequências do mtDNA mais utilizadas são os genes citocromo c oxidase, subunidade I (COI) e o citocromo b (ROBERTS *et al.*, 2016).

Tendo em vista as significativas perdas provocadas pelo gênero *Pratylenchus* em culturas de grande importância econômica cultivadas ao redor do mundo, a taxonomia integrativa, a qual emprega critérios morfológicos e moleculares, tem agregado maior confiabilidade ao processo de identificação e descrição, além de melhorar o entendimento das relações filogenéticas entre as espécies desse gênero (CASTILLO; VOVLAS, 2007; GONZAGA *et al.*, 2016).

1.5.1 Sequenciamento do genoma mitocondrial

O genoma mitocondrial (mitogenoma) das células eucarióticas desempenham um papel fundamental no metabolismo e na morte celular programada, evoluindo independentemente do genoma nuclear e formam uma unidade de informação genética. O mitogenoma tem sido amplamente empregado na identificação de espécies e estudos evolutivos de nematoides parasitas de plantas, devido à abundância, pequeno tamanho, herança materna, taxa evolutiva rápida e ausência de recombinação genética (LIU *et al.*, 2013; SULTANA *et al.*, 2013; SUN *et al.*, 2014b).

O mitogenoma dos nematoides é similar aos de outros metazoários em vários aspectos, mas possuem algumas características incomuns, como alta variação na conservação da ordem dos genes e a presença ocasional de múltiplos cromossomos (KERN; KIM; PARK, 2020; ROBERTS *et al.*, 2016). O genoma mitocondrial dos nematoides é geralmente uma única molécula circular, variando em tamanho de 12 a 22 kb, e contendo 36 a 37 genes. Esses genes codificam 12-13 proteínas (*cox1-cox3*, *cytb*, *nad1-nad6*, *nad4L*, *atp6* e *atp8*), expressam dois tipos de RNA ribossomal (rRNA) (*rrnS* e *rrnL*) e 22 tipos de RNA de transferência (tRNA)

(JACOB *et al.*, 2009; KERN; KIM; PARK, 2020). Outra característica é que os mtDNA dos nematoides geralmente não possuem a subunidade 8 de ATPase (*atp8*) e contém moléculas de rRNA encurtadas e tRNAs truncados (HU; GASSER, 2006).

Os completos mitogenomas de mais de 80 espécies de nematoides encontram-se depositados no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (SUN *et al.*, 2014b). Dentre as espécies de fitonematoides com o mitogenoma completo sequenciado, estão algumas de grande importância, como: *Aphelenchoides besseyi* (SUN *et al.*, 2014b), *Meloidogyne incognita*, *M. chitwoodi* (HUMPHREYS-PEREIRA; ELLING, 2014), *M. graminicola* (SUN *et al.*, 2014a), *Bursaphelenchus xylophilus*, *Pratylenchus vulnus* (SULTANA *et al.*, 2013), *Xiphinema americanum* (HE *et al.*, 2005), *Heterodera glycines* (GIBSON *et al.*, 2011) e *Radopholus similis* (JACOB *et al.*, 2009).

Para o gênero *Pratylenchus*, apenas *P. vulnus* teve seu genoma mitocondrial completamente sequenciado. O mitogenoma de *P. vulnus* possui um tamanho de 21,656 bp, contém 36 genes, sendo 12 genes codificadores de proteínas, sem o gene *atp8*. Possui também 22 tRNA e 2 rRNA, todos codificados na mesma direção. A composição de nucleotídeos do genoma do mtDNA de *P. vulnus* foi de 42,1% T, 31,8% A, 16,3% G e 9,8% C (SULTANA *et al.*, 2013).

Os genes mitocondriais evoluem mais rápido que os genes ribossômicos, o que os tornam particularmente úteis para o desenvolvimento de marcadores genéticos para a identificação de espécies e os estudos de variabilidade intraespecífica (HUMPHREYS-PEREIRA; ELLING, 2014). O sequenciamento de genoma mitocondrial fornece dados que podem ser empregados em diversos estudos evolutivos e filogenéticos. A análise comparativa da informação do genoma mitocondrial dos nematoides tem servido para resolver relações em diferentes níveis de divergência, dentro do filo Nematoda (SULTANA *et al.*, 2013).

Embora os pesquisadores tenham utilizado a variação de sequências de mtDNA para descrever a diversidade genética e a estrutura genética populacional em vertebrados e artrópodes desde o final da década de 1970 (AVISE, 1994), os primeiros estudos sobre variação intraespecífica da sequência de mtDNA em nematoides não foram publicados até o início da década de 1990 (BLOUIN, 1999). As primeiras sequências completas do genoma mitocondrial de nematoides foram de *Caenorhabditis elegans* e de *Ascaris suum* (OKIMOTO *et al.*, 1992).

Avanços recentes nas tecnologias de sequenciamento, chamados *Next Generation Sequencing* (NGS), revolucionaram o sequenciamento de genomas organelares. Até então, a estratégia mais utilizada para montagem do mitogenoma era *long-range PCR* (HAHN; BACHMANN; CHEVREUX, 2013). Uma das plataformas de sequenciamento mais utilizadas

é a Illumina, que permite gerar dezenas de milhões de segmentos curtos de DNA (leituras de até 2x150 bp) (ILLUMINA Inc., 2022), que pode ser usado para o sequenciamento do genoma mitocondrial. Essa tecnologia tem sido utilizada para a montagem do genoma mitocondrial de vários metazoários, dentre eles fitonematóides como: *Meloidogyne graminicola* (BESNARD *et al.*, 2014), *Hoplolaimus columbus* (MA *et al.*, 2020) e *H. galeatus* (MA *et al.*, 2022).

1.5.2 Sequências repetitivas de DNA

O complexo genoma de eucarióticos, incluindo o grupo dos metazoários, é composto por vários tipos de sequências repetitivas, que são fragmentos de DNA presentes em múltiplas cópias no genoma, podendo representar até 90% do seu tamanho (MEHROTRA; GOYAL, 2014; NOVÁK; NEUMANN; MACAS, 2020).

Por muito tempo, as sequências repetitivas do genoma eram consideradas “DNA lixo”, sem função conhecida (LÓPEZ-FLORES; GARRIDO-RAMOS, 2012). Atualmente, sabe-se que, além de exercer influência no tamanho do genoma, as sequências repetitivas facilitam a rápida reestruturação do genoma e afetam a evolução de gene e do genoma de várias maneiras (BENNETZEN; WANG, 2014; GARRIDO-RAMOS, 2017). Além do mais, estão envolvidas em vários processos como recombinação, movimento e pareamento cromossômicos, condensação centromérica, pareamento de cromátides irmãs, interação de proteínas da cromatina, ligação de histonas, determinação da estrutura cromossômica, evolução cariotípica, regulação da expressão gênica e resposta do genoma a estímulos ambientais e mudanças fisiológicas (MEHROTRA; GOYAL, 2014; SHAPIRO; VON STERNBERG, 2005).

O DNA repetitivo é o componente mais importante na evolução do genoma, e pode ser classificado de acordo com a sua estrutura e localização, incluindo: repetições em *tandem* e repetições dispersas [elementos transponíveis (ETs)] (BISCOTTI; OLMO; HESLOP-HARRISON, 2015; PAMPONÉT *et al.*, 2019). As repetições em *tandem* incluem DNA satélite (satDNA), genes *tandem* e DNA ribossomal (rDNA) (LÓPEZ-FLORES; GARRIDO-RAMOS, 2012). No grupo das repetições dispersas, estão incluídos os elementos transponíveis (ETs), como transposons e retrotransposons, genes de RNA de transferência (tRNA), pseudogenes e genes parálogos (RICHARD; KERREST; DUJON, 2008).

As sequências de DNA satélite, com base no comprimento da unidade de repetição e no tamanho do arranjo, podem ser classificadas em três grupos: (i) microssatélites com repetições de 2–5 bp e um arranjo de 10–100 unidades; (ii) minissatélites com repetições de 6–100 pb, e arranjo de 0,5–30 kb e (iii) DNA satélite (satDNA) com uma unidade de repetição variável e rica em AT, formando arranjos de até 100 Mb (MEHROTRA; GOYAL, 2014).

Os satDNA representam um dos componentes principais da heterocromatina, e podem estar associadas a específicas funções em cromossomo, como centrômeros e telômeros (RAO *et al.*, 2010). São encontrados principalmente nas regiões centroméricas e subteloméricas e possuem rápida evolução. A quantidade e o tipo de satDNA variam muito entre diferentes espécies, bem como dentro de um mesmo gênero. A quantidade pode variar até mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie (GARRIDO-RAMOS, 2017).

Os elementos transponíveis (ETs) são sequências de DNA capazes de se mover de uma posição para outra dentro do mesmo genoma. Os ETs geralmente são os elementos repetitivos mais abundantes e podem ser divididos em duas classes, de acordo com seu mecanismo de transposição: (i) elementos de classe I ou retrotransposons, que se movem no genoma por uma transcrição reversa de um intermediário de RNA, produzindo uma nova cópia em cada ciclo de replicação; (ii) elementos de classe II ou transposons, que são DNAs que se movem dentro do genoma por um mecanismo chamado “cortar e colar” (“*cut-and-paste*”) (LÓPEZ-FLORES; GARRIDO-RAMOS, 2012; WICKER *et al.*, 2007). Os retrotransposons podem ser divididos em dois grandes grupos: retrotransposons com “repetição terminal longa” (LTR), que são considerados os elementos mais abundantes em plantas; e retrotransposons sem LTR (non-LTR), que são mais frequentes em mamíferos (PAMPONÉT *et al.*, 2019; RICHARD; KERREST; DUJON, 2008).

As sequências repetitivas acumulam variações na sequência e número de cópias durante a evolução. Por esta razão, são ferramentas importantes para estudos taxonômicos e filogenéticos. Sendo assim, conhecer as sequências repetitivas do DNA auxilia na compreensão da organização, evolução e comportamento dos genomas eucarióticos (KIDWELL; LISCH, 2001; MEHROTRA; GOYAL, 2014). Na era pós-genômica, com a introdução da tecnologia de sequenciamento de última geração (NGS) e o desenvolvimento de ferramentas de bioinformática, é possível avaliar genomas complexos para analisar sequências repetitivas e decifrar funções, ainda desconhecidas das sequências repetitivas (MACAS *et al.*, 2015; MEHROTRA; GOYAL, 2014).

Em relação ao estudo dos elementos repetitivos no Filo Nematoda, vários e detalhados trabalhos foram realizados com a espécie modelo *Caenorhabditis elegans* (LEYVA-DÍAZ *et al.*, 2017; NACLERIO *et al.*, 1992; SURZYCKI; BELKNAP, 2000). Recentemente, estudos sobre o DNA repetitivo também foram realizados com nematoides parasitas de plantas, como *M. graminicola* (PHAN *et al.*, 2020), *H. galeatus* (MA *et al.*, 2022), *H. glycines* (MASONBRINK *et al.*, 2019) e *H. columbus* (MA *et al.*, 2020).

Embora o número de publicações com genomas rascunho (*draft genome*) de nematoides tenha aumentado significativamente nos últimos anos, a fração repetitiva desses genomas é pouco estudada na maioria dos nematoides, principalmente no grupo dos parasitas de plantas (MA *et al.*, 2022). Ainda há um grande número de novos elementos repetitivos associados ao genoma de fitonematoides que não foram anotados, devido aos escassos estudos com esse foco, surgindo assim a necessidade de que mais estudos dessa natureza sejam realizados para uma melhor compreensão do genoma desses organismos.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5^a ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

ASSUNÇÃO, M. C.; SOUZA JUNIOR, F. J. C.; SANTOS NETO, J. C.; MELLO, A. A. R.; SILVA, L. R. B. O. *Pratylenchus* spp.: morphological, molecular characterization and population density in banana (*Musa* spp.) in Pernambuco. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 30, p. 445-449, 2019.

AVISE, J. C. **Molecular markers, natural history and evolution**. New York: Chapman Hall, 1994. 511 p.

BARBOSA, B. F. F.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, J. C.; SOARES, P. L. M.; RUAS, A.R.; CARVALHO, R.B. Aggressiveness of *Pratylenchus brachyurus* to sugarcane, compared with key nematode *P. zaeae*. **Nematropica**, Bradenton, v. 43, n. 1, p. 119-130, 2013.

BARROS, R. P.; VIÉGAS, P. R. A.; SILVA, T. L.; SOUZA, R. M.; BARBOSA, L.; VIÉGAS, R. A.; VASCONCELLOS, M. C. V.; MELO, A. S. Alterações em atributos químicos de solo cultivado com cana-de-açúcar e adição de vinhaça. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v. 40, n. 3, p. 341–346, 2010.

BAYLIS, H. A.; DAUBNEY, R. **A synopsis of the families and genera of Nematoda**. London: Trustees of the British museum, 1926. 277 p.

BELLÉ, C.; KULCZYNSKI, S. M.; GOMES, C. B.; KUHN, P. R. Fitonematoides associados à cultura da cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul, Brasil. **Nematropica**, Bradenton, v. 44, n. 2, p. 207-217, 2014.

BENNETZEN, J. L.; WANG, H. The contributions of transposable elements to the structure, function, and evolution of plant genomes. **Annual Review of Plant Biology**, San Mateo, v. 65, p. 505–530, 2014.

BESNARD, G.; JUHLING, F.; CHAPUIS, E.; ZEDANE, L.; LHUILLIER, E.; MATEILLE, T.; BELLAFFIORE, S. Fast assembly of the mitochondrial genome of a plant parasitic nematode (*Meloidogyne graminicola*) using next generation sequencing. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 337, n. 5, p. 295-301, 2014.

- BISCOTTI, M. A.; OLMO, E.; HESLOP-HARRISON, J. S. P. Repetitive DNA in eukaryotic genomes. **Chromosome Research**, Durham, v. 23, n. 3, p. 415-420, 2015.
- BLOUIN, M. S. Mitochondrial DNA diversity in nematodes. **Journal of Helminthology**, Cambridge, v. 72, p. 285-289, 1998.
- BONGERS, T.; BONGERS, M. Functional diversity of nematodes. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 10, n. 3, p. 239-251, 1998.
- BONGERS, T.; FERRIS, H. Nematode Community structure as a bioindicator in environmental monitoring. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 14, p. 224-228, 1999.
- BONGERS, T.; GOEDE, R. G. N.; KORTHALS, G. W.; YEATES, G. W. Proposed changes of c-p classification for nematodes. **Russian Journal of Nematology**, Moscow, v. 3, p. 61-62, 1995.
- BONGERS, T.; KORTHALS, G. The Behaviour of MI and PPI under enriched conditions. **Nematologica**, Leiden, v. 41, p. 286, 1995.
- BONGERS, T. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. **Oecologia**. Berlin, v. 83, p. 14-19, 1990.
- BONGERS, T.; VAN DER MEULEN, H.; KORTHALS, G. Inverse relationship between the nematode maturity index and plant parasite index under enriched nutrient conditions. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 6, p.195-199, 1997.
- BUCKI, P.; QING, X.; CASTILLO, P.; GAMLIEL, A.; DOBRININ, S.; ALON, T.; MIYARA, S. B. The genus *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae) in Israel: from taxonomy to control practices. **Plants**, Adelaide, v. 9, n. 11, p. 1-18, 2020.
- CAFÉ FILHO, A. C.; HUANG, C. S. Nematoides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 3, p. 232-235, 1988.
- CAIXETA, L. B.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P.; BARROS, P. A.; ROLIM, M. M. Changes in soil and nematode community after sugarcane harvest and vinasse application. **Nematropica**, Bradenton, v. 41, n. 2, p. 271-280, 2011.
- CAIXETA, S. P. **Produção e valor nutritivo de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas a diferentes lâminas de água e doses de potássio, na região do alto Paranaíba, MG**. 2013, 66 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- CARDOSO, M. O.; PEDROSA, E. M. R.; FERRIS, H.; ROLIM, M. M.; VICENTE, T. F. S., DAVID, M. F. L. Comparing sugarcane fields and forest fragments: the effect of disturbance on soil physical properties and nematode assemblages. **Soil Use Management**, Beijingv, v. 31, p. 397-407, 2015.
- CARDOSO, M. S. O.; PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, M. M.; OLIVEIRA, L. S. C.; SANTOS, A. N. Relationship between nematode assemblages and physical properties across land use types. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 41, p. 107-114, 2016.

CARES, J. E.; HUANG, S. P. Nematoides do solo. *In*: MOREIRA, F. M. S.; HUISING, E. J.; BIGNELL, D. E. (ed.). **Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade**. Lavras: Editora UFLA, 2012. p. 151-163.

CARRILHO, E. N. V. M.; LABUTO, G.; KAMOGWA, M. Y. Destination of vinasse, a residue from alcohol industry: resource recovery and prevention of pollution. *In*: PRASAD, M. N. V.; SHIH, K. (ed.). **Environmental materials and waste: resource recovery and pollution prevention**. London: Academic Press, 2016. p. 21-43.

CASAGRANDE, A. A.; VASCONCELOS, A. C. M. Fisiologia da parte aérea. *In*: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2010. p. 57-78.

CASTILLO, P.; VOVLAS, N. **Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management**. Leiden: Brill, 2007. 529 p.

CAVALCANTI, R. Q.; ROLIM, M. M.; LIMA, R. P.; TAVARES, U. E.; PEDROSA, E. M. R.; GOMES, I. F. Soil physical and mechanical attributes in response to successive harvests under sugarcane cultivation in Northeastern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Oxford, v. 189, p. 140–147, 2019.

CESARZ, S.; REICH, P. B.; SCHEU, S.; RUESS, L.; SCHAEFER, M.; EISENHAEUER, N. Nematode functional guilds, not trophic groups, reflect shifts in soil food webs and processes in response to interacting global change factors. **Pedobiologia**, Jena, v. 58, n. 1, p. 23-32, 2015.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P.; MARANHÃO, S. R. V. L.; CARDOSO, M. O. Management of plant parasitic nematodes on sugarcane under tropical conditions. *In*: SINGH, P.; TIWARI, A. K. (ed.). **Sustainable Sugarcane Production**. 1th ed. New Jersey: Apple Academic Press, 2018. p. 1-448.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; ABREU, H. M. C.; ARRUDA, P.; BESPALHOK FILHO, J. C.; BURNQUIST, W. L.; CRESTE, S.; CIERO, L.; FERRO, J. A.; FIGUEIRA, A. V. O.; FILGUEIRAS, T. S.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; GUZZO, E. C.; HOFFMANN, H. P.; LANDELL, M. G. A.; MACEDO, N.; MATSUOKA, S.; REINACH, F. C.; ROMANO, E.; SILVA, W. J.; SILVA FILHO, M. C.; ULIAN, E. C. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biology**, New York, v. 4, n. 1, p. 62-89, 2011.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; ESCHER, J. P.; CORREIA, J. E.; MARINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse: environmental implications of its use. **Waste Management**, Oxford, v. 33, p. 2752-2761, 2013.

