



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**FITONEMATOIDES ENDOPARASITAS ASSOCIADOS À
CANA-DE-AÇÚCAR: INTERAÇÕES E NOVO
ASSINALAMENTO**

RAYCENNE ROSA LEITE

Recife - PE

2017

RAYCENNE ROSA LEITE

**FITONEMATOIDES ENDOPARASITAS ASSOCIADOS À CANA-DE-
AÇÚCAR: INTERAÇÕES E NOVO ASSINALAMENTO**

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

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Orientadora: Lilian Margarete Paes Guimarães

Co-orientadora: Elvira Maria Regis Pedrosa

Co-orientadora: Sandra Roberta Vaz Lira Maranhão

Recife – PE

Fevereiro – 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

L533f Leite, Raycenne Rosa
Fitonematoides endoparasitas associados à cana-de-açúcar:
interações e novo assinalamento / Raycenne Rosa Leite. – 2017.
82 f. : il.

Orientadora: Lilian Margarete Paes Guimarães.

Coorientadora: Elvira Maria Regis Pedrosa.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife,
BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. *Aphelenchoides* sp. 2. Infecção mista 3. *Meloidogyne* spp.
4. *Pratylenchus* spp. 5. *Saccharum* spp. I. Guimarães, Lilian
Margarete Paes, orient. II. Pedrosa, Elvira Maria Regis, coorient.
III. Título

CDD 632

**FITONEMATOIDES ENDOPARASITAS ASSOCIADOS À CANA-DE-
AÇÚCAR: INTERAÇÕES E NOVO ASSINALAMENTO**

RAYCENNE ROSA LEITE

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em 22/02/2017

Orientadora:

Prof^ª Dr^ª Lilian Margarete Paes Guimarães
Departamento de Agronomia (UFRPE)

Examinadores:

Prof^ª Dr^ª Elvira Maria Regis Pedrosa
Departamento Engenharia Agrícola (UFRPE)

Dr^ª. Sandra Roberta Vaz Lira Maranhão
Programa de Pós-graduação em Fitopatologia (UFRPE)

Recife – PE
Fevereiro – 2017

Sempre a Deus, que todos os dias mostra seu amor e benevolência, que opera maravilhas e milagres, mesmo aos infiéis.

Agradeço

Aos meus pais, por sempre insistirem, entenderem, me acalmarem e me amarem. E ao meu noivo, pelo amor, compreensão e dedicação dispensados.

Dedico

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por sua infinita misericórdia e amor.

Aos meus pais Pedro Costa Leite e Rauricene Rosa Leite, pelas orações, conselhos, confiança, crença e tudo o que são e significam para mim.

Às minhas irmãs Raylanne e Raynna Rosa Leite, e a minha sobrinha Sofia Leite, por todos os momentos de conversas e distrações que me proporcionaram em meio a todo o tumulto acadêmico.

À minha tia Rori Rosa e minhas primas Rayara e Raynara Rosa Madureira, pelas risadas, votos de confiança e orgulho de mim.

Aos amigos de sala de aula, Ana Dulce Botelho, Joelma Santana, Tarciana Silva, Ananda Rosa, Emanuel Feitosa, por tudo o que passamos juntos e pelas conversas em corredores e ajudas diversas.

À Sabrina de França que mesmo chegando nos últimos meses de experimento foi fundamental para manutenção e análise do mesmo.

Aos Srs. Luís (vêi Luís) e Luís (Lula), por toda a ajuda, cuidado com minhas plantas e dedicação dispensada a mim. À Guilherme Rolim e Adelmo de Santana, que foram a defesa química das minhas plantas sempre que preciso.

Aos integrantes dos laboratórios de Fitobacteriologia, de Fungos de Solo e de Epidemiologia, pela atenção e ajuda diversos e por todos os materiais e produtos emprestados.

À Susan Tsuji e Michele Santiago, por sermos a ‘panelinha da fito’.

À Sandra Maranhão (minha conterrânea em nome) e à professora Elvira Pedrosa minhas coorientadoras que em muito ajudaram e se dedicaram.

À minha orientadora, Lilian Guimarães, por toda a gentileza, paciência e confiança em todo momento, e por acreditar que eu seria capaz.

Às meninas e meninos do laboratório de Fitonematologia e Microscopia da Embrapa Cenargen pela ótima acolhida e por terem sido uma família pra mim.