COSTA, D. C.; LOBO, V. L. S.; MATTOS, V. S.; MALAQUIAS, J. V.; SOUSA, R. L.; COSTA, A. C.; BARBOSA, A. S.; SANTOS, B. C. M.; MOREIRA, R. J. **Levantamento de espécies de nematoides-das-lesões-radulares (*Pratylenchus* spp.) no Cerrado brasileiro e avaliação de danos à cultura do arroz**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2019. 40 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 345).

- COX, M.; HOGARTH, M.; SMITH, G. Cane breeding and improvement. In: HOGARTH, M.; Allsopp, P. (ed.). **Manual of cane growing**. Indooroopilly: Bureau of Sugar Experimental Stations, 2000. p. 91-108.
- DE LEY, P.; BLAXTER, M. L. Systematic position and phylogeny. In: LEE, D. L. (ed.). **The biology of nematodes**. London: Taylor and Francis, 2002. p. 1-30.
- DILLON, S. L.; SHAPTER, F. M.; HENRY, R. J.; CORDEIRO, G.; IZQUIERDO, L.; LEE, S. L. Domestication to crop improvement: genetic resources for *Sorghum* and *Saccharum* (Andropogoneae). **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, n. 5, p. 975–989, 2007.
- DINARDO-MIRANDA, L. L.; GIL, M. A.; MENEGATTI, C. C. Danos causados por nematoides a variedades de cana-de-açúcar em cana planta. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n.1, p. 69-74, 2003.
- DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2010. 882 p.
- DIOLA, V.; SANTOS, F. Fisiologia. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (ed.). **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e etanol – tecnologias e perspectivas**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2012. p. 25-49.
- DOUCET, M.; LAX, P.; DI RIENZO, J.; PINOCHET, J.; BAUJARD, P. Temperature induced morphometrical variability in an isolate of *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nematoda: Tylenchida). **Nematology**, London, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2001.
- EMBRAPA. **Visão 2030: o futuro da agricultura brasileira**. Brasília: Embrapa, 2018. 212 p.
- FAOSTAT. **Food and Agriculture Data**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 28 abr. 2022.
- FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. Principais nematoides endoparasitas migradores: nematoides das lesões radiculares e nematoides cavernícolas. In: FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. (ed.). **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. p. 151-166.
- FERRAZ, L. C. C. B. *Gênero Pratylenchus* – os nematoides das lesões radiculares. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília, v. 7, p. 157-195, 1999.
- FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (ed.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**, v. 1, 5ª ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 195-214.
- FERRAZ, L. C. C. B. Produtor deve evitar hospedeiros de *Pratylenchus brachyurus*. **Visão Agrícola**, Piracicaba, n. 9, p.117-118, 2009.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo Sustentável de Fitonematoides**. Viçosa: Editora UFV, 2012. 304 p.

- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Use of antagonistic plants and natural products. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. **Nematology: advances and perspectives**. Wallingford UK: Cabi Publishing, 2004, p. 931-977.
- FERRIS, H.; BONGERS, T.; GOEDE, R. G. M. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 18, p. 13-29, 2001.
- FERRIS, H. Contribution of nematodes to the structure and function of the soil food web. **Journal of Nematology**, London, v. 42, n. 1, p. 63-67, 2010a.
- FERRIS, H. Form and function: metabolic footprints of nematodes in the soil food web. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 46, n. 2, p. 97-104, 2010b.
- FERRIS, H.; SÁNCHEZ-MORENO, S.; BRENNAN, E. B. Structure, functions and interguild relationships of the soil nematode assemblage in organic vegetable production. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 61, p. 16-25, 2012.
- GAROFALO, D. F. T.; PACKER, A. P. C.; RAMOS, N. P.; KONDO, V. Y.; FOLEGATTI, M. I. S.; CABRAL, O. M. R. **Dinâmica do cultivo de cana-de-açúcar no Brasil – 1990 a 2018**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2020. 41 p. (Documentos, 124).
- GARRIDO-RAMOS, M. A. Satellite DNA: an evolving topic. **Genes**, Basel, v. 8, n. 9, p. 1-41, 2017.
- GIBSON, T.; FARRUGIA, D.; BARRETT, J.; CHITWOOD, D. J.; ROWE, J.; SUBBOTIN, S.; DOWTON, M. The mitochondrial genome of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. **Genome**, Ottawa, v. 54, n. 7, p. 565–574, 2011.
- GISSI, C.; IANNELLI, F.; PESOLE, G. Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. **Heredity**, Glasgow, v. 101, n. 4, p. 301-320, 2008.
- GONZAGA, V.; SANTOS, J. M.; MENDONÇA, R. S.; SANTOS, M. A. Gênero *Pratylenchus*. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (ed.). **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. p. 47-70.
- GOULART, A. M. C. **Aspectos gerais sobre nematoides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*)**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 30 p. (Documentos, 219).
- GOULART, A. M. C. **Diversidade de nematoides em agroecossistemas e ecossistemas naturais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 71 p. (Documentos, 191).
- HAHN, C.; BACHMANN, L.; CHEVREUX, B. Reconstructing mitochondrial genomes directly from genomic next-generation sequencing reads - a baiting and iterative mapping approach. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 41, n. 13, p. 1-9, 2013.
- HAJIHASSANI, A.; SMILEY, R. W.; AFSHAR, F. J. Effects of co-inoculation with *Pratylenchus thornei* and *Fusarium culmorum* on growth and yield of winter wheat. **Plant Disease**, St. Paul, v. 97, n. 11, p. 1470-1477, 2013.

- HANDOO, Z. A.; SKANTAR, A. M.; KANTOR, M. R.; HAFEZ, S. L.; HULT, M. N. Molecular and morphological characterization of the amaryllis lesion nematode, *Pratylenchus hippeastri* (Insera et al., 2007), from California. **Journal of Nematology**, New York, v. 52, p. 1-5, 2020.
- HANDOO, Z. A.; YAN, G.; KANTOR, M. R.; HUANG, D.; CHOWDHURY, I. A.; PLAISANCE, A.; BAUCHAN, G. R.; MOWERY, J. D. Morphological and molecular characterization of *Pratylenchus dakotaensis* n. sp. (Nematoda: Pratylenchidae), a new root-lesion nematode species on soybean in North Dakota, USA. **Plants**, Adelaide, v. 10, n. 168, p. 1-13, 2021.
- HÁNEL, L. Recovery of soil nematode populations from cropping stress by natural secondary succession to meadow land. **Applied Soil Ecology**, Oklahoma, v. 22, n. 3, p. 255-270, 2003.
- HARDING, R. B.; WICKS, T. J. *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus* spp: populations in potato soils and plants in Australia. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, v. 36, p. 62-67, 2007.
- HE, Y.; JONES, J.; ARMSTRONG, M.; LAMBERTI, F.; MOENS, M. The mitochondrial genome of *Xiphinema americanum* sensu stricto (Nematoda: Enoplea): considerable economization in the length and structural features of encoded genes. **Journal of Molecular Evolution**, Berlin, v. 61, n. 6, p. 819–833, 2005.
- HODDA, M. Phylum Nematoda: a classification, catalogue and index of valid genera, with a census of valid species. **Zootaxa**, Auckland, v. 5114, n. 1, p. 1-289, 2022.
- HODSON, A. K.; FERRIS, H.; HOLLANDER, A. D.; JACKSON, L. E. Nematode food webs associated with native perennial plant species and soil nutrient pools in California riparian oak woodlands. **Geoderma**, Amsterdam, v. 228-229, p. 182-191, 2014.
- HU, M.; GASSER, R. B. Mitochondrial genomes of parasitic nematodes – progress and perspectives. **Trends in Parasitology**, Cambridge, v. 22, n. 2, p. 78-84, 2006.
- HUMPHREYS-PEREIRA, D. A.; ELLING, A.A. Mitochondrial genomes of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. incognita* (Nematoda: Tylenchina): Comparative analysis, gene order and phylogenetic relationships with other nematodes. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Victoria, v. 194, n. 1-2, p. 20–32, 2014.
- IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Brasília: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2021. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/7832#resultado>>. Acesso em: 28 abr. 2022.
- ILLUMINA Inc. **NextSeq™ 1000 and NextSeq 2000 Sequencing Systems**, 2022. Disponível em: < <https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008.pdf>>. Acesso em: 01 jun. 2022.
- JACOB, J. E. M.; VANHOLME, B.; VAN LEEUWEN, T.; GHEYSEN, G. A unique genetic code change in the mitochondrial genome of the parasitic nematode *Radopholus similis*. **BMC Research Notes**, London, v. 2, n. 192, p. 1-10, 2009.

- JANSSEN, T.; KARSSSEN, G.; ORLANDO, V.; SUBBOTIN, S. A.; BERT, W. Molecular characterization and species delimiting of plant-parasitic nematodes of the genus *Pratylenchus* from the penetrans group (Nematoda: Pratylenchidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, New York, v. 117, p. 30–48, 2017.
- JESUS, A. M.; PEDROSA, E. M. R.; REIS, J. B. R. S.; PORTO, A. C. F. Morphological and morphometric characterization of *Pratylenchus* species in sugarcane cropping areas of Pernambuco state. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 3, p. 599-607, 2020.
- JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.
- JONES, J. T.; PHILLIPS, M. S.; ARMSTRONG, M. R. Molecular approaches in plant nematology. **Fundamental and Applied Nematology**, Leiden, v. 20, p. 1-14, 1997.
- JONES, M. G. K.; FOSU-NYARKO, J. Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 164, n. 2, p. 163-181, 2014.
- KERN, E. M. A.; KIM, T.; PARK, J. The mitochondrial genome in nematode phylogenetics. **Frontiers in Ecology and Evolution**, Melbourne, v. 8, n. 250, p. 1-8, 2020.
- KIDWELL, M. G.; LISCH, D. R. Perspective: transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution. **Evolution**, London, v. 55, n. 1, p. 1-24, 2001.
- LAIME, E. M.; FERNANDES, P. D.; OLIVEIRA, D. C. S.; FREIRE, E. A. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 5, n. 3, p. 16–29, 2011.
- LEYVA-DÍAZ, E.; STEFANAKIS, N.; CARRERA, I.; GLENWINKEL, L.; WANG, G.; DRISCOLL, M.; HOBERT, O. Silencing of repetitive DNA is controlled by a member of an unusual *Caenorhabditis elegans* gene family. **Genetics**, Rockville, v. 207, n. 2, p. 529-545, 2017.
- LIU, G. H.; SHAO, R.; LI, J. Y.; ZHOU, D. H.; LI, H. The complete mitochondrial genomes of three parasitic nematodes of birds: a unique gene order and insights into nematode phylogeny. **BMC Genomics**, London, v. 14, p. 1-13, 2013.
- LOOF, P. A. A. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus*. **Tijdschrift voor Plantenziekten**, Wageningen, v. 66, n. 2, p. 29-60, 1960.
- LOOF, P. A. A. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. In: NICKLE, W. R. (ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York: CRC Press, 1991. p. 363-421.
- LÓPEZ-FLORES, I.; GARRIDO-RAMOS, M. A. The repetitive DNA content of eukaryotic genomes. In: GARRIDO-RAMOS, M. A. (ed.). **Repetitive DNA**. Basel: Karger Publishers, 2012. p. 1-28.

- LORDELLO, L. G. E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 8^a ed. São Paulo: Livraria Nobel, 1984. 314 p.
- LUC, M. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. **Revue de Nématologie**, Bondy, v. 10, n. 2, p. 203-218, 1987.
- MA, X.; AGUDELO, P.; RICHARDS, V. P.; BAEZA, J. A. Genome survey sequencing of the phytoparasitic nematode *Hoplolaimus galeatus*. **PeerJ**, San Diego, v. 10, p. 1-15, 2022.
- MA, X.; AGUDELO, P.; RICHARDS, V. P.; BAEZA, J. A. The complete mitochondrial genome of the Columbia lance nematode, *Hoplolaimus columbus*, a major agricultural pathogen in North America. **Parasites & Vectors**, New York, v. 13, n. 321, p. 1-10, 2020.
- MACAS, J.; NOVÁK, P.; PELLICER, J.; ČÍŽKOVÁ, J.; KOBLÍŽKOVÁ, A.; NEUMANN, P.; FUKOVÁ, I.; DOLEŽEL, J.; KELLY, L. J.; LEITCH, I. J. In Depth characterization of repetitive DNA in 23 plant genomes reveals sources of genome size variation in the legume tribe Fabeae. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 11, p. 1-23, 2015.
- MACEDO, N.; MACEDO, D.; CAMPOS, M. B. S.; NOVARETTI, W. R. T.; FERRAZ, L. C. C. Manejo de Pragas e Nematoides. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (ed.). **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e etanol: tecnologia e perspectivas**. Viçosa: UFV, 2012. p. 119-160.
- MASONBRINK, R.; MAIER, T. R.; MUPPIRALA, U.; SEETHARAM, A. S.; LORD, E.; JUVALE, O. S.; SCHMUTZ, J.; JOHNSON, N. T.; KORKIN, D.; MITCHUM, M. G.; MIMEE, B.; VAN DEN AKKER, S. E.; HUDSON, M.; SEVERIN, A. J.; BAUM, T. J. The genome of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) reveals complex patterns of duplications involved in the evolution of parasitism genes. **BMC Genomics**, London, v. 20, n. 119, p. 1-14, 2019.
- MEHROTRA, S.; GOYAL, V. Repetitive sequences in plant nuclear DNA: types, distribution, evolution and function. **Genomics Proteomics Bioinformatics**, Beijing, v. 12, n. 4, p. 164–171, 2014.
- MENDONÇA, R. S.; NAVIA, D.; FERNANDES, F. R.; SANCHES, M. M. Diagnóstico molecular na identificação de pragas agrícolas. In: SUGAYAMA, R. L.; SILVA, M. L.; SILVA, S. X. B.; RANGEL, L. E. P. (ed.). **Defesa Vegetal: fundamentos, ferramentas, políticas e perspectivas**. Belo Horizonte: SBDA, 2015. p. 135-164.
- MONDINO, E. A.; TAVARES, O. C. H.; EBELING, A. G.; FIGUEIRA, A. F.; QUINTERO, E. I.; BERBARA, R. L. L. Avaliação das comunidades de nematoides do solo em agroecossistemas orgânicos. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 509-515, 2009.
- MORAN-SALAZAR, R. G.; SANCHEZ-LIZARRAGA, A. L.; RODRIGUEZ-CAMPOS, J.; DAVILA-VAZQUEZ, G.; MARINO-MARMOLEJO, E. N.; DENDOOVEN, L.; CONTRERAS-RAMOS, S. M. Utilization of vinasses as soil amendment: consequences and perspectives. **SpringerPlus**, Hampshire, v. 5, n. 1007, p. 1-11, 2016.

- NACLERIO, G.; CANGIANO, G.; COULSON, A.; LEVITT, A.; RUVOLO, V.; LA VOLPE, A. Molecular and genomic organization of clusters of repetitive DNA sequences in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Molecular Biology**, v. 226, n. 1, p. 159-168, 1992.
- NASPOLINI, B. F.; MACHADO, A. C. O.; CRAVO JÚNIOR, W. B.; FREIRE, D. M. G.; CAMMAROTA, M. C. Bioconversion of sugarcane vinasse into high-added value products and energy. **BioMed Research International**, London, v. 2017, p. 1-12, 2017.
- NEHER, D. A. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. **Journal of Nematology**, London, v. 33, n. 4, p. 161–168, 2001.
- NICOL, J.; TURNER, S.; COYNE, D.; DEN NIJS, L.; HOCKLAND, S.; MAAFI, Z. T. Current nematode threats to world agriculture. In: JONES J.; GHEYSEN G.; FENOLL C. (ed.). **Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions**. Heidelberg: Springer, 2011. p. 21–43.
- NORONHA, M. A.; MUNIZ, M. F. S.; CRUZ, M. M.; ASSUNÇÃO, M. C.; CASTRO, J. M. C.; OLIVEIRA, E. R. L.; MIRANDA, C. G. S.; MACHADO, A. C. Z. *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species in sugarcane fields in the state of Alagoas, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 2, p. 1-3, 2017.
- NOVÁK, P.; NEUMANN, P.; MACAS, J. Global analysis of repetitive DNA from unassembled sequence reads using RepeatExplorer2. **Nature Protocols**, London, v. 15, p. 3745–3776, 2020.
- OKIMOTO, R.; MACFARLANE, J. L.; CLARY, D. O.; WOLSTENHOLME, D. R. The mitochondrial genomes of two nematodes, *Caenorhabditis elegans* and *Ascaris suum*. **Genetics**, Oxford, v. 130, n. 3, p. 471–98, 1992.
- OLIVEIRA, B. G.; MENDES, L. W.; SMYTH, E. M.; TSAI, S. M.; FEIGL, B. J.; MACKIE, R. I. Assessment of microbial diversity associated with CH₄ emission from sugarcane vinasse storage and transportation systems. **Journal of Environmental Management**, Oxford, v. 269, p. 1-10, 2020.
- LOWE, T.; CORBETT, D. C. M. Morphology and morphometrics of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zaeae* II. Influence of environmental factors. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v. 14, p. 6-17, 1984.
- ORLANDO, V.; GROVE, I. G.; EDWARDS, S. G.; PRIOR, T.; ROBERTS, D.; NEILSON, R.; BACK, M. Root-lesion nematodes of potato: Current status of diagnostics, pathogenicity and management. **Plant Pathology**, Oxford, v. 69, n. 3, p. 405-417, 2020.
- PAMPONÉT, V. C. C.; Souza, M. M.; SILVA, G. S.; MICHELI, F.; MELO, C. A. F.; OLIVEIRA, S. G.; COSTA, E. A.; CORRÊA, R. X. Low coverage sequencing for repetitive DNA analysis in *Passiflora edulis* Sims: citogenomic characterization of transposable elements and satellite DNA. **BMC Genomics**, London, v. 20, n. 262, p. 1-17, 2019.
- PARNAUDEAU, V.; CONDOM, N.; OLIVER, R.; CAZEVIEILLE, P.; RECOUS, S. Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material,

fermentation and concentration processes. **Bioresource Technology**, Lucknow, v. 99, n. 6, p. 1553-1562, 2008.

PHAN, N. T.; ORJUELA, J.; DANCHIN, E. G. J.; KLOPP, C.; PERFUS-BARBEOCH, L.; KOZLOWSKI, D. K.; KOUTSOVOULOS, G. D.; LOPEZ-ROQUES, C.; BOUCHEZ, O.; ZAHM, M.; BESNARD, G.; BELLAFFIORE, S. Genome structure and content of the rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*). **Ecology and Evolution**, Athens, v. 10, n. 20, p. 11006–11021, 2020.

PRADO, R. M.; CAIONE, G.; CAMPOS, C. N. S. Filter cake and vinasse as fertilizers contributing to conservation agriculture. **Applied and Environmental Soil Science**, London, v. 2013, p. 1-8, 2013.

RAO, S. R.; TRIVEDI, S.; EMMANUEL, D.; MERITA, K.; HYNNEWTA, M. DNA repetitive sequence-types, distribution and function: A review. **Journal of Cell and Molecular Biology**, Ancara, v. 7/8, n. 2/1, p. 1–11. 2010.

REIS, C. E. R.; HU, B. Vinasse from Sugarcane Ethanol Production: Better Treatment or Better Utilization? **Frontiers in Energy Research**, Greifswald, v. 5, n. 7, p. 1-7, 2017.

RICHARD, G. F.; KERREST, A.; DUJON, B. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in eukaryotes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Boulder, v. 72, n. 4, p. 686-727, 2008.

ROBERTS, D.; OLIVEIRA, C. M. G.; NEILSON, R.; BLOK, V. Diagnose molecular de nematoides parasitos de plantas. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. **Diagnose de Fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. p. 277-320.

SANTOS, T. M. C.; SANTOS, M. A. L.; SANTOS, C. G.; SANTOS, V. R.; PACHECO, D. S. Efeito da fertirrigação com vinhaça nos microrganismos do solo. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 1, p. 155–160, 2009.

SCHNEIDER, C. F.; SCHULZ, D. G.; LIMA, P. R.; GONÇALVES JÚNIOR, A. C. Formas de gestão e aplicação de resíduos da cana-de-açúcar visando redução de impactos ambientais. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 7, n. 5, p. 8-17, 2012.

SEESAO, Y.; GAY, M.; MERLIN, S.; VISCOGLIOSI, E.; ALIOUAT-DENIS, C. M.; AUDEBERT, C. A review of methods for nematode identification. **Journal of Microbiological Methods**, Guelph, v. 138, p. 37–49, 2017.

SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M.; MOZAMBANI, A. E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (ed.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP2, 2006. p. 19-36.

SHAPIRO, J. A.; VON STERNBERG, R. Why repetitive DNA is essential to genome function. **Biological Reviews**, Cambridge, v. 80, n. 2, p. 227–250, 2005.

SIEBERT, J.; SÜNNEMANN, M.; AUGÉ, H.; BERGER, S.; CESARZ, S.; CIOBANU, M.; GUERRERORAMÍREZ, N. R.; EISENHAUER, N. The effects of drought and nutrient

addition on soil organisms vary across taxonomic groups, but are constant across seasons. **Scientific Report**, London, v. 9, n. 639, p. 1-12, 2019.

SILVA, J. V. C. L.; CARES, J. E.; MOURA, R. M. Ectoparasitas da cana-de-açúcar e a predominância do gênero *Helicotylenchus*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 16, n. 1, p. 119-129, 2019.

SILVA, J. V. C. L.; HIRSCHFELDA, M. N. C.; CARES, J. E.; ESTEVES, A. M. Land use, soil properties and climate variables influence the nematode communities in the Caatinga dry forest. **Applied Soil Ecology**, Oklahoma, v. 150, p. 1-9, 2020.

SILVA, M. A.; ARANTES, M. T.; RHEIN, A. F. L.; GAVA, G. J. C.; KOLLN, O. T. Potencial produtivo da cana-de-açúcar sob irrigação por gotejamento em função de variedades e ciclos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, p. 241-249, 2014.

SINGH, P. R.; KASHANDO, B. E.; COUVREUR, M.; KARSSSEN, G.; BERT, W. Plant-parasitic nematodes associated with sugarcane in Kilimanjaro, Tanzania. **Journal of Nematology**, New York, v. 52, p. 1-17, 2020.

SINGH, S. K.; HODDA, M.; ASH, G. J. Plant-parasitic nematodes of potencial phytosanitary importance, their main host and reported yield losses. **EPPO Bulletin**, London, v. 43, n. 2, p. 334-374, 2013.

SOUSA, R. L. **Nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) no cerrado brasileiro com ênfase nos danos causados à cultura do arroz**. 2018. 88 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília.

SULTANA, T.; KIM, J.; LEE, S.; HAN, H.; KIM, S.; MIN, G.; PARK, J. Comparative analysis of complete mitochondrial genome sequences confirms independent origins of plant-parasitic nematodes. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 13, n. 12, p. 1-17, 2013.

SUN, L.; ZHUO, K.; LIN, B.; WANG, H.; LIAO, J. The Complete Mitochondrial Genome of *Meloidogyne graminicola* (Tylenchina): A Unique Gene Arrangement and Its Phylogenetic Implications. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 6, p. 1-11, 2014a.

SUN, L.; ZHUO, K.; WANG, H.; SONG, H.; CHI, W.; ZHANG, L. H.; LIAO, J. The complete mitochondrial genome of *Aphelenchoides besseyi* (Nematoda: Aphelenchoididae), the first sequenced representative of the subfamily Aphelenchoidinae. **Nematology**, London, v. 16, p. 1167-1180, 2014b.

SURZYCKI, S. A.; BELKNAP, W. R. Repetitive-DNA elements are similarly distributed on *Caenorhabditis elegans* autosomes. **PNAS**, Champaign, v. 97, n. 1, p. 245-249, 2000.

TAANMAN, J. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and Replication. **Biochimica et Biophysica Acta**, Netherlands, v. 1410, n. 2, p. 103-123, 1999.

TROCCOLI, A.; SUBBOTIN, S. A.; CHITAMBAR, J. J.; JANSSEN, T.; WAEYENBERGE, L.; STANLEY, J. D.; DUNCAN, L. W.; AGUDELO, P.; URIBE, G. E. M.; FRANCO, J.; INSERRA, R. N. Characterisation of amphimictic and parthenogenetic populations of *Pratylenchus bolivianus* Corbett, 1983 (Nematoda: Pratylenchidae) and their phylogenetic

relationships with closely related species. **Nematology**, London, v. 18, n. 6, p. 651–678, 2016.

UNICA – Brazilian Sugarcane Industry Association. **Brazil: a leader in ethanol production and use**, 2021. Disponível em: <<https://www.sugarcane.org/sugarcane-products/ethanol/>>. Acesso em: 28 jan. 2022.

VIGLIERCHIO, D. R. **The world of nematodes: a fascinating component of the animal kingdom**. Davis: University of California, 1991. 266 p.

VITTI, A. C.; TRIVELIN, P. C. O.; GAVA, G. J. C.; PENATTI, C. P.; BOLOGNA, I. R.; FARONI, C. E.; FRANCO, H. C. J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 249-256, 2007.

WALLACE, H. R. **Nematode ecology and plant disease**. London: Edward Arnold, 1973. 228 p.

WICKER, T.; SABOT, F.; HUA-VAN, A.; BENNETZEN, J. L.; CAPY, P.; CHALHOUB, B.; FLAVELL, A.; LEROY, P.; MORGANTE, M.; PANAUD, O.; PAUX, E.; SAN MIGUEL, P.; SCHULMAN, A. H. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 8, p. 973–982, 2007.

WILSON, E. O. **Diversidade da vida**. São Paulo: Companhia das letras, 1994. 447 p.

WOLSTENHOLME, D.R. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. **International Review of Cytology**, New York, v. 141, p. 173-216, 1992.

YAN, D.; YAN, D.; SONG, X.; YU, Z.; PENG, D.; TING, X.; WENG, B. Community structure of soil nematodes under different drought conditions. **Geoderma**, Amsterdam, v. 325, p. 110-116, 2018.

YEATES, G. W.; BONGERS, T.; GOEDE, R. G. M.; FRECKMAN, D. W.; GEORGIEVA, S. S. Feeding habits in soil nematode families and genera—an outline for soil ecologists. **Journal of Nematology**, London, v. 25, p. 315-331, 1993.

ZHANG, T. Q. Z. M.; ZHENG, R.; LAL, Z. Q.; LIN, A. N.; SHARPLEY, A. L.; SHOBER, D.; SMITH, C. S.; TAN, P. Environmental indicator principium with case references to agricultural soil, water, and air qualities and model-derived indicators. **Journal of Environmental Quality**, Maryland, v. 47, p. 191-202, 2018.

ZHANG, X.; FERRIS, H.; MITCHELL, J.; LIANG, W. Ecosystem services of the soil food web after long-term application of agricultural management practices. **Soil Biology and Biochemistry**, London, v. 111, p. 36-43, 2017.

CAPÍTULO II

Nematode community structure in sugarcane fields under continuous vinasse fertigation

Artigo a ser submetido:

Pedobiologia – Journal of Soil Ecology

JCR = 2,128/ Qualis = A2

1 **Nematode community structure in sugarcane fields under continuous vinasse fertigation**

2
3 Natalia de Jesus Ferreira Costa^{a,*}, Elvira Maria Regis Pedrosa ^a, Thais Fernanda da Silva
4 Vicente^a, Andressa Cristina Zamboni Machado^b, Lilian Margarete Paes Guimarães^a

5
6 ^a Federal Rural University of Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, Dois Irmãos 52171-
7 900, Recife, Pernambuco, Brazil

8 ^b Department of Plant Protection, Agronomic Institute of Paraná, 86047-902, Londrina, Paraná,
9 Brazil

10
11
12 *Corresponding author.

13 *E-mail adress:* natalia.jfc@gmail.com (N. Costa)

27 **Nematode community structure in sugarcane fields under continuous vinasse fertigation**

28

29 **Abstract**

30 Sugarcane vinasse is a residue from ethanol production, which has high content of nutrients and
31 organic matter, improving chemical, physical and biological changes in the soil. This study
32 evaluated nematode community structure, food web, metabolic footprint, and soil quality in
33 sugarcane fields under continuous vinasse fertigation. Soil samples were collected from four
34 sugarcane fields in Pernambuco State, Brazil, under continuous vinasse fertigation for
35 nematode identification at the genus (plant parasites) and family (free-living) level, physical
36 and chemical analyses of the soil. Nine genera of plant-parasitic nematodes and five families
37 of free-living nematodes were identified in sugarcane fields. Plant-parasitic nematodes were
38 dominant, except in the field with five years of continuous vinasse application. The genera
39 *Mesocriconema*, *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* and *Pratylenchus* were frequent in all fields.
40 Predators and fungivores nematodes were few abundant, although, according to the soil food
41 web, all sugarcane fields were low to moderately disturbed environments. A positive correlation
42 was observed between the microbial respiration and Rhabdidae in fields with five years of
43 vinasse application, and between the electrical conductivity of the soil and *Meloidogyne* in
44 fields without vinasse application. We highlight those alterations in the structure and
45 composition of the nematode community, and soil characteristics that can occur due to vinasse
46 fertigation in sugarcane fields.

47 **Keywords:** Residue, Ecological indices, Soil nematode, *Saccharum* spp.

48

49

50

51

52

53 **1. Introduction**

54 The global demand for renewable and sustainable fuels favored the expansion of
55 sugarcane (*Saccharum* spp.) crops in Brazil, due to the alcohol-based fuel (ethanol) produced
56 by the fermentation of sugarcane juice. This biofuel is clean, low cost and low carbon, making
57 the sugarcane one of the most promising crops for the Brazilian agribusiness (Oliveira, 2018;
58 Cavalcanti et al., 2019; Jesus et al., 2020). Brazil has been the leader in sugarcane production
59 in recent decades (Faostat, 2019) and it is the world's largest sugarcane ethanol producer and a
60 pioneer in using ethanol as a motor fuel (Unica, 2021).

61 However, as the volume of sugarcane processed in Brazil tripled in the last 20 years to
62 attend to the high demand for sugarcane ethanol (Unica, 2021), waste from the fermentation
63 process can be a problem for the environment. One of these wastes is the vinasse, which can
64 damage the environment if not properly discarded (Fuess and Garcia, 2015; Oliveira et al.,
65 2020). Each liter of ethanol produced generates an average of 9-14 L of vinasse (Carrilho et
66 al., 2016). On the other hand, due to the high levels of nutrients and organic matter in this
67 residue, the vinasse is used as a fertilizer, being able to improve the fertility and decrease the
68 soil compaction (Prado et al., 2017; Moran-Salazar et al., 2016; Napolini et al., 2017).

69 Vinasse is a liquid residue made up of about 93 % water and 7 % solids, characterized as
70 being an acidic compost (pH 3.5-5.0), high organic content, dark brown color, unpleasant odors
71 (Christofoletti et al., 2013; Carrilho et al., 2016), and occasionally contain heavy metals such
72 as copper, lead and zinc, which can contaminate soil, groundwater, sediments, and superficial
73 water. It has also high contents of calcium, potassium, magnesium, sulfate, total phosphorus,
74 and nitrogen (Moran-Salazar et al., 2016; Carrilho et al., 2016).

75 Sugarcane vinasse is applied directly in the soil as fertigation throughout the growing
76 season of the sugarcane in Brazil (Oliveira et al., 2013), where it can mobilize nutrients,
77 improve the microbiome, and interfere on diverse biological processes (Tenório et al., 2000;

78 Albuquerque et al., 2002). In addition, vinasse irrigation replaces water on soil, an important
79 attribute due to the annual water variations commonly found in the Brazilian Northeast.

80 Several studies have been carried out to demonstrate the effects of vinasse on the physical
81 and chemical properties of the soil (Prado et al., 2017; Fuess et al., 2017; El-Maslamany et al.,
82 2020), but few focus on the effects on the soil biota. Tenório et al. (2000) demonstrated that the
83 high organic carbon content in sugarcane waste decreased the biological activity of soils of the
84 Brazilian Northeast. The effect of the vinasse irrigation in plant-parasitic nematodes was also
85 demonstrated by Matos et al. (2011), which observed a decrease in the soil population densities
86 of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species, the main nematode problem for the sugarcane crops
87 in Brazil (Noronha et al., 2017).

88 In addition to the plant-parasitic nematodes, other nematode trophic groups, which
89 comprise the soil communities, are used as indicators of soil quality and environmental
90 disturbances (Cares and Huang, 2012; Neher, 2001), due to their sensitivity to changes in the
91 environment, such as variation in soil temperature and moisture, as well as modification of the
92 natural environment for agroecosystems (Ferris et al., 2001; Yeates et al., 1993). In addition,
93 nematode-based indices can be used to assess and describe the structure of the soil food web
94 and nutrient status in the ecosystem (Ferris et al., 2001).

95 Studies aiming to verify the impacts of fertigation with vinasse on the structure of
96 nematode soil food web and the relationships with soil properties are scarce in Brazil. In this
97 study, nematode community structure and soil quality were evaluated in sugarcane fields under
98 continuous vinasse fertigation. We hypothesized that: (a) areas with a longer time of vinasse
99 application have lower abundance and diversity of plant-parasitic nematodes; and (b) in areas
100 with vinasse application, the population of microbiovorous and predatory nematodes is greater
101 than that present in areas without residue application.

102

103

104 **2. Materials and methods**

105 *2.1. Study sites and soil sampling*

106 The study was carried out in sugarcane fields located in the municipality of Goiana,
107 Pernambuco, Brazil (7°33'38''S and 35°00'09''W), which presents an As' hot and humid
108 climate, with rainfall from March to August and average annual temperatures around 24 °C,
109 according to the Köppen climate classification (Alvares et al., 2013).

110 Three sugarcane fields cropped with the variety RB863129 under continuous vinasse
111 fertigation were evaluated: V5 – with five years of vinasse application; V10 – ten years of
112 vinasse application; and V15 – fifteen years of vinasse application. A field without vinasse
113 application (V0) was included as the control. The soil texture of all fields was classified as
114 sandy. In each field, a 10 m × 10 m grid was demarcated, totaling 20 georeferenced points per
115 field. Soil samples were collected using a Dutch-type auger, between the plant rows at 0-40 cm
116 deep, for nematode extraction and physical and chemical analyses.

117

118 *2.2. Nematode extraction*

119 Each soil sample was homogenized and processed separately and nematodes were
120 extracted from a subsample of 100 cm³ of soil, according to the centrifugal flotation method
121 (Jenkins, 1964), using an 0.250 mm-aperture sieve nested over a 0.037 mm-aperture sieve. The
122 suspensions containing the nematodes were refrigerated (4 – 6 °C) for a maximum of three
123 days, until the identification and quantification of the nematodes. The population density of
124 nematodes was quantified at low magnification (40x) and then identified at the genus (plant
125 parasites) and family level (free-living) at higher magnification (100x), according to De Ley
126 and Blaxter (2002). The abundance (number of individuals in 100 cm³ of soil/sample), the
127 dominance (percentage of each taxon over total abundance), and the mean and standard error
128 of each taxon present in 100 cm³ of soil/sample were calculated.

129

130 *2.3. Nematode community analysis*

131 In addition, the nematode community was described by feeding habits, divided into five
132 trophic groups: Plant parasites (Pp), Bacterivores (Ba), Fungivores (Fu), Predators (Pr), and
133 Omnivores (Om) (Yeates et al., 1993), and in functional guilds, which result from the
134 combination of trophic groups and colonizer-persistent (c-p) groups, whose scale ranges from
135 1 to 5 (Bongers, 1990; Bongers and Bongers, 1998). The characteristics of the soil food chain
136 were described by calculating the Enrichment Index (EI), the Structure Index (SI), the Channel
137 Index (CI), and the Basal Index (BI) (Ferris et al., 2001).

138 Plant Parasite Index (PPI), Maturity Index (MI), and MI 2-5 were also calculated from
139 the colonizer-persistent (c-p) scale (Bongers, 1990). The metabolic activity of nematodes was
140 calculated to assess the ecosystem functions and services provided by the nematodes that make
141 up the soil food chain (Ferris, 2010). The calculations were performed using the online software
142 Nematode Indicators Joint Analysis – NINJA (<https://shiny.wur.nl/content/5/>)
143 (Sieriebriennikov et al., 2014).

144

145 *2.4. Soil physical and chemical analyses*

146 Soil samples were air-dried for 72 h, chipped, and sieved with a 2 mm sieve. The analysis
147 of sand, silt and clay fractions was carried out by the hydrometer method, using a mechanical
148 stirrer as a physical dispersant and sodium hexametaphosphate as a chemical dispersant. The
149 electrical conductivity (EC) of the soil was obtained by measuring the soluble salts in the
150 aqueous soil extract using the saturation paste. The pH in water (1:2.5) was measured using a
151 potentiometer. Exchangeable calcium (Ca^{2+}) and magnesium (Mg^{2+}) were extracted in 1 mol
152 L^{-1} KCl and determined by atomic absorption spectrophotometry (EAA). Meanwhile,
153 exchangeable sodium (Na^+) and potassium (K^+) were extracted in a Mehlich-1 solution and
154 determined by flame photometry. All physical and chemical analyzes of the soil were carried

155 out according to Teixeira et al. (2017). Microbial respiration was carried out based on the C-
 156 CO₂ evolution of the soil according to the methodology of Grisi (1978).