Ao meu noivo, Márcio Fernandes Leite, por toda a paciência, disposição, atenção e por acreditar e me fazer acreditar que seria competente para execução de cada trabalho.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e às instituições de fomento CNPq e FACEPE, pela concessão de bolsa e auxílio financeiro.

Sem melhores palavras, deixo a todos o meu **Muito Obrigada**.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VIII
RESUMO GERAL	IX
GENERAL ABSTRACT.....	X
CAPÍTULO I.....	1
REVISÃO DE LITERATURA	2
Aspectos gerais da cana-de-açúcar	2
Fitonematoides associados à cultura da cana-de-açúcar.....	3
<i>Meloidogyne</i> spp.....	6
<i>Pratylenchus</i> spp.	9
Interação entre <i>Pratylenchus</i> spp. e <i>Meloidogyne</i> spp.	11
<i>Aphelenchoides</i> sp.	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO II.....	28
INTERACTION AMONG MELOIDOGYNE INCOGNITA AND M. ENTEROLOBII WITH PRATYLENCHUS ZEAЕ.	29
RESUMO	30
ABSTRACT	31
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
Obtenção do inóculo do nematoide	35
Experimento 1	36
Experimento 2	37
Experimento 3	38
Análise Estatística	39

RESULTADOS	40
EXPERIMENTO 1	40
Reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne enterolobii</i> em infestação única	40
EXPERIMENTO 2	41
Reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne enterolobii</i> em infestação mista com <i>Pratylenchus zeae</i>	41
EXPERIMENTO 3	42
Desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar: biomassa fresca e seca de parte aérea e peso de raiz	42
DISCUSSÃO	43
CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
CAPÍTULO III	62
FIRST REPORT OF <i>APHELENCHOIDES</i> SP. IN SUGARCANE ROOTS IN BRAZIL	63
RESUMO	64
ABSTRACT	64
ACKNOWLEDGMENTS	66
REFERENCES	67
CAPÍTULO IV	71
CONCLUSÕES GERAIS	71
CONCLUSÕES GERAIS	72

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Densidade populacional e Fator de reprodução de <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i> 120 dias após a inoculação.	69
TABELA 2. Densidade populacional e Fator de reprodução de <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i> 120 dias após a infestação mista com <i>P. zaeae</i>	70
TABELA 3. Peso de parte aérea e raiz de variedades RB de cana-de-açúcar inoculadas com <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i> e naturalmente infectadas com <i>Pratylenchus zaeae</i> ..	71
TABELA 4. População final e fator de reprodução de <i>P. zaeae</i> e <i>Meloidogyne</i> sp em variedades RB de cana-de-açúcar, 100 dias após a inoculação com <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i>	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotomicrografias de <i>Aphelenchoides</i> sp. dentro dos tecidos radiculares de cana-de-açúcar (A) em microscópio estereoscópico e (B) em preparação microscópica sob microscópio óptico; (C) e (D) Região anterior característica de <i>Aphelenchoides</i> sp.; (E) Espículo do macho em forma de acúleo; (F) Cauda conóide com mucro na porção terminal.....	80
Figura 2. Fotomicrografias de cortes de raiz de cana-de-açúcar corados com azul de toluidina. (A) nematoide presente nas células do córtex e (B) presença de hifas nas células de cana-de-açúcar próximas ao nematoide	81