157

158 2.5. Statistical analysis

159 Data were subjected to descriptive analysis. Multivariate canonical correspondence
 160 analysis (CCA) was used to assess the influence of soil chemical variables on the nematode
 161 community. The variables used were selected based on VIF < 10, and the test used was the
 162 Permutation test with 999 permutations ($\alpha = 0.05$). The forward selection was performed for
 163 the selection of soil variables. All analyses were performed using the R software v. 4.0.4. (R
 164 Core Team, 2021).

165

166 3. Results

167 3.1. Nematode community composition

168 Nine genera of plant-parasitic nematodes and five families of free-living nematodes were
 169 identified in the samples collected (Table 1). The families Cephalobidae, Rhabditidae and
 170 Dorylaimidae, and the genera *Mesocriconema*, *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* and
 171 *Pratylenchus* were common to all fields. *Mesocriconema* (35.54%), Rhabditidae (40.66%),
 172 Dorylaimidae (30.31%) and *Rotylenchulus* (26.95%) were the most dominant in V0, V5, V10,
 173 and V15, respectively (Table 1).

174

175 **Table 1.** Abundance and dominance (%) of nematodes in 100 cm³ of soil from sugarcane fields
 176 under vinasse application in Pernambuco, Brazil.

Trophic groups	V0		V5		V10		V15	
	A	D (%)	A	D (%)	A	D (%)	A	D (%)
Bacterivores								
Cephalobidae	397	4.46	761	4.97	734	4.13	74	0.45
Rhabditidae	774	8.69	6227	40.66	836	4.71	1191	7.26
Fungivores								
Aphelenchidae	137	1.54	142	0.93	331	1.75	0	0
Omnivores								

Dorylaimidae	2339	26.26	5292	34.56	5386	30.31	3920	23.89
Predators								
Mononchidae	0	0	78	0.51	0	0	254	1.55
Plant Parasites								
<i>Mesocriconema</i>	3165	35.54	838	5.47	4825	27.16	171	1.04
<i>Meloidogyne</i>	1265	14.20	118	0.77	341	1.92	26	0.16
<i>Helicotylenchus</i>	324	3.64	973	6.35	2485	13.99	2678	16.32
<i>Pratylenchus</i>	505	5.67	665	4.34	2676	15.06	3574	21.78
<i>Trichodorus</i>	0	0	31	0.20	0	0	54	0.33
<i>Xiphinema</i>	0	0	0	0	48	0.27	0	0
<i>Rotylenchulus</i>	0	0	189	1.23	0	0	4422	26.95
<i>Hemicycliophora</i>	0	0	0	0	0	0	45	0.27
<i>Paratrichodorus</i>	0	0	0	0	124	0.70	0	0
Total	8906	100	15314	100	17786	100	16409	100

177 A = abundance; D (%) = dominance. V0 – without vinasse application; V5 – five years of vinasse application;

178 V10 – ten years of vinasse application; and V15 – fifteen years of vinasse application.

179

180 The plant-parasitic nematodes were the most dominant in almost all fields, especially in
 181 V10 and V15, in contrast with the lower dominance of fungivores and predator. Dorylaimidae
 182 (omnivore) dominance was quite similar in all fields and higher than almost all other free-living
 183 nematodes (Table 1). The mean of *Meloidogyne* was higher in V0, than in other sugarcane fields
 184 under vinasse application, while highest means of *Helicotylenchus* and *Pratylenchus* were
 185 obtained in V10 and V15 (Table 2). Most nematodes identified in the fields belong to the c-p3
 186 group, mainly in V10 and V15, while the highest means of nematodes c-p1 were observed in
 187 V5 (Fig. 1).

188

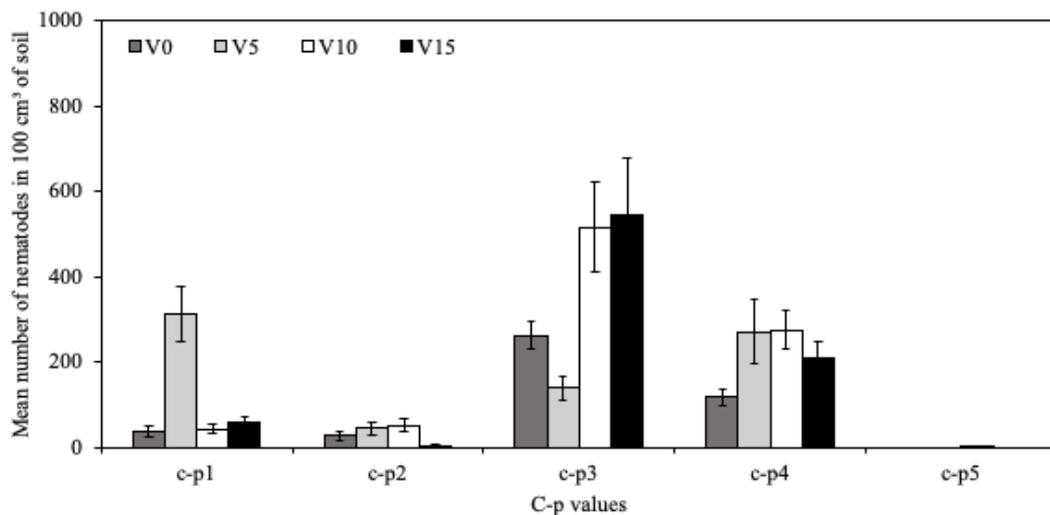
189 **Table 2.** Mean \pm standard error (SE) and functional guilds (FG) of nematode taxa in 100 cm³
 190 of soil from sugarcane fields under vinasse application in Pernambuco, Brazil.

Trophic groups	FG	V0		V5		V10		V15	
		Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Bacterivores									
Cephalobidae	Ba ₂	19.85	8.65	38.05	11.95	36.70	15.35	3.70	2.83
Rhabditidae	Ba ₁	38.70	13.08	311.35	65.43	41.80	10.85	59.55	12.39
Fungivores									
Aphelenchidae	Fu ₂	6.85	2.98	7.10	4.17	15.55	7.59	0.00	0.00
Omnivores									
Dorylaimidae	Om ₄	116.95	18.71	264.6	75.49	269.30	45.55	196.00	34.38
Predators									
Mononchidae	Pr ₄	0.00	0.00	3.90	1.83	0.00 b	0.00	12.70	3.52
Plant Parasites									
<i>Mesocriconema</i>	Pp ₃	158.25	22.78	41.90	9.89	241.25	79.99	8.55	2.99
<i>Meloidogyne</i>	Pp ₃	63.25	14.51	5.90	2.56	17.05	6.05	1.30	1.30

<i>Helicotylenchus</i>	Pp ₃	16.20	5.47	48.65	12.87	124.25	45.81	133.90	25.38
<i>Pratylenchus</i>	Pp ₃	25.25	10.58	33.25	13.87	133.80	33.43	178.70	37.90
<i>Trichodorus</i>	Pp ₄	0.00	0.00	1.55	1.07	0.00	0.00	2.70	1.91
<i>Xiphinema</i>	Pp ₅	0.00	0.00	0.00	0.00	2.40	2.40	0.00	0.00
<i>Rotylenchulus</i>	Pp ₃	0.00	0.00	9.45	5.84	0.00	0.00	221.10	104.40
<i>Hemicycliophora</i>	Pp ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.25	2.25
<i>Paratrichodorus</i>	Pp ₄	0.00	0.00	0.00	0.00	6.20	4.30	0.00	0.00
Total		445.30	53.86	765.70	132.06	888.30	141.82	820.45	137.19

191 V0 – without vinasse application; V5 – five years of vinasse application; V10 – ten years of vinasse application;
 192 and V15 – fifteen years of vinasse application.

193



194

195 **Fig. 1.** Colonizer-persistent (c-p) of the nematode assemblage from sugarcane fields under
 196 vinasse application in Pernambuco, Brazil. V0 – without vinasse application; V5 – five years
 197 of vinasse application; V10 – ten years of vinasse application; and V15 – fifteen years of vinasse
 198 application.

199

200 3.2. Nematode ecological and functional indices and metabolic footprints

201 Maturity (MI), basal (BI), and enrichment (EI) indices varied among fields. The highest
 202 means of MI, EI and BI were obtained in V0, V5 and V10, respectively (Table 3). The higher
 203 enrichment and bacterivore metabolic activity indices were observed in V5, and the metabolic
 204 activity of herbivores and predators in V0 and V15, respectively (Table 3). The nematode
 205 metabolic footprint graph showed fields with low to moderate disturbance levels (Fig. 2).

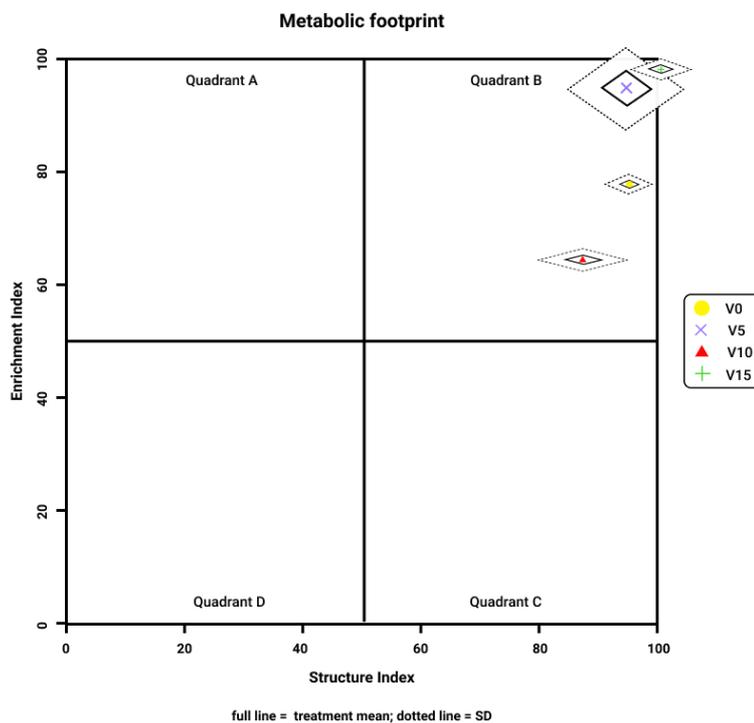
206

207 **Table 3.** Mean \pm standard error (SE) of nematode ecological indices and metabolic footprints
 208 from sugarcane fields under vinasse application in Pernambuco, Brazil.

Index/metabolic footprint	V0		V5		V10		V15	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Maturity Index (MI)	3.29	0.16	2.26	0.15	3.19	0.15	3.16	0.21
Maturity Index 2-5 (MI 2-5)	3.75	0.08	3.63	0.08	3.61	0.13	3.77	0.20
Plant Parasitic Index (PPI)	3.05	0.05	3.00	0.00	2.87	0.15	2.86	0.15
Channel Index (CI)	6.24	4.97	5.52	4.99	16.00	8.15	0.00	0.00
Basal Index (BI)	3.11	1.23	2.90	0.89	8.37	3.45	0.32	0.28
Enrichment Index (EI)	51.89	10.24	92.47	2.66	57.30	9.57	78.56	9.07
Structure Index (SI)	95.43	1.65	93.58	1.66	88.93	5.39	94.59	4.99
Enrichment footprint	1.11	0.22	2.43	0.14	1.31	0.22	1.49	0.19
Structure footprint	2.28	0.75	2.42	0.12	2.50	0.16	2.40	0.15
Herbivore footprint	2.33	0.15	1.56	0.11	2.01	0.16	1.85	0.16
Fungivore footprint	0.89	0.39	1.01	0.54	1.93	0.99	0.00	0.00
Bacterivore footprint	1.15	0.22	2.42	0.16	1.34	0.22	1.49	0.19
Predator footprint	0.92	0.92	3.56	1.97	0.00	0.00	14.57	4.04
Omnivore footprint	2.27	0.08	2.41	0.13	2.50	0.16	2.38	0.15

209 V0 – without vinasse application; V5 – five years of vinasse application; V10 – ten years of vinasse application;
 210 and V15 – fifteen years of vinasse application.

211



212

213 **Fig. 2.** Functional metabolic footprint of nematodes in soil food web of sugarcane fields under
 214 vinasse application in Pernambuco, Brazil. The length of the vertical axis and horizontal axis
 215 of the rhombus represents the enrichment and structure footprints, respectively. V0 – without

216 vinasse application; V5 – five years of vinasse application; V10 – ten years of vinasse
 217 application; and V15 – fifteen years of vinasse application.

218

219 3.3. Relationships of soil properties with nematode communities

220 The contents of Na, K, Ca, Mg, and EC were low in V5, comparing with other fields. The
 221 value of pH was closer across the fields evaluated (Table 4). The canonical correspondence
 222 analysis of data of nematode community and the soil physical, chemical, and microbiological
 223 properties showed that the properties of soil samples explained 21.64% of the variance in the
 224 nematode community (Fig. 3). The genus *Xiphinema* was positively correlated with Na and K
 225 in V10, while *Paratrichodorus*, *Meloidogyne*, *Aphelenchidae*, and *Mesocriconema* were
 226 positively correlated with Mg and EC in V0. Rhabditidae and Cephalobidae were positively
 227 correlated with C-CO₂ in V5, and Mononchidae and *Trichodorus* were positively correlated
 228 with pH in V15. Other soil properties were not significant in the analysis and were excluded
 229 from the graphic representation.

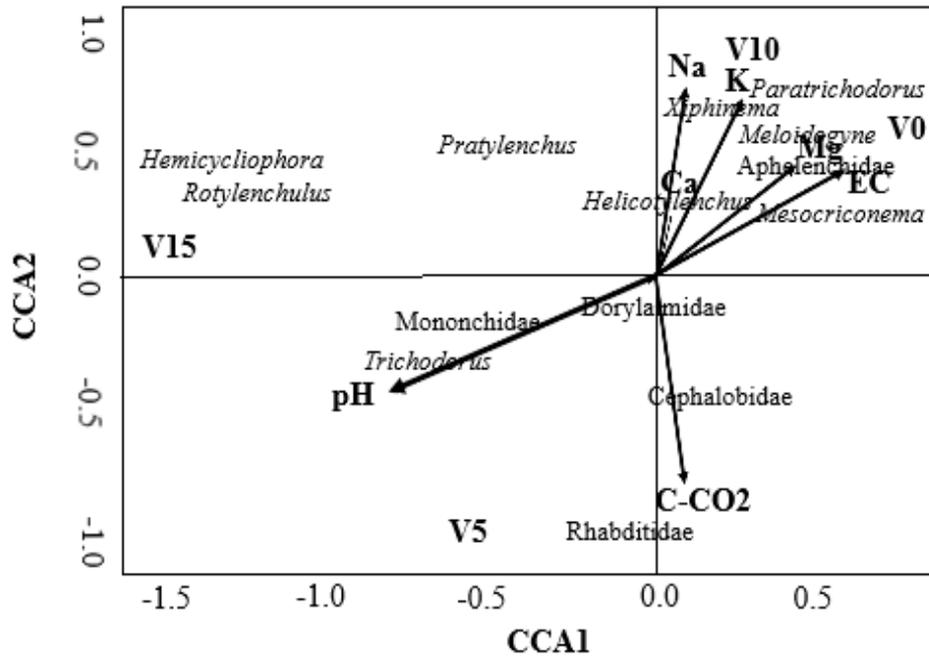
230

231 **Table 4.** Physical and chemical analyses of soil samples collected in sugarcane fields under
 232 vinasse application in Pernambuco, Brazil.

Soil properties	V0		V5		V10		V15	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
C-CO ₂ evolution (mg C-CO ₂)	19.28	1.02	29.81	2.08	22.78	1.86	19.34	1.56
Na (cmolc/dm ³)	0.34	0.02	0.03	0.00	0.48	0.02	0.32	0.01
K (cmolc/dm ³)	0.51	0.02	0.09	0.01	0.44	0.03	0.31	0.01
Ca (cmolc/dm ³)	1.88	0.55	1.79	0.10	2.53	0.12	2.06	0.06
Mg (cmolc/dm ³)	0.71	0.05	0.61	0.05	1.59	0.08	0.78	0.05
Electrical conductivity (mS/cm)	0.71	0.05	0.29	0.01	0.54	0.03	0.32	0.01
pH	5.97	0.04	6.42	0.08	5.81	0.08	6.58	0.06
Sand (%)	93.88	0.08	89.48	0.22	91.90	0.27	76.57	0.18
Clay (%)	3.68	0.02	8.63	0.22	4.05	0.08	20.06	0.27
Silt (%)	2.44	0.08	1.89	0.07	4.06	0.21	3.37	0.14

233 SE = standard error; V0 – without vinasse application; V5 – five years of vinasse application; V10 – ten years of
 234 vinasse application; and V15 – fifteen years of vinasse application.

235



236

237 **Fig. 3.** Canonical correspondence analysis bi-plot of association of soil physical, chemical and
 238 microbiological properties (pH, C-CO₂, Na, K, Ca, Mg, and EC) and nematode community in
 239 sugarcane fields under vinasse application in Pernambuco, Brazil. Data represent all samples
 240 combined (n = 80). Eigenvalues are 0.26 and 0.19 for the first (horizontal) and second (vertical)
 241 axes, respectively. The first two axes explained 21.64% of the cumulative variance. V0 –
 242 without vinasse application; V5 – five years of vinasse application; V10 – ten years of vinasse
 243 application; and V15 – fifteen years of vinasse application.

244

245 4. Discussion

246 Our results rejected the first hypothesis that fields with a long time of vinasse fertigation
 247 (V10 and V15) would have lower abundance and diversity of plant-parasitic nematodes. Only
 248 in the field with five years of fertigation with vinasse (V5) we observed low abundance and
 249 dominance of plant-parasitic nematodes, but high values of bacterivores and omnivores.
 250 Maranhão et al. (2018) also observed high dominance of plant-parasitic nematodes and
 251 bacterivores in different sugarcane growing areas in Pernambuco State, Brazil. Worldwide,

252 plant parasites are the most predominant trophic group in sugarcane fields (Kawanobe et al.,
253 2020; Steven et al., 2014; Zhang et al., 2017).

254 *Mesocriconema*, *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* and *Pratylenchus* were the most
255 abundant plant parasites found in sugarcane fields. Nematodes of the Criconematidae family,
256 which encompasses the genus *Mesocriconema*, are considered sensitive to environmental
257 disturbances and are usually absent or found in low population densities in agricultural fields
258 (Cares and Huang, 1991) and are abundant in native vegetations (Goulart and Ferraz, 2003;
259 Tomazini et al., 2008), on the contrary to observed here. Similar results to our study were
260 reported by Matos et al. (2011) and Miranda et al. (2012) in sugarcane fields fertigated with
261 vinasse, suggesting that this residue could have a positive effect in the soil population densities
262 of this group of nematodes.

263 The abundance of *Meloidogyne* was lower in fields with vinasse application (V5, V10
264 and V15) than in the field without vinasse application (V0). Similar observations were reported
265 by Pedrosa et al. (2005) and Matos et al. (2011), in which the application of vinasse in infested
266 fields reduced *Meloidogyne* spp. populations. However, in fields with more than five years of
267 fertigation with vinasse (V10 and V15), the abundance of *Helicotylenchus* and *Pratylenchus*
268 was high. Some studies showed that this high abundance of both plant-parasitic nematodes was
269 also associated with high damage to sugarcane crops (Noronha et al., 2017; Dinardo-Miranda
270 and Fracasso, 2010). *Pratylenchus* and *Helicotylenchus* were dominant in fields cultivated with
271 sugarcane for up to ten years in Paraná State, Brazil (Arieira et al., 2013). The low population
272 densities of some plant-parasitic nematodes in the fields with vinasse application can be
273 explained by their high sensitivity to vinasse (Miranda et al., 2012). However, decades of
274 monoculture in those fields may have favored the dominance of *Meloidogyne*, *Pratylenchus*
275 and *Helicotylenchus*.

276 In Brazilian Northeastern region, *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus* spp. are responsible
277 for losses up to 50% of sugarcane yields (Dinardo-Miranda and Fracasso, 2010). Other

278 nematode genera associated with sugarcane, some of them we also found in our study, are
279 *Helicotylenchus*, *Mesocriconema*, *Paratrichodorus*, *Trichodorus* (Silva et al., 2019),
280 *Xiphinema*, *Hemicycliophora*, *Tylenchorhynchus*, *Tylenchulus*, *Aphelenchoides*, *Rotylenchulus*
281 and *Scutellonema* (Bellé et al., 2014; Singh et al., 2020), although associated with lower damage
282 than that provoked by nematodes in the genera *Meloidogyne* and *Pratylenchus*.

283 Predators and fungivores were the least abundant in the sugarcane fields sampled and no
284 predators were found in the V0 and V10. Cardoso et al. (2015) also observed a low abundance
285 of predators and fungivores in sugarcane fields, with a predominance of plant parasitic
286 nematodes. The low number of predators may contribute to the high abundance of plant
287 parasites (Vicente et al., 2015), which could explain the dominance of plant parasites in the
288 fields here evaluated.

289 In northeastern Brazilian sugarcane fields, the dominance of bacterivores has been
290 already recorded (Vicente et al., 2016), corroborating our results. The high dominance of
291 bacterivores could be a result from the increase in the soil populations of fungi and bacteria due
292 to the application of organic matter to the soil (Ferris, 2010). Therefore, our results partially
293 confirm the second hypothesis, that a greater population of microbiovorous and predator
294 nematodes occur in areas with vinasse application in comparison to areas without vinasse,
295 because the population density of predators was lower than that observed to other groups of
296 nematodes, despite the high abundance of microbiovorous.

297 Although omnivorous are considered relatively sensitive to soil disturbances (Yeates et
298 al., 1993), rarely found in agricultural fields, such as in sugarcane crops (Goulart and Ferraz,
299 2003), this group of nematodes, represented by the Dorylaimidae family, was one of the most
300 abundant in all the sugarcane fields here evaluated. Cardoso et al. (2016) and Matos et al. (2011)
301 also found high abundance of omnivores in sugarcane fields with and without vinasse
302 application, corroborating our results.

303 The c-p3 nematodes are tolerant to soil disturbances (Bongers and Bongers, 1998;
304 Korthals et al., 1996) and in our study they were the most abundant in the four sugarcane fields,
305 represented only by plant-parasitic nematodes (*Mesocriconema*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*,
306 *Helicotylenchus*, *Rotylenchulus*, and *Hemicycliophora*). The field V5 differed from the others
307 by the predominance of nematodes c-p1 and c-p4, which are considered colonizers and tolerant
308 to various environmental disturbances (c-p1) or persistent nematodes sensitive to ecosystem
309 disturbances (c-p4) (Bongers and Bongers, 1998; Bongers, 1990). The c-p1 nematodes are also
310 known to be opportunistic in environments with high microbial activity due to the addition of
311 organic matter, as well as indicators of soil fertility (Neher, 2001; Ferris et al., 2001).
312 Rhabditidae is one of the main colonizing nematodes (c-p1) and it is associated with soils with
313 high nutrient contents (Jiang et al., 2013). Therefore, the application of vinasse should favor
314 the dominance of the c-p1 group and the reduction of c-p3 nematodes. On the contrary, we
315 observed the prevalence of c-p3 in fields with and without vinasse.

316 High level of disturbance was observed in V5, and relatively stable conditions in the other
317 fields, by the analysis of the MI, which indicates the degree of disturbance in an ecosystem
318 (Bongers, 1990). Low MI values are associated with the dominance of bacterivores, a
319 phenomenon observed in this study (Yan et al., 2018). The performance of agricultural practices
320 stimulates microbial activity, providing resources for opportunistic nematodes and,
321 consequently, promoting a reduction in MI, followed by a gradual and successive increase
322 (Bongers and Ferris, 1999).

323 V10 showed the highest BI value, revealing that this environment suffered the greatest
324 reduction in the food chain due to scarcity of resources, stress, or contamination, compared to
325 other fields (Ferris et al., 2001). High values of BI and CI may indicate that the structure of the
326 soil food web was dominated by fungivores (Berkelmans et al., 2003), although this group was
327 not the dominant in V0, V5 and V15, only V10 showed high abundance of fungivores. High EI
328 values indicate an enriched environment in response to the development of opportunistic

329 nematodes (Ferris et al., 2001). The highest EI was observed in V15, due to the dominance of
330 bacterivores, indicating that the application of vinasse in this monocropped field favored the
331 dominance of this group due to the availability of food (Berkelmans et al., 2003; Vicente et al.,
332 2016; Sánchez-Moreno et al., 2006).

333 The metabolic footprint of nematodes provides information about ecosystem functions
334 and the services provided by organisms in the soil food web, allowing measurement of the
335 magnitude of soil energy and carbon flux (Ferris, 2010). The predator footprint was
336 significantly higher in sugarcane fields with more than 10 years of fertigation with vinasse
337 (V15) than in other fields, indicating that the soil food web in this field is more stable and
338 complex, due to the high number of individuals belonging to Mononchidae (Ferris et al., 2001).

339 The highest values of enrichment footprint and bacterivore footprint observed in V5
340 suggested a high quality of organic matter and recent input of energy and C through the bacterial
341 channel (Ferris, 2010). Low EI values in sugarcane fields can be attributed to the low quality
342 of organic matter due to management strategies (Cardoso et al., 2016). The enrichment and
343 structure footprint revealed that all sugarcane fields in this study can be classified as low to
344 moderately disturbed environments, with a mature N-enriched food chain, and with a channel
345 with multiple decomposition pathways (Cesarz et al., 2015; Ferris, 2010).

346 Vinasse fertigation promotes significant changes in the physical and chemical properties
347 of the soil (Barros et al., 2010; Miranda et al., 2012; Matos et al., 2013) as well as in the
348 nematode community in soils cultivated with sugarcane (Cardoso et al., 2016; Vicente et al.,
349 2015). Vinasse is an organic fertilizer with an acid pH, high electrical conductivity, rich in
350 organic matter, K, Ca and Mg (Christofolletti et al., 2013). In addition to biofertilizer, it has
351 been used as a soil conditioner for promoting the physical quality of sugarcane fields, mainly
352 caused by the compaction generated by the intense traffic of machinery (Pereira et al., 2015).
353 V10 showed the highest levels of Na, K, Ca and Mg. Barros et al. (2010) observed that the use

354 of vinasse for 10 years increased the availability of macronutrients, the same effect observed in
355 this study.

356 In CCA, positive correlations were observed between microbial respiration (C-CO₂) and
357 the Rhabdidae family. The addition of organic residues to the soil influences microbial
358 respiration by promoting an increase in the population density of microbiovores (Moura et al.,
359 2015; Silva et al., 2020). The family Mononchidae (predators) and the genus *Trichodorus* (plant
360 parasite) correlated positively with pH, but were negatively correlated with plant parasites
361 (*Mesocriconema*, *Meloidogyne* and *Paratrichodorus*) and fungivore (Aphelenchidae). Plant-
362 parasitic nematodes support soil pH fluctuations (Melakeberhan et al., 2004). A positive
363 correlation was also obtained between EC and *Meloidogyne* in V0, highlighting EC effect on
364 soil as the physical soil property that influences the abundance of plant-parasitic nematodes
365 (Simon et al., 2018).

366 The physical and chemical properties of the soil exert great influence on the nematode
367 community, as well as any climatic variation or disturbance in the environment can change the
368 composition of the species that make up this community (Karuri, 2021; Silva et al., 2020). In
369 this way, we proved the hypothesis that vinasse application alters and influences the
370 composition of the nematode community in sugarcane fields.

371

372 **5. Conclusion**

373 Vinasse fertigation in sugarcane fields promoted alterations in structure and composition
374 of nematode community, besides the physical and chemical soil characteristics. Decades of
375 monoculture in the Brazilian Northeast region may have favored the dominance of plant-
376 parasitic nematodes in the sugarcane fields. We suggest that application of the vinasse as an
377 organic fertilizer can influence these factors.

378

379

380 **Declaration of interests statement**

381 The authors declare that they have no known competing financial interests or personal
382 relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

383

384 **Acknowledgments**

385 We would like to thank you the CAPES Foundation (Coordination for the Improvement
386 of Higher Education Personnel) and Federal Rural University of Pernambuco for providing
387 scholarships and financial support for development of this study.

388

389 **References**

- 390 Albuquerque, P.H.S., Pedrosa, E.M.R., Moura, R.M., 2002. Relações nematoide-hospedeiro
391 em solo infestado por *Meloidogyne* spp. e tratado com torta de filtro e vinhaça. Nematol.
392 Bras. 26, 27-34.
- 393 Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M., Sparovek, G., 2013. Köppen's
394 climate classification map for Brazil. Meteorol. Z. 22, 711–728. [https://doi.org/](https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507)
395 10.1127/0941-2948/2013/0507.
- 396 Arieira, G.O., Sbrussi, C.A.G., Santiago, D.C., Peñuela, J.E.B., Guimarães, M.F., 2013.
397 Responses of free-living and plant-parasitic nematodes to sugarcane crop in two soils. Rev.
398 Bras. Ciênc. Agrár. 8, 570–575. [https://doi.org/ 10.5039/agraria.v8i4a3027](https://doi.org/10.5039/agraria.v8i4a3027).
- 399 Barros, R.P., Viégas, P.R.A, Silva, T.L., Souza, R.M., Barbosa, L., Viégas, R.A., Barretto,
400 M.C.V., Melo, A.S., 2010. Alterações em atributos químicos de solo cultivado com cana-
401 de-açúcar e adição de vinhaça. Pesqui. Agropec. Trop. 40, 341-346.
- 402 Bellé, C., Kulczynski, S.M., Gomes, C.B., Kuhn, P.R., 2014. Fitonematoides associados à
403 cultura da cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul, Brasil. Nematropica. 44, 207-217.

404 Berkelmans, R., Ferris, H., Tenuta, M., van Bruggen, A.H.C., 2003. Effects of long-term crop
405 management on nematode trophic levels other than plant feeders disappear after 1 year of
406 disruptive soil management. *Appl. Soil Ecol.* 23, 223-235.

407 Bongers, T., 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance
408 based on nematode species composition. *Oecologia.* 83, 14–19.
409 <https://doi.org/10.1007/BF00324627>.

410 Bongers, T., Bongers, M., 1998. Functional diversity of nematodes. *Appl. Soil Ecol.* 10, 239-
411 251. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(98\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00123-1).

412 Bongers, T., Ferris, H., 1999. Nematode community structure as a bioindicator in
413 environmental monitoring. *Trends Ecol. Evol.* 14, 224–228.
414 [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01583-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01583-3).

415 Cardoso, M.O., Pedrosa, E.M.R., Ferris, H., Rolim, M.M., Vicente, T.F.S., David, M.F.L.,
416 2015. Comparing sugarcane fields and forest fragments: the effect of disturbance on soil
417 physical properties and nematode assemblages. *Soil Use Manag.* 31, 397–407.
418 <http://doi.org/10.1111/sum.12190>.

419 Cardoso, M.O., Pedrosa, E.M.R., Rolim, M.M., Oliveira, L.S.C., Santos, A.N., 2016.
420 Relationship between nematode assemblages and physical properties across land use types.
421 *Trop. Plant Pathol.* 41, 107-114. <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0075-7>.

422 Cares, J.H., Huang, S.P., 1991. Nematode fauna in natural and cultivated cerrados of Central
423 Brazil. *Fitopatol. Bras.* 16, 199-209.

424 Cares, J.E., Huang, S.P., 2012. Nematoides do solo, in: Moreira, F.M.S., Huising, E.J., Bignell,
425 D.E. (Eds.), *Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da*
426 *biodiversidade*. Editora UFLA, Lavras, pp. 151-163.

427 Carrilho, E.N.V.M., Labuto, G., Kamogwa, M.Y., 2016. Destination of vinasse, a residue from
428 alcohol industry: resource recovery and prevention of pollution, in: Prasad, M.N.V., Shih,

429 K. (Eds.), Environmental materials and waste: resource recovery and pollution prevention.
430 Academic Press, London, pp. 21-43. <https://doi.org/10.1016/C2014-0-05144-1>.

431 Cavalcanti, R.Q., Rolim, M.M., Lima, R.P., Tavares, U.E., Pedrosa, E.M.R., Gomes, I.F., 2019.
432 Soil physical and mechanical attributes in response to successive harvests under sugarcane
433 cultivation in Northeastern Brazil. *Soil Tillage Res.* 189, 140–147.
434 <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.01.006>.

435 Cesarz, S., Reich, P.B., Scheu, S., Ruess, L., Schaefer, M., Eisenhauer, N., 2015. Nematode
436 functional guilds, not trophic groups, reflect shifts in soil food webs and processes in
437 response to interacting global change factors. *Pedobiologia.* 58, 23-32.
438 <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2015.01.001>.

439 Christofolletti, C.A., Escher, J.P., Correia, J.E., Marinho, J.F.U., Fontanetti, C.S., 2013.
440 Sugarcane vinasse: environmental implications of its use. *Waste Manag.* 33, 2752-2761.
441 <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.09.005>.

442 De Ley, P., Blaxter, M.L., 2002. Systematic position and phylogeny, in: Lee, D.L. (Ed.), *The*
443 *biology of nematodes*. Taylor and Francis, London, pp. 1-30.

444 Dinardo-Miranda, L.L., Fracasso, J.V., 2010. Spatial and temporal variability of plant-parasitic
445 nematodes population in sugarcane. *Bragantia.* 69, 39-52. [https://doi.org/10.1590/S0006-](https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000500006)
446 [87052010000500006](https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000500006).

447 El-Maslamany, Z.Z.M., El-Kasass, M.S., El-Sebsy, A.A., 2020. Effect of some soil
448 conditioners on physical and chemical properties of north sinai sandy soils. *Sinai J. Appl.*
449 *Sci.* 9, 41-56. <https://doi.org/10.21608/SINJAS.2020.86388>.

450 Faostat, 2019. Crop Production Statistics. Available from [http://www.fao.org/faostat/](http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize)
451 [en/#data/QC/visualize](http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize) (accessed 18 June 2021).

452 Ferris, H., 2010. Form and function: metabolic footprints of nematodes in the soil food web.
453 *Eur. J. Soil Biol.* 46, 97-104. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.01.003>.

454 Ferris, H., Bongers, T., Goede, R.G.M., 2001. A framework for soil food web diagnostics:
455 extension of the nematode faunal analysis concept. *Appl. Soil Ecol.* 18, 13-29.
456 [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00152-4](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00152-4).

457 Fuess, L.T., Garcia, M.L., 2015. Bioenergy from stillage anaerobic digestion to enhance the
458 energy balance ratio of ethanol production. *J. Environ. Manage.* 162, 102–114.
459 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.07.046>.

460 Fuess, L.T., Rodrigues, I.J., Garcia, M.L., 2017. Fertirrigation with sugarcane vinasse:
461 foreseeing potential impacts on soil and water resources through vinasse characterization.
462 *J. Environ. Sci. Health A.* 52, 1063-1072. [https://doi.org/10.1080/10934529.2017.](https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1338892)
463 [.1338892](https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1338892).

464 Goulart, A.M.C., Ferraz, L.C.C.B., 2003. Comunidade de nematoides em cerrado com
465 vegetação original preservada ou substituída por culturas. I. Diversidade trófica. *Nematol.*
466 *Bras.* 27, 123-128.

467 Grisi, B.M., 1978. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos.
468 *Ci. Cult.* 30, 82-88.

469 Jenkins, W.R., 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from
470 soil. *Plant Dis. Rep.* 48, 692.

471 Jesus, A.M., Pedrosa, E.M.R., Reis, J.B.R.S., Porto, A.C.F., 2020. Morphological and
472 morphometric characterization of *Pratylenchus* species in sugarcane cropping areas of
473 Pernambuco state. *Rev. Caatinga.* 33, 599-607. [https://doi.org/10.1590/1983-](https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n303rc)
474 [21252020v33n303rc](https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n303rc).

475 Jiang, C., Sun, B., Li, H., Jiang, Y., 2013. Determinants for seasonal change of nematode
476 community composition under long-term application of organic manure in an acid soil
477 in subtropical China. *Eur. J. Soil Biol.* 55, 91–99. [https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.](https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.11.003)
478 [2012.11.003](https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.11.003).

479 Kawanobe, M., Sugihara, S., Miyamaru, N., Yoshida, K., Nonomura, E., Oshiro, H., Toyota,
480 K., 2020. Distribution of root-lesion and stunt nematodes, and their relationship with soil
481 properties and nematode fauna in sugarcane fields in Okinawa, Japan. *Agronomy*. 10, 1-
482 15. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060762>.

483 Korthals, G.W., Goede, R.G.M., Kammenga, J.E., Bongers, T., 1996. The maturity index as an
484 instrument for risk assessment of soil pollution, in: van Straalen, N.M., Krivolutsky, D.A.
485 (Eds.), *Bioindicator Systems for Soil Pollution*. Springer Netherlands, Amsterdam, pp. 85-
486 93.

487 Karuri, H. 2021. Nematode community structure and functional guilds differ in tea fields and
488 tropical forest. *Geoderma*. 392, 115006. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115006>.