RESUMO GERAL

Meloidogyne incognita e *Pratylenchus zae* estão entre os nematoides mais nocivos à cana-de-açúcar. Comumente são encontrados nos canaviais brasileiros causando sérios problemas. Outro nematoide que causa sérios danos a culturas do agronegócio nacional é *Meloidogyne enterolobii* e recentemente foi encontrado ocorrendo naturalmente em campos de cana-de-açúcar nos estados de Pernambuco e Rio Grande do Sul. *Aphelenchoides* sp., mesmo sendo um nematoide parasita de parte aérea frequentemente é encontrado associado a rizosfera de cana-de-açúcar. Havendo relatos de espécies de *Aphelenchoides* causando danos em raízes de amendoim e algumas gramíneas. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a multiplicação de *M. incognita* e *M. enterolobii* em inoculação única e em inoculação conjunta com *P. zae*, verificar o efeito dessa interação no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar e registrar a presença de *Aphelenchoides* spp. em raízes de cana-de-açúcar. Quatro experimentos foram montados, sendo três deles conduzidos paralelamente. No primeiro experimento, três densidades populacionais de *M. incognita* e *M. enterolobii* foram inoculados nas variedades RB867515 e RB92579 de cana-de-açúcar. O segundo experimento seguiu o mesmo delineamento do primeiro, tendo como diferença a infestação prévia com *P. zae* (Pi= 2000). No terceiro experimento, foram feitas infestações com *P. zae* seguidas com *M. incognita* e *M. enterolobii* nas variedades de cana-de-açúcar. No quarto experimento, as raízes foram coloridas com fucsina ácida e em seguida dissecadas, e também fixadas, desidratadas, incluídas em resina, microseccionadas e coloridas com azul de toudina. *Meloidogyne enterolobii* não teve bom desenvolvimento nas variedades de cana 120 dias após a infecção. *Meloidogyne incognita* alcançou altos níveis populacionais quando em infecções isoladas, contudo em infecções mistas com *P. zae* teve uma redução populacional. Menor biomassa fresca e seca de cana-de-açúcar foi obtida na infestação conjunta de *P. zae* e *M. incognita*. Em infecções mistas, *P. zae* e *M. incognita* se suprimiam mutuamente. Foi possível observar *Aphelenchoides* sp. dentro das raízes em montagem microscópica e em cortes histopatológicos sob microscópio óptico. Nenhum sintoma da infecção deste nematoide foi encontrado na planta.

Palavras-chave: *Aphelenchoides* sp., infecção mista, *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Saccharum* spp.

GENERAL ABSTRACT

Meloidogyne incognita and *Pratylenchus zae* are two of the most damaging nematodes of sugarcane, which are commonly present in Brazilian sugarcane fields causing severe losses. Another nematode widely known as damaging for the Brazilian agribusiness is the *Meloidogyne enterolobii*, which, recently, was reported as naturally occurring in sugarcane field from Pernambuco and Rio Grande do Sul states. *Aphelenchoides* sp. despite being considered as a shoot parasitic nematode it is often associated with sugarcane rhizosphere, and some reports indicate its association with groundnut and some grasses which can damage these plants. This work aimed to evaluate the multiplication of *M. incognita* and *M. enterolobii* in both isolated and joint inoculation with *P. zae*, to examine the effect of these interactions in initial sugarcane growing and to register the presence of *Aphelenchoides* spp. in sugarcane roots. Four experiments were performed, from which three were performed in parallel. In the first experiment, three different population densities of *M. incognita* and *M. enterolobii* were inoculated on both RB867515 and RB92579 sugarcane varieties. The second experiment followed the same experimental design at the first, but with previous infection of *P. zae* (initial population=2000). The third experiment consisted of a prior inoculation de *P. zae* followed by *M. incognita* and *M. enterolobii* inoculations in both sugarcane varieties. In the fourth experiment, roots were stained with acid fucsin and dissected, then fixed, dehydrated, included in resin, sectioned e colored with toluidine blue. *Meloidogyne enterolobii* did not develop well in both sugarcane varieties even after 120 days of inoculation. *Meloidogyne incognita* reached high population levels when in single infections, but its population was reduced when in mixed infections with *P. zae*. The mixed infections of *P. zae* and *M. incognita* reduce both fresh and dried shoot weight. In mixed infectons *P. zae* and *M. incognita* suppress each other. We also report *Aphelenchoides* sp. inside the roots in microscopy mount and histopathological sections under optical microscope, but this nematode did not induce any symptom of infection on plant.

Key-word: *Aphelenchoides* sp., *Meloidogyne* spp., mixed infection, *Pratylenchus* spp., *Saccharum* spp.

CAPÍTULO I
REVISÃO DE LITERATURA

REVISÃO DE LITERATURA

Aspectos gerais da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) é uma gramínea semiperene pertencente à divisão Magnoliophyta, classe Liliopsida, subclasse Commelinidae, ordem Cyperales e família Poaceae. Possui metabolismo fotossintético C4, ou seja, é altamente eficiente na conversão de energia radiante em energia química. Plantas com esse metabolismo possuem um mecanismo que reduz a perda de água em ambientes secos (ALENCAR, 2012). A cana-de-açúcar se desenvolve em touceiras formadas por colmo, inflorescência, folhas, raízes e rizomas (CESNIK; MIOCQUE, 2004). O colmo é responsável pela sustentação das folhas e panículas, possuindo