489 Maranhão, S.R.V.L., Pedrosa, E.M.R., Guimarães, L.M.P., Chaves, A., Leitão, D.A.H.S.,
490 Vicente, T.F.S., 2018. Nematode abundance and diversity in sugarcane fields in Brazil.
491 *Trop. Plant Pathol.* 43, 485–498. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0253-x>.

492 Matos, A.T., Gariglio, H.A.A., Monaco, P.A.V., 2013. Deslocamento miscível de cátions da
493 vinhaça em colunas de solo. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.* 17, 743-749.
494 <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013000700008>.

495 Matos, D.S.S., Pedrosa, E.M.R., Guimarães, L.M.P., Rodrigues, C.V.M.A., Barbosa, N.M.R.,
496 2011. Relações entre a nematofauna e atributos químicos de solo com vinhaça.
497 *Nematropica*. 41, 23-38.

498 Melakeberhan, H., Dey, J., Baligar, V.C., Carter Junior, T.E., 2004. Effect of soil pH on the
499 pathogenesis of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* on *Glycine max*
500 genotypes. *Nematology*. 6, 585-592. <http://dx.doi.org/10.1163/1568541042665205>.

501 Miranda, T.L., Pedrosa, E.M.R., Silva, E.F.F., Rolim, M.M., 2012. Alterações físicas e
502 biológicas em solo cultivado com cana-de-açúcar após colheita e aplicação de vinhaça.
503 *Rev. Bras. Ciênc. Agrár.* 7, 150-158. <https://doi.org/10.5039/agraria.v7i1a897>.

504 Moran-Salazar, R.G., Sanchez-Lizarraga, A.L., Rodriguez-Campos, J., Davila-Vazquez, G.,
505 Marino-Marmolejo, E.N., Dendooven, L., Contreras-Ramos, S.M., 2016. Utilization of
506 vinasses as soil amendment: consequences and perspectives. SpringerPlus. 5, 1-11.
507 <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2410-3>.

508 Moura, J.A., Gonzaga, M.I.S., Anjos, J.L., Rodrigues, A.C.P., Leão, T.D.S., Santos, L.C.O.,
509 2015. Respiração basal e relação de estratificação em solo cultivado com citros e tratado
510 com resíduos orgânicos no estado de Sergipe. Semina. 36, 731-746.
511 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n2p731>.

512 Naspolini, B.F., Machado, A.C.O., Cravo Júnior, W.B., Freire, D.M.G., Cammarota, M.C.,
513 2017. Bioconversion of sugarcane vinasse into high-added value products and energy.
514 Biomed Res. Int. <https://doi.org/10.1155/2017/8986165>.

515 Neher, D.A., 2001. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. J. Nematol. 33,
516 161–168.

517 Noronha, M.A., Muniz, M.F.S., Cruz, M.M., Assunção, M.C., Castro, J.M.C., Oliveira, E.R.L.,
518 Miranda, C.G.S., Machado, A.C.Z., 2017. *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species in
519 sugarcane fields in the state of Alagoas, Brazil. Ciênc. Rural. 47, 1-3.
520 <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20151402>.

521 Oliveira, A.B., 2018. Sugarcane: Technology and Research. Intechopen, London.

522 Oliveira, B.G., Carvalho, J.L.N., Cerri, C.E.P., Cerri, C.C., Feigl, B.J., 2013. Soil greenhouse
523 gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. Geoderma. 200, 77-84.
524 <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.02.005>.

525 Oliveira, B.G., Mendes, L.W., Smyth, E.M., Tsai, S.M., Feigl, B.J., Mackie, R.I., 2020.
526 Assessment of microbial diversity associated with CH₄ emission from sugarcane vinasse
527 storage and transportation systems. J. Environ. Manage. 269 [https://doi.org/10.1016/](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110748)
528 [j.jenvman.2020.110748](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110748).

529 Prado, E.A.F., Vitorino, A.C.T., Colman, B.A., Ensinas, S.C., Cortez, J.W., 2017. Doses of
530 vinasse and its effects at the physical attributes of rhodic hapludox under sugar cane. Braz.
531 J. Agric. 92, 115-131.

532 Pedrosa, E.M.R., Rolim, M.M., Albuquerque, P.H.S., Cunha, A.C., 2005. Supressividade de
533 nematóides em cana-de-açúcar por adição de vinhaça ao solo. Rev. Bras. Eng. Agríc.
534 Ambient. 9, 197–201. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v9nsupp197-201>.

535 Pereira, A.H.F., Vitorino, A.C.T., Prado, E.A.F., Bergamin, A.C., Mauad, M., Arantes, H.P.,
536 2015. Least limiting water range and load bearing capacity of soil under types of tractor-
537 trailers for mechanical harvesting of green sugarcane. Rev. Bras. Ciênc. Solo. 39, 1603-
538 1610. <https://doi.org/10.1590/01000683rbcs20140561>.

539 R Core Team, 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation
540 for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>.

541 Sánchez-Moreno, S., Minoshima, H., Ferris, H., Jackson, L.E., 2006. Linking soil properties
542 and nematode community composition: effects of soil management on soil food webs.
543 Nematology. 8, 703-715. <https://doi.org/10.1163/156854106778877857>.

544 Sieriebriennikov, B., Ferris, H., Goede, R.G.M., 2014. NINJA: an automated calculation
545 system for nematode-based biological monitoring. Eur. J. Soil Biol. 61, 90–93.
546 <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.02.004>.

547 Silva, J.V.C.L., Cares, J.E., Esteves, A.M., 2020. Uso do solo e variações climáticas na caatinga
548 e seus efeitos sobre a comunidade de nematoides. An. Acad. Pernamb. Ciênc. Agr. 17, 51-
549 61.

550 Silva, J.V.C.L., Cares, J.E., Moura, R.M., 2019. Ectoparasitas da cana-de-açúcar e a
551 predominância do gênero *Helicotylenchus*. An. Acad. Pernamb. Ciênc. Agr. 16, 119-129.

552 Simon, A.C.M., Lopez-Nicora, H.D., Niblack, T.L., Dayton, E.A., Tomashefski, D., Paul, P.A.,
553 2018. Cropping practices and soil properties associated with plant-parasitic nematodes in

554 corn fields in Ohio. *Plant Dis.* 102, 2519-2530. [https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0471-](https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0471-RE)
555 RE.

556 Singh, P.R., Kashando, B.E., Couvreur, M., Karssen, G., Bert, W., 2020. Plant-parasitic
557 nematodes associated with sugarcane in Kilimanjaro, Tanzania. *J. Nematol.* 52, 1-17.
558 <https://doi.org/10.21307/jofnem-2020-059>.

559 Steven, A., Sunday, S., Fisayo, D., 2014. Biodiversity of plant-parasitic nematodes of sugarcane
560 in Bacita, Nigeria. *J. Entomol. Nematol.* 6, 71–79. <https://doi.org/10.5897/JEN2014.0096>.

561 Teixeira, P.C., Donagemma, G.K., Fontana, A., Teixeira, W.G., 2017. Manual de métodos de
562 análise de solo, third ed. Embrapa, Brasília.

563 Tenório, Z., Carvalho, O.S., Silva, O.R.R.F., Montes, J.M.G., López, F.G., 2000. Study of
564 biological activity in northeast Brazil's coastal tableland soils treated with organic residue:
565 stillage and sugar cane solid residue. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.* 4, 70-74.

566 Tomazini, M.D., Ferraz, L.C.C.B., Monteiro, A.R., 2008. Abundância e diversidade e
567 nematoides em áreas contíguas de vegetação natural e submetidas a diferentes tipos de
568 uso agrícola. *Nematol. Bras.* 32, 185-193.

569 UNICA – Brazilian Sugarcane Industry Association, 2021. Brazil: a leader in ethanol
570 production and use. <https://www.sugarcane.org/sugarcane-products/ethanol/>. (accessed 28
571 January 2022).

572 Vicente, T.F.S., Montenegro, A.A.A., Pedrosa, E.M.R., Fontes Júnior, R.V.P., Silva, J.S.,
573 Tavares, U.E., 2015. Community structure and spatial variability of soil nematodes in an
574 alluvial soil in a semiarid region of Pernambuco state, Brazil. *Nematoda.* 2, 1-12.
575 <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.08015>.

576 Vicente, T.F.S., Pedrosa, E.M.R., Silva, L.M.A., Rolim, M.M., Castro, D.B., Leitão, D.A.H.S.,
577 2016. Dinâmica temporal da comunidade de nematoides em cana-de-açúcar em condição
578 de baixa umidade do solo. *Nematropica.* 46, 235-243.

- 579 Yan, D., Yan, D., Song, X., Yu, Z., Peng, D., Ting, X., Weng, B., 2018. Community structure
580 of soil nematodes under different drought conditions. *Geoderma*. 325, 110-116.
581 <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.03.028>.
- 582 Yeates, G.W., Bongers, T., Goede, R.G.M., Freckman, D.W., Georgieva, S.S., 1993. Feeding
583 habits in soil nematode families and genera—an outline for soil ecologists. *J. Nematol.* 25,
584 315–331.
- 585 Zhang, F., Gao, C., Wang, J., Lu, Y., Shen, Z., Liu, T., Chen, D., Ran, W., Shen, Q., 2017.
586 Coupling sugarcane yield to soil nematodes: Implications from different fertilization
587 regimes and growth stages. *Agric. Ecosyst. Environ.* 247, 157–165.
588 <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.020>.

CAPÍTULO III

Mitochondrial genome and identification of repetitive DNA sequences from a short-reads sequence of the plant-parasitic nematode *Pratylenchus brachyurus*

Artigo a ser submetido:

Nematology

JCR = 1,442/ Qualis = A2

1 **Mitochondrial genome and identification of repetitive DNA sequences from a short-reads**
2 **sequence of the plant-parasitic nematode *Pratylenchus brachyurus***

3

4 Natalia de Jesus Ferreira Costa^{1,*}, Elvira Maria Regis Pedrosa ¹, Andressa Cristina Zamboni
5 Machado², Rosana Blawid¹, Santino Aleandro da Silva²

6

7 ¹ Federal Rural University of Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, Dois Irmãos 52171-
8 900, Recife, Pernambuco, Brazil

9 ² Department of Plant Protection, Agronomic Institute of Paraná, 86047-902, Londrina, Paraná,
10 Brazil

11

12 *Corresponding author.

13 *E-mail adress*: natalia.jfc@gmail.com (N. Costa)

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26 **Mitochondrial genome and identification of repetitive DNA sequences from a short-reads**
27 **sequence of the plant-parasitic nematode *Pratylenchus brachyurus***

28

29 **Summary** – The plant-parasitic nematode *Pratylenchus brachyurus* is an important pest to
30 several crops worldwide, such as soybean, sugarcane, cotton, coffee, maize, among others,
31 causing yield losses of up to 85% of the yields. This root-lesion nematode provokes necrotic
32 lesions on roots due to moving through the root cortex and excreting toxins and enzymes that
33 destroy root tissue during your feed. Despite its economic importance and recent advances in
34 sequencing technologies, no studies about the genome of this nematode have been performed.
35 Therefore, for the first time, we performed the short-read sequencing of *P. brachyurus* with
36 Illumina NextSeq (2x100 bp) and used it to assembly the mitochondrial genome and to identify
37 and characterize the repetitive DNA of the genome of this parasite. Paired-end reads of
38 *Radopholus similis* and *Bursaphelenchus mucronatus* were obtained from public database and
39 used for comparative analysis and identification of the repetitive elements. The partially
40 assembled mitochondrial genome of *P. brachyurus* (17,369 bp) contains 24 genes that are
41 encoded in the same direction, with exception of one tRNA (*trnF*), and comprises 9 protein-
42 coding genes, 13 tRNA genes, and two rRNA genes. More than half of the genomes of *P.*
43 *brachyurus* (67.3%), *R. similis* (89.5%) and *B. mucronatus* (59%) are composed of repetitive
44 DNA sequences. Considering only annotated repetitive elements, satDNA was the
45 most abundant element in the genome of *P. brachyurus* and *B. mucronatus*, while for *R. similis*,
46 was the LTR-retrotransposons. Results obtained in this study could be an important tool for
47 evolutionary, phylogenetic, and taxonomic studies, helping for a better understanding of the
48 genome of this nematode.

49 **Keywords** – Mitogenome, Repetitive sequences, Organellar genome assembly, Root-lesion
50 nematode.

51

52 Nematodes are among the most abundant, common, and ecologically diverse
53 multicellular organism groups (Kern *et al.*, 2020) that are found in soil, aquatic environments,
54 plants, or animals (Seesao *et al.*, 2017). Among these organisms, the group of plant-parasitic
55 nematodes causes significant losses to world agriculture due to the parasitism of high economic
56 important crops, causing damages to root tissues. Annual losses caused to worldwide
57 agricultural production due to nematode attacks are estimated between US\$ 100 and 157 billion
58 (Bridge & Starr, 2007; Singh *et al.*, 2013).

59 Root-lesion nematodes, taxonomically belonging to the genus *Pratylenchus* Filipjev
60 (1936), family Pratylenchidae, are migratory and polyphagous endoparasites, which develop
61 and reproduce into the root or on soil. These nematodes feed and move through the root cortex,
62 excreting toxins and enzymes that destroy the root tissues, as a result the necrotic lesions are
63 visualized, in addition to poor vigor of plants and crop yield losses. This genus is one of the
64 most important genera of plant-parasitic nematodes (PPNs) for crops worldwide (Handoo *et*
65 *al.*, 2021; Jones *et al.*, 2013). Currently, the genus includes more than 100 described species,
66 that can cause yield losses of up to 85% of the yields (Janssen *et al.*, 2017; Nicol *et al.*,
67 2011). Among these species, *P. brachyurus* highlights due to its wide geographical distribution
68 and by the parasitism of a wide range of hosts (Castillo & Vovlas, 2007). *P. brachyurus* has a
69 high frequency of occurrence in important economic crops in Brazil, such as soybean,
70 sugarcane, cotton, coffee, maize, among others (Machado, 2014).

71 The taxonomic separation between the species of the genus *Pratylenchus* through
72 morphological characters is complex due to the high intraspecific variability and to the low
73 number of characters used for diagnosis at the species level (Castillo & Vovlas, 2007; Loof,
74 1960; Luc, 1987). Due to this limitation, molecular and biochemical tools have been used to
75 improve the correct identification of species belonging to the genus *Pratylenchus* (Gonzaga *et*
76 *al.*, 2016). Ribosomal (rDNA) and mitochondrial DNA (mtDNA) sequences have been used
77 as a successful diagnostic approach in several organisms, including plant-parasitic nematodes

78 (Sultana *et al.*, 2013b; Jones *et al.*, 2013). However, mitochondrial genes evolve faster than
79 ribosomal genes, which makes them particularly useful for the development of genetic markers
80 for species identification and studies of intraspecific variability (Humphreys-Pereira & Elling,
81 2014).

82 The mitogenome has been widely used in species identification and evolutionary studies
83 of plant-parasitic nematodes, due to their abundance, small size, maternal inheritance, rapid
84 evolutionary rate, and absence of mtDNA genetic recombination (Liu *et al.*, 2013; Sultana *et*
85 *al.*, 2013b; Sun *et al.*, 2014b). Mitochondrial genome sequencing provides data that can be used
86 in several evolutionary and phylogenetic studies. The comparative analysis of information from
87 the mitochondrial genome of nematodes has resolved relationships at different levels of
88 divergence within the phylum Nematoda. To date, *P. vulnus* is the only species belonging to
89 this genus that had its mitogenome completely sequenced (Sultana *et al.*, 2013b).

90 The application of the next-generation sequencing (NGS) to plant-parasitic nematodes
91 has allowed the study and elucidation of barely understood processes of the genome of these
92 pathogens (Kikuchi *et al.*, 2017; Jacob *et al.*, 2009). This technology has been used to assembly
93 the mitochondrial genome of several metazoans, including *Meloidogyne graminicola* (Besnard
94 *et al.*, 2014), *Hoplolaimus galeatus* (Ma *et al.*, 2022), and *Hoplolaimus columbus* (Ma *et al.*,
95 2020). Besides, next-generation sequencing reads can be used for the characterization of
96 repetitive DNA in eukaryotes (Novák *et al.*, 2020).

97 The repetitive sequences, which are DNA fragments present in multiple copies in the
98 genome, can represent up to 90% of the genome size (Mehrotra & Goyal, 2014; Novák *et al.*,
99 2020). In addition to influencing genome size, repetitive sequences facilitate rapid genome
100 restructuring, affect gene and genome evolution in several ways, and are involved in various
101 processes such as recombination, chromosome pairing, determination of chromosome structure,
102 karyotypic evolution, regulation of gene and genome expression in response to environmental
103 stimuli and physiological changes (Bennetzen & Wang, 2014; Garrido-Ramos, 2017; Mehrotra

104 & Goyal, 2014). Although the sequencing of plant-parasitic nematodes genomes has increased
105 in recent years, few studies have investigated the repetitive fraction of the genome of these
106 organisms. Therefore, the aims of this study were to assembly a mitochondrial genome and
107 identify and characterize the repetitive DNA using short-reads sequences of *P. brachyurus*.

108

109 **Materials and methods**

110 NEMATODE SAMPLES

111 The population of the root-lesion nematode *P. brachyurus* used in our study has been
112 maintained in okra plants [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.] cv. Santa Cruz 47, under
113 greenhouse conditions at the Rural Development Institute of Parana - IAPAR-EMATER (IDR–
114 Paraná), located at the municipality of Londrina, Paraná, Brazil (23°21'20.0"S;
115 51°09'58.2"W). Nematodes were extracted from okra roots using the optimized Baermann
116 funnel methodology, as described by Machado & Silva (2019). Around 5,000 specimens of
117 mixed stages of *P. brachyurus* were collected under an optical microscope (40x-100x
118 magnification) and freezer storage (-20 °C) in a microtube (1.5 mL) with distilled water, until
119 further processing.

120

121 DNA EXTRACTION AND SEQUENCING

122 Total DNA of *P. brachyurus* was extracted using the Worm Lysis Buffer (WLB) with the
123 proteinase K method, according to Amorim *et al.* (2019). DNA extracted was quantified using
124 a Nanodrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific) and 10 µl of genomic DNA (gDNA)
125 were loaded on 1% agarose gel to control the DNA quality. The library was built using the
126 Illumina DNA Prep Kit (Illumina, San Diego, CA, USA) according to the manufacturer's
127 instructions. Paired-end sequencing (2x100 bp) of total genomic DNA was performed with
128 Illumina NextSeq 2000 System. DNA extraction and whole-genome shotgun sequencing were
129 performed at the NGS Genomic Solutions, University of São Paulo (USP), Piracicaba, SP,

130 Brazil. A total of 13,831,964 reads (35-101 bp) were obtained, with 43% of GC content, and
131 all reads were of high-quality according to PHRED quality scores (Q-score) > 30.

132

133 MITOCHONDRIAL GENOME ASSEMBLY AND ANNOTATION

134 Raw reads were quality checked with FastQC v.0.11.9
135 (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>) and trimmed with Trimmomatic
136 v.0.39 (Bolger *et al.*, 2014). *De novo* assembly was performed in NOVOPlasty v.4.3
137 (Dierckxsens *et al.*, 2017), and the mitochondrial genome of *P. vulnus* available on GenBank
138 (GQ332425.1) was used as a seed. Mapping and extension were performed with the software
139 Geneious R11 (Kearse *et al.*, 2012). The assembled mitochondrial genome was annotated using
140 the invertebrate genetic code in the MITOS2 web server ([http://mitos2.bioinf.uni-](http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py)
141 [leipzig.de/index.py](http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py)) (Donath *et al.*, 2019).

142

143 ANALYSIS OF REPETITIVE DNA SEQUENCES

144 The identification and characterization of the repetitive elements by similarity-based
145 clustering was performed using the RepeatExplorer2 pipeline (Novák *et al.*, 2020),
146 implemented in the Galaxy server (<https://repeatexplorer-elixir.cerit-sc.cz/galaxy>). Initially, 2
147 million read pairs were extracted from each paired-end reads in Seqtk version 1.3
148 (<https://github.com/lh3/seqtk/>), as recommended by Novák *et al.* (2020). For large datasets
149 (>10 million read pairs), such as those used here (Table 1), this step is highly recommended,
150 because it is more than can be processed by RepeatExplorer2.

151 RepeatExplorer2 pipeline provides automated annotation of transposable elements (TEs)
152 and identification of *tandem* repeats, allowing us to detect the genomic proportion of each
153 repetitive element cluster, which was calculated as the percentage of reads (Novák *et al.*, 2020).
154 Manual correction of automated repeat annotation was performed after obtaining the results.
155 Paired-end reads of *Radopholus similis* and *Bursaphelenchus mucronatus* were obtained from

156 the C (ENA) database (<https://www.ebi.ac.uk/ena>) and used for comparative analysis and
157 identification of the repetitive elements (Table 1).

158

159 **Results**

160 MITOCHONDRIAL GENOME OF *P. brachyurus*

161 The partially assembled mitochondrial genome of *P. brachyurus* were 17,362 bp in
162 length. Twenty-four genes were detected in the mtDNA sequence annotated, that comprises 9
163 protein-coding genes (PCGs), 13 transfer RNA (tRNA) genes, and two ribosomal RNA (rRNA)
164 genes (*rrnS* and *rrnL*), all encoded in the same direction with exception of one tRNA (*trnF*)
165 (Fig. 1). The nucleotide composition of the mtDNA genome was 27.8% A, 6.7% C, 11.7% G,
166 and 53.8% T. Several PCGs (*nad4l*, *atp6* and *nad6*) and tRNA (*trnI*, *trnA*, *trnS2*, *trnD*, *trnE*,
167 *trnK*, *trnL2*, *trnR*, and *trnS*) were missing in the assembly of the mitogenome of *P. brachyurus*.

168 The total length of 9 PCGs annotated in mtDNA is 8,906 bp, representing 51.3% of the
169 entire length of the mitogenome of *P. brachyurus*. The most common initiation codon is ATT
170 for five genes (*nad1*, *nad2*, *cox3*, *cox2*, and *nad3*), followed by ATG for two genes (*nad5* and
171 *nad4*), and TTG and TCG for *cob* and *cox1* gene, respectively. Seven genes (*nad5*, *cox1*, *nad1*,
172 *nad2*, *cox3*, *cob*, and *nad4*) have TAA terminate codon, and two genes (*cox2* and *nad3*) uses
173 TAG as its termination codon. Among the 9 PCGs, the two longest genes were *nad5* (1476 bp)
174 and *cox1* (1524 bp), and the two shortest genes were *nad3* (345 bp) and *cox2* (678 bp) (Table
175 2).

176 The rRNA genes of the mitogenome of *P. brachyurus* identified were *rrnL* (845 bp),
177 positioned between *trnH* and *nad3*, and *rrnS* (651 bp) between *trnM* and *trnY*. The length of
178 the 13 tRNA genes ranged from 53 bp (*trnY*) to 73 bp (*trnLI*) (Fig. 1, Table 2). Gene overlaps
179 were observed at eight genes junctions ranging from 1 to 37 bp in length: *trnQ-trnF* (34 bp),
180 *trnF-cox1* (18 bp), *cox1-trnT* (15 bp), *nad1-nad2* (13 bp); *nad2-trnP* (37 bp), *cox3-trnN* (4 bp);
181 *trnN-trnG* (1 bp), and *cox2-trnH* (2 bp) (Table 2). Intergenic spaces were found in 10 gene

182 junctions. The two longest intergenic space was in the gene junction *trnC-cox2* (1060 bp) and
183 *nad5-trnQ* (971 bp), while the two smallest were between *trnM-rrnS* (13 bp) and *rrnS-trnY* (14
184 bp).

185

186 REPEAT COMPOSITION OF PLANT-PARASITIC NEMATODES GENOMES

187 The repetitive fraction of the genome of *P. brachyurus* corresponded to 67.3% of all
188 analyzed reads (1,959,488 reads) and 32.7% remained as single copies. In the other genomes
189 of plant-parasitic nematodes here analyzed, the repetitive fraction corresponded to 89.5%
190 (1,387,910 reads) in *R. similis* and 59% (593,235 reads) in *B. mucronatus* (Fig. 2). A total of
191 352,054 clusters (CLs) were obtained, in which 139 CLs were identified as the most abundant
192 representative repetitive elements in the genome of *P. brachyurus*, whose percentage of
193 repetitive DNA in the top clusters was 5.70%. We reported a total of 224,225 and 99,746 CLs
194 in the genomes of *R. similis* and *B. mucronatus*, whose percentage of reads in top clusters was
195 18.89% (256 CLs) and 16.11% (106 CLs), respectively (Table 3). Clusters representing repeats
196 that comprised at least 0.01% of the evaluated genomes were characterized and quantified.

197 The genome proportions of each type of repetitive sequence of the plant-parasitic
198 nematodes here analyzed are summarized in Table 3. Unclassified CLs represented the major
199 fraction of repetitive DNA in all analyzed genomes, corresponding to clusters that were not
200 assigned to known repeat families. Satellite DNA was the second most abundant element in the
201 genome of *P. brachyurus* (1.35%) and *B. mucronatus* (1.74%). TEs were the second most
202 abundant repeats in *R. similis* (2.66%), in which the LTR-retrotransposons represented 1.09%
203 of the genome, and Ty3/Gypsy and Ty1/Copy elements represented the major proportion. In
204 addition, a moderately proportion in the genome of organellar DNA was observed, ranging
205 from 0.18% (*B. mucronatus*) to 0.57% (*P. brachyurus*), as well as rDNA (Table 3).

206

207

208 Discussion

209 Only one species belonging to the genus *Pratylenchus* (*P. vulnus*) had its mitogenome
210 completely sequenced anteriorly (Sultana *et al.*, 2013b). We observed that the gene arrangement
211 of the partial mitochondrial genome of *P. brachyurus* obtained in this study is quite different
212 from *P. vulnus* (Sultana *et al.*, 2013b). Although the mtDNA genome of *P. brachyurus* is not
213 complete, it is smaller than that of *P. vulnus* (21,656 bp). The large size of the mitogenome of
214 *P. vulnus* is due to lengthy non-coding regions composed of *tandem* repeats (Sultana *et al.*,
215 2013b). Comparing with other nematodes, the size of mtDNA of *P. brachyurus* is smaller than
216 that of *M. graminicola* (20,030 bp) (Besnard *et al.*, 2014), *Heterodera glycines* (~ 21-22 bp)
217 (Gibson *et al.*, 2011), and *H. columbus* (25,228 bp) (Ma *et al.*, 2020), and larger than
218 mitogenome of *B. mucronatus* (14,583 bp) (Sultana *et al.*, 2013a), *B. xylophilus* (14,778 bp)
219 (Sultana *et al.*, 2013b), *Aphelenchoides besseyi* (16,216 bp) (Sun *et al.*, 2014b), and *R. similis*
220 (16,7191 bp) (Jacob *et al.*, 2009).

221 Due to the lack of several PCGs and tRNA of the mtDNA of *P. brachyurus*, a more
222 detailed comparison of the mtDNA gene orders could not be performed between other
223 nematodes. As observed in the majority of the other mitochondrial genomes of metazoans, *atp8*
224 gene is not present (Hu & Gasser, 2006). In addition, the *rrnL* gene location in *P. brachyurus*
225 next to *nad3* was reported in several mitogenomes of plant-parasitic nematodes (Humphreys-
226 Pereira & Elling, 2014; Jacob *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2014b). Disregarding the
227 position of tRNA genes, the small blocks “*rrnL-nad3-cob*” and “*nad1-nad2-cox3*” are
228 identical in the gene arrangements of *M. graminicola* and *P. vulnus* (Sun *et al.*, 2014a).

229 Most nematodes encoded genes in the same direction. However, one tRNA gene (*trnF*)
230 in the mtDNA of *P. brachyurus* was encoded in the opposite direction. Similar results were
231 observed in the complete mitogenome of *H. columbus* with *trnR* gene (Ma *et al.*, 2020).
232 Although nematodes belonging to the Enoplea class encoded genes in both strands and show a
233 greater variation in gene arrangement even among closely related species, in the mitochondrial

234 genomes of the Chromadorea class, the genes are encoded on the same strand and the gene
235 order is moderately conserved. Gene arrangement can be used as a source of phylogenetic
236 information in nematodes (Kern *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2017).

237 The most common nucleotide in the mtDNA sequence of *P. brachyurus* and *P. vulnus* is
238 T, while the nucleotide A is the least found in these sequences (Sultana *et al.*, 2013b). This
239 composition is also reported in other mitogenomes of nematodes such as *A. besseyi*, *M.*
240 *graminicola*, and *R. similis* (Jacob *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2014a; Sun *et al.*, 2014b). Codons
241 composed of nucleotides A and T are more frequently used in PCGs. In the mitochondrial
242 genome of *P. brachyurus* the start codon ATT is commonly found as well as in several species
243 of plant-parasitic nematodes.

244 Of the 12 PCGs, ATT as an initiation codon was used in seven genes (*cox1*, *cox2*, *cox3*,
245 *nad2*, *nad3*, *nad4*, and *atp6*) in *M. chitwood* (Humphreys-Pereira & Elling, 2014), six (*cox1*,
246 *cox3*, *nad1*, *nad3*, *nad5*, and *nad6*) in *A. besseyi* (Sun *et al.*, 2014b), nine (*cox1-cox3*, *nad1*-
247 *nad3*, *nad5*, *nad6*, and *atp6*) in *B. xylophilus*. However, in the mitogenome of *P. vulnus* ATA
248 is the most common start codon (six PCGS – *cox1-cox3*, *nad2*, *nad4*, and *cob*), followed by
249 ATT with four PCGs (*atp6*, *nad3*, *nad4L*, and *nad5*) (Sultana *et al.*, 2013b). The stop codons
250 TAA and TAG are used in the 9 PCGs of *P. brachyurus*, even as observed in the mtDNA of *P.*
251 *vulnus* and most nematodes (Hu & Gasser, 2006; Sultana *et al.*, 2013b). The truncated
252 termination codon (T or TA) was reported in some metazoan mitogenomes, but in *P.*
253 *brachyurus* this phenomenon was not found (Ojala *et al.*, 1981).

254 The four biggest non-coding regions in the mitogenome of *P. brachyurus* contain the
255 replication origin as reported in many metazoans, that varies from a few hundred bp to tens of
256 kb with *tandem* repeats. We observed gene overlap in *P. brachyurus*, although no gene overlaps
257 were found in the mitogenome of *P. vulnus*. Such overlaps of a few genes are a feature in the
258 mitochondrial genomes of metazoan (Sultana *et al.*, 2013b; Wolstenholme, 1992).

259 Our results demonstrated that more than half of the genomes of *P. brachyurus*, *R. similis*
260 and *B. mucronatus* are composed of repetitive DNA sequences. In the eukaryotic genomes the
261 repetitive sequences are a major component, which can represent up to 90% of the genome size
262 (Mehrotra & Goyal, 2014). In the genomes of *H. glycines* and *M. enterolobii*, 32% and 47.62%
263 were considered repetitive, respectively (Koutsovoulos *et al.*, 2020; Masonbrink *et al.*, 2019).
264 Comparative analysis of repetitive DNA sequences between these three species revealed
265 differences in composition and quantity of repeat elements identified. We reported that the
266 highest fraction of repetitive DNA of the genome of nematodes analyzed is ‘unclassified’.
267 Similar results were observed by Ma *et al.* (2020), in which the most abundant repetitive
268 elements in the genome of *H. galeatus* were ‘unclassified’, they were not assigned to known
269 repeat families.

270 Few studies on repetitive DNA have been performed with planta-parasitic nematodes.
271 Recent studies have been carried out with genomes of *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*,
272 *M. hapla* (Blanc-Mathieu *et al.*, 2017), *H. glycines* (Masonbrink *et al.*, 2019), *M. enterolobii*
273 (Koutsovoulos *et al.*, 2020), *H. columbus* (Ma *et al.*, 2020), *M. graminicola* (Phan *et al.*, 2020),
274 and *H. galeatus* (Ma *et al.*, 2022). However, most of these studies only assess the diversity and
275 abundance of TEs. *R. similis* showed the highest number of TEs, and Helitron transposons are
276 the most abundant, as well as in the genome of *P. brachyurus*, while in *B. mucronatus* only one
277 TEs (LTR-Bel-Pao) was identified.

278 It is known that mobile elements of Class II (DNA transposons) are the repetitive element
279 more abundant of TEs in the *M. graminicola* and *H. glycines* genomes (Masonbrink *et al.*, 2019;
280 Phan *et al.*, 2020). In the genomes of *H. galeatus* and *M. enterolobii* the transposon Maverick
281 was the most ubiquitous TEs (Ma *et al.*, 2022). On the other hand, the most abundant TEs in
282 four genomes of *Meloidogyne* spp. were from Class I elements, also known as retrotransposons.
283 LTR retrotransposons represented the major proportion of the TEs in these genomes (Blanc-
284 Mathieu *et al.*, 2017). We observed that the satDNAs were the second most abundant repetitive

285 element in the genome of two nematodes (*P. brachyurus* and *B. mucronatus*) in this study, as
286 well as in *H. galeatus* (Ma *et al.*, 2022).

287 Repetitive DNA accumulate sequence and copy number variations during evolution. For
288 this reason, they are essential tools for taxonomic and phylogenetic studies. Thus, knowing the
289 repetitive DNA sequences help to understand the organization, evolution and behavior of
290 eukaryotic genomes (Kidwell & Lisch, 2001; Mehrotra & Goyal, 2014). Although the number
291 of publications with draft genomes of nematodes has increased significantly in the last years,
292 the repetitive fraction of these genomes is poorly studied in most nematodes, especially in the
293 group of plant parasites (Ma *et al.*, 2022). In this way, conducting studies on the repetitive
294 elements present in the genomes of plant-parasitic nematodes can be helpful for a better
295 understanding of the genome of these organisms.

296

297 **Acknowledgements**

298 We would like to thank the CAPES Foundation (Coordination for the Improvement of
299 Higher Education Personnel) and Federal Rural University of Pernambuco for providing
300 scholarships and financial support for development of this study.

301

302 **References**

- 303 Amorim, F.T., Silva, S.A., Mattos, V.S., Carneiro, R.M.D.G. & Machado, A.C.Z.
304 (2019). Técnicas biomoleculares aplicadas à nematologia. In: Machado, A.C.Z., Silva, S.A.
305 & Ferraz, L.C.C.B. (Eds). *Métodos em nematologia agrícola*. Piracicaba, Sociedade
306 Brasileira de Nematologia, pp. 153-174.
- 307 Bennetzen, J.L. & Wang, H. (2014). The contributions of transposable elements to the structure,
308 function, and evolution of plant genomes. *Annual Review of Plant Biology* 65, 505–530.
309 DOI: 10.1146/annurev-arplant-050213-035811.

310 Besnard, G., Juhling, F., Chapuis, E., Zedane, L., Lhuillier, E., Mateille, T. & Bellafiore,
311 S. (2014). Fast assembly of the mitochondrial genome of a plant parasitic nematode
312 (*Meloidogyne graminicola*) using next generation sequencing. *Comptes Rendus Biologies*
313 337, 295-301. DOI: 10.1016/j.crv.2014.03.003.

314 Blanc-Mathieu, R., Perfus-Barbeoch, L., Aury, J.M., Rocha, M., Gouzy, J., Sallet, E., Martin-
315 Jimenez, C., Bailly-Bechet, M., Castagnone-Sereno, P., Flot, J.F., Kozłowski, D.K.,
316 Cazareth, J., Couloux, A., Silva, C., Guy, J., Kim-Jo, Y.J., Rancurel, C., Schiex, T., Abad,
317 P., Wincker, P. & Danchin, E.G.J. (2017). Hybridization and polyploidy enable genomic
318 plasticity without sex in the most devastating plant-parasitic nematodes. *PLoS Genetics* 13,
319 1-36. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006777.

320 Bolger, A.M., Lohse, M. & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina
321 sequence data. *Bioinformatics* 30, 2114-2120. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.

322 Bridge, J. Starr, J. (2007). *Plant nematodes of agricultural importance*. London, CRC Press.

323 Castillo, P. & Vovlas, N. (2007). *Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis,*
324 *biology, pathogenicity and management*. Leiden, Brill, 2007.

325 Dierckxsens, N., Mardulyn, P. & Smits, G. (2017). NOVOPlasty: de novo assembly of
326 organelle genomes from whole genome data. *Nucleic Acids Research* 45, 1-9. DOI:
327 10.1093/nar/gkw955.

328 Donath, A., Jühling, F., Al-Arab, M., Bernhart, S.H., Reinhardt, F., Stadler, P.F., Middendorf,
329 M. & Bernt, M. (2019). Improved annotation of protein-coding genes boundaries in
330 metazoan mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research* 47, 10543–10552. DOI:
331 10.1093/nar/gkz833.

332 Garrido-Ramos, M.A. (2017). Satellite DNA: an evolving topic. *Genes* 8, 1-41. DOI:
333 10.3390/genes8090230.

- 334 Gibson, T., Farrugia, D., Barrett, J., Chitwood, D.J., Rowe, J., Subbotin, S. & Dowton, M.
335 (2011). The mitochondrial genome of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*.
336 *Genome* 54, 565-574. DOI: 10.1139/g11-024.
- 337 Gonzaga, V., Santos, J.M., Mendonça, R.S. & Santos, M.A. (2016). Gênero *Pratylenchus*. In:
338 Oliveira, C.M.G., Santos, M.A. & Castro, L.H.S. (Eds.). *Diagnose de fitonematoides*.
339 Campinas, BR, Millennium Editora, pp. 47-70.
- 340 Handoo, Z.A., Yan, G., Kantor, M.R., Huang, D., Chowdhury, I.A., Plaisance, A., Bauchan,
341 G.R. & Mowery, J.D. (2021). Morphological and molecular characterization of
342 *Pratylenchus dakotaensis* n. sp. (Nematoda: Pratylenchidae), a new root-lesion nematode
343 species on soybean in North Dakota, USA. *Plants* 10, 1-13. DOI: 10.3390/plants10010168.
- 344 Hu, M. & Gasser, R.B. (2006). Mitochondrial genomes of parasitic nematodes – progress and
345 perspectives. *Trends in Parasitology* 22, 78-84. DOI: 10.1016/j.pt.2005.12.003.
- 346 Humphreys-Pereira, D.A. & Elling, A.A. (2014). Mitochondrial genomes of *Meloidogyne*
347 *chitwoodi* and *M. incognita* (Nematoda: Tylenchina): Comparative analysis, gene order
348 and phylogenetic relationships with other nematodes. *Molecular and Biochemical*
349 *Parasitology* 194, 20–32. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2014.04.003.
- 350 Jacob, J.E.M., Vanholme, B.; Van Leeuwen, T. & Gheysen, G. (2009). A unique genetic code
351 change in the mitochondrial genome of the parasitic nematode *Radopholus similis*. *BMC*
352 *Research Notes* 2, 1-10. DOI:10.1186/1756-0500-2-192.
- 353 Janssen, T., Karssen, G., Orlando, V., Subbotin, S.A. & Bert, W. (2017). Molecular
354 characterization and species delimiting of plant-parasitic nematodes of the genus
355 *Pratylenchus* from the penetrans group (Nematoda: Pratylenchidae). *Molecular*
356 *Phylogenetics and Evolution* 117, 30–48. DOI: 10.1016/j.ympev.2017.07.027.
- 357 Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G.J., Gaur, H.S., Helder, J., Jones, M.G.K., Kikuchi, T.,
358 Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J.E., Wesemael, W.M.L. & Perry, R.N. (2013).

359 Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant*
360 *Pathology* 14, 946-961. DOI: 10.1111/mpp.12057.

361 Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S.,
362 Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P. & Drummond,
363 A. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for
364 the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28, 1647–1649. DOI:
365 10.1093/bioinformatics/bts199.

366 Kern, E.M.A., Kim, T. & Park, J. (2020). The mitochondrial genome in nematode
367 phylogenetics. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8, 1-8. DOI: 10.3389/fevo.2020.00250.

368 Kikuchi, T., Eves-van den Akker, S. & Jones, J.T. (2017). Genome Evolution of Plant-Parasitic
369 Nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 55, 333-354. DOI: 10.1146/annurev-phyto-
370 080516-035434.

371 Kidwell, M.G. & Lisch, D.R. (2001). Perspective: transposable elements, parasitic DNA, and
372 genome evolution. *Evolution* 55, 1-24. DOI: 10.1111/j.0014-3820.2001.tb01268.x.

373 Kim, J., Kern, E., Kim, T., Sim, M., Kim, J., Kim, Y., Park, C., Nadler, S.A. & Park, J.K.
374 (2017). Phylogenetic analysis of two *Plectus* mitochondrial genomes (Nematoda: Plectida)
375 supports a sister group relationship between Plectida and Rhabditida within Chromadorea.
376 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 107, 90–102. DOI: 10.1016/j.ympev.2016.10.010.

377 Koutsovoulos, G.D., Pouillet, M., Elashry, A., Kozłowski, D.K.L., Sallet, E., Rocha, M., Perfus-
378 Barbeoch, L., Martin-Jimenez, C., Frey, J.E., Ahrens, C.H., Kiewnick, S. & Danchin,
379 E.G.J. (2020). Genome assembly and annotation of *Meloidogyne enterolobii*, an emerging
380 parthenogenetic root-knot nematode. *Scientific Data* 7, 1-13. DOI:10.1038/s41597-020-
381 00666-0.

382 Liu, G.H., Shao, R., Li, J.Y., Zhou, D.H. & Li, H. (2013). The complete mitochondrial genomes
383 of three parasitic nematodes of birds: a unique gene order and insights into nematode
384 phylogeny. *BMC Genomics* 14, 1-13. DOI: 10.1186/1471-2164-14-414.

385 Loof, P.A.A. (1960). Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus*. *Tijdschrift voor*
386 *Plantenziekten* 66, 29-60.

387 Luc, M.A. (1987). A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne,
388 1949. *Revue de Nématologie* 10, 203-218.

389 Ma, X., Agudelo, P.; Richards, V.P. & Baeza, J.A. (2022). Genome survey sequencing of the
390 phytoparasitic nematode *Hoplolaimus galeatus*. *PeerJ* 10, 1-15. DOI:
391 10.7717/peerj.12749.

392 Ma, X., Agudelo, P.; Richards, V.P. & Baeza, J.A. (2020). The complete mitochondrial genome
393 of the Columbia lance nematode, *Hoplolaimus columbus*, a major agricultural pathogen in
394 North America. *Parasites & Vectors* 13, 1-10. DOI: 10.1186/s13071-020-04187-y.

395 Machado, A.C.Z. (2014). Current nematode threats to Brazilian agriculture. *Current*
396 *Agricultural Science and Technology* 20, 26-35.

397 Machado, A.C.Z. & Silva, S.A. (2019). Extração de nematoides. In: Machado, A.C.Z., Silva,
398 S.A. & Ferraz, L.C.C.B. (Eds). *Métodos em nematologia agrícola*. Piracicaba, Sociedade
399 Brasileira de Nematologia, pp. 9-36.

400 Masonbrink, R., Maier, T.R.; Muppirala, U., Seetharam, A.S., Lord, E., Juvale, O.S., Schmutz,
401 J., Johnson, N.T., Korkin, D., Mitchum, M.G., Mimee, B., Van Den Akker, S.E., Hudson,
402 M., Severin, A.J. & Baum, T.J. (2019). The genome of the soybean cyst nematode
403 (*Heterodera glycines*) reveals complex patterns of duplications involved in the evolution
404 of parasitism genes. *BMC Genomics* 20, 1-14. DOI: 10.1186/s12864-019-5485-8.

405 Mehrotra, S. & Goyal, V. (2014). Repetitive sequences in plant nuclear DNA: types,
406 distribution, evolution and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 12, 164–171.
407 DOI: 10.1016/j.gpb.2014.07.003.

408 Nicol, J., Turner, S., Coyne, D., Den Nijs, L., Hockland, S. & Maafi, Z.T. (2011). Current
409 nematode threats to world agriculture. In: Jones, J., Gheysen, G. & Fenoll, C. (Eds.).

410 *Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions*. Heidelberg, Springer,
411 pp. 21–43.

412 Novák, P., Neumann, P. & Macas, J. (2020). Global analysis of repetitive DNA from
413 unassembled sequence reads using RepeatExplorer2. *Nature Protocols* 15, 3745–3776.
414 DOI: 10.1038/s41596-020-0400-y.

415 Ojala, D., Montoya, J. & Attardi, G. (1981). tRNA punctuation model of RNA processing in
416 human mitochondria. *Nature* 290, 470–474.

417 Phan, N.T., Orjuela, J., Danchin, E.G.J., Klopp, C., Perfus-Barbeoch, L., Kozłowski, D.K.,
418 Koutsovoulos, G.D., Lopez-Roques, C., Bouchez, O., Zahm, M., Besnard G. & Bellafiore,
419 S. (2020). Genome structure and content of the rice root-knot nematode (*Meloidogyne*
420 *graminicola*). *Ecology and Evolution* 10, 11006–11021. DOI: 10.1002/ece3.6680.

421 Seesao, Y., Gay, M., Merlin, S., Viscogliosi, E., Aliouat-Denis, C.M. & Audebert, C. (2017).
422 A review of methods for nematode identification. *Journal of Microbiological Methods* 138,
423 p. 37–49. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.05.030.

424 Singh, S.K., Hodda, M. & Ash, G.J. (2013). Plant-parasitic nematodes of potential
425 phytosanitary importance, their main host and reported yield losses. *EPPO Bulletin* 43,
426 334-374. DOI: 10.1111/epp.12050.

427 Sultana, T., Han, H. & Park, J.K. (2013a). Comparison of complete mitochondrial genomes of
428 pine wilt nematode *Bursaphelenchus xylophilus* and *Bursaphelenchus mucronatus*
429 (Nematoda: Aphelenchoidea) and development of a molecular tool for species
430 identification. *Gene* 520, 39-46. DOI: 10.1016/j.gene.2013.02.006.

431 Sultana, T., Kim, J., Lee, S.H., Han, H., Kim, S., Min, G.S., Nadler, S.A. & Park, J.K. (2013b).
432 Comparative analysis of complete mitochondrial genome sequences confirms independent
433 origins of plant-parasitic nematodes. *BMC Evolutionary Biology* 13, 1-17. DOI:
434 10.1186/1471-2148-13-12.

435 Sun, L., Zhuo, K., Lin, B., Wang, H. & Liao, J. (2014a). The complete mitochondrial genome
436 of *Meloidogyne graminicola* (Tylenchina): a unique gene arrangement and its phylogenetic
437 implications. *PLoS ONE* 9, 1-11. DOI: 10.1371/journal.pone.0098558.

438 Sun, L., Zhuo, K., Wang, H., Song, H., Chi, W., Zhang, L.H. & Liao, J. (2014b). The complete
439 mitochondrial genome of *Aphelenchoides besseyi* (Nematoda: Aphelenchoididae), the first
440 sequenced representative of the subfamily Aphelenchoidinae. *Nematology* 16, 1167-1180.
441 DOI: 10.1163/15685411-00002844.

442 Wolstenholme, D.R. (1992). Animal mitochondrial DNA: structure and evolution.
443 *International Review of Cytology* 141, 173–216. DOI: 10.1016/s0074-7696(08)62066-5.
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460

461 **Table 1.** Datasets of short-read sequences of plant-parasitic nematodes.

Species	Study	Run	Reads	
			Number	Length (nt)
<i>Pratylenchus brachyurus</i>	-	-	13831964	35-101
<i>Radopholus similis</i>	PRJNA541590	SRR9054482	14006278	50-151
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	PRJNA562094	SRR10271307	23882556	151

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471

472

473

474

475

476

477

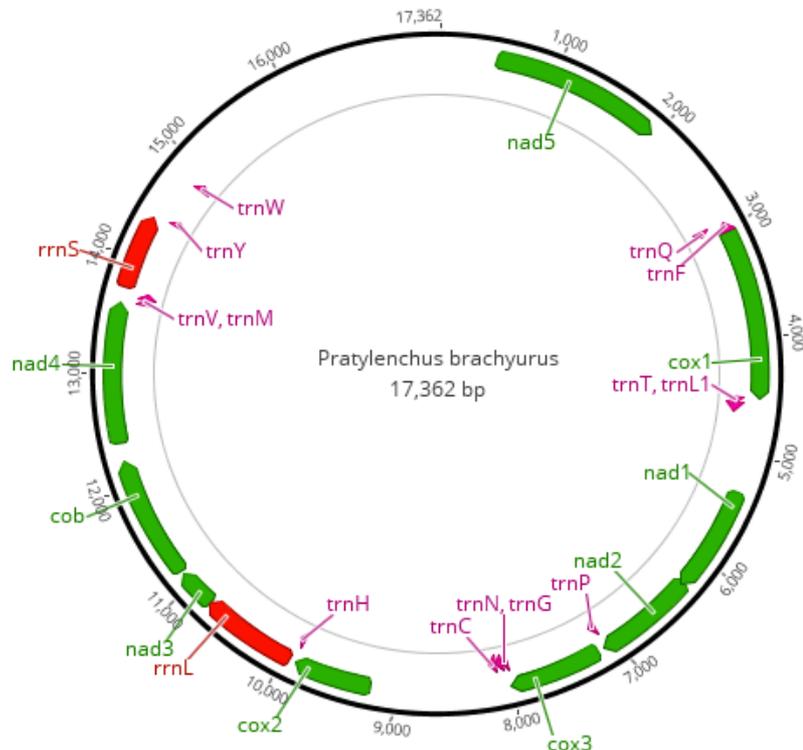
478

479

480

481

482 **Fig 1.** Circular gene map of the mitochondrial genome of *Pratylenchus brachyurus*.



483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497 **Table 2.** Mitochondrial genome organization and annotation of the plant-parasitic nematode
 498 *Pratylenchus brachyurus*.

Name	Position	Length (bp)	Initiation/ termination codons	Direction
<i>nad5</i>	484 – 1,959	1,476	ATG/TAA	Forward
<i>trnQ</i>	2,931 – 2,984	54		Forward
<i>trnF</i>	2,951 – 3,016	66		Reverse
<i>cox1</i>	2,999 – 4,522	1,524	TCG/TAA	Forward
<i>trnT</i>	4,508 – 4,561	54		Forward
<i>trnL1</i>	4,565 – 4,637	73		Forward
<i>nad1</i>	5,358 – 6,275	918	ATT/TAA	Forward
<i>nad2</i>	6,263 – 7,150	888	ATT/TAA	Forward
<i>trnP</i>	7,114 – 7,167	54		Forward
<i>cox3</i>	7,204 – 7,995	792	ATT/TAA	Forward
<i>trnN</i>	7,992 – 8,046	55		Forward
<i>trnG</i>	8,046 – 8,100	55		Forward
<i>trnC</i>	8,101 – 8,161	61		Forward
<i>cox2</i>	9,222 – 9,899	678	ATT/TAG	Forward
<i>trnH</i>	9,898 – 9,951	54		Forward
<i>rrnL</i>	9,950 – 10,794	845		Forward
<i>nad3</i>	10,779 – 11,123	345	ATT/TAG	Forward
<i>cob</i>	11,159 – 12,219	1,061	TTG/TAA	Forward
<i>nad4</i>	12,383 – 13,606	1,224	ATG/TAA	Forward
<i>trnV</i>	13,624 – 13,677	54		Forward
<i>trnM</i>	13,681 – 13,736	56		Forward
<i>rrnS</i>	13,750 – 14,400	651		Forward
<i>trnY</i>	14,415 – 14,467	53		Forward
<i>trnW</i>	14,819 – 14,877	59		Forward

499

500

501

502

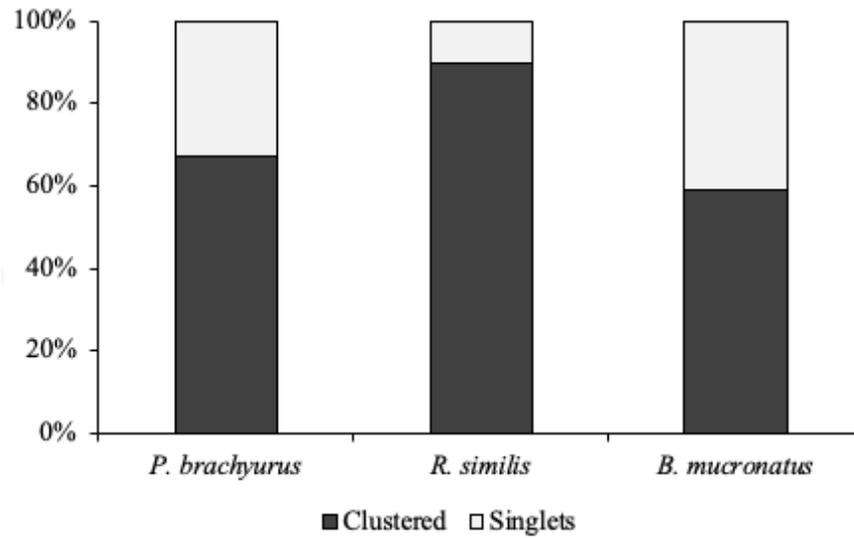
503

504

505

506

507 **Fig. 2.** Proportion of analyzed reads (%) that were clustered as repetitive DNA and remained
508 single in the genome of the plant-parasitic nematodes *Pratylenchus brachyurus*, *Radopholus*
509 *similis* and *Bursaphelenchus mucronatus*.



510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525

526 **Table 3.** Repeat quantification in the genomes of the plant-parasitic nematodes *Pratylenchus*
 527 *brachyurus*, *Radopholus similis* and *Bursaphelenchus mucronatus*.

Repeat		Genome proportion (%)		
		<i>P. brachyurus</i>	<i>R. similis</i>	<i>B. mucronatus</i>
Retrotransposons	LTR-Ty3/gypsy	0.02	0.69	0
	LTR-Ty1/copia	0	0.26	0
	LTR-Bel-Pao	0	0.14	0.05
	LINE	0.03	0.74	0
Transposons	Maverick	0.05	0.02	0
	Helitron	0.08	0.81	0
Total (TEs)		0.18	2.66	0.05
rDNA		0.06	0.84	1.14
satDNAs		1.35	1.33	1.74
Organelar DNA		0.57	0.31	0.18
Unclassified		3.54	13.75	13.00
Total Repeat		5.70	18.89	16.11

528

CAPÍTULO IV

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

- A fertirrigação da vinhaça em canaviais promoveu alterações na estrutura e composição da comunidade de nematoides, e nas características físicas e químicas do solo;
- Os fitonematoides pertencentes aos gêneros *Mesocriconema*, *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* e *Pratylenchus* foram os mais frequentes nas áreas estudadas;
- Apenas a fertirrigação com vinhaça em canaviais durante 5 anos (V5) promoveu a redução da abundância dos nematoides parasitas de plantas, e favoreceu o aumento do grupo dos bacteriófagos;
- Os nematoides predadores e fungívoros foram os menos abundantes nas áreas do estudo;
- A maioria dos nematoides identificados nos canaviais pertence ao grupo c-p3;
- O nível de perturbação dos canaviais deste estudo varia de baixo a moderado;
- Dos 24 genes detectados na sequência anotada do mtDNA de *P. brachyurus*, nove são codificadores de proteínas, 13 tRNA e 2 rRNA;
- Mais da metade do genoma de *P. brachyurus* (67,3 %), *R. similis* (89,5 %) e *B. mucronatus* (59 %) é composto por sequências de DNA repetitivo;
- O satDNA foi o elemento repetitivo mais abundante nos genomas de *P. brachyurus* e *B. mucronatus* e o LTR-retrotransposons em *R. similis*.
- Este é o primeiro trabalho a realizar a montagem do genoma mitocondrial de *P. brachyurus*, a identificar e caracterizar os elementos repetitivos presentes no genoma completo deste fitonematoide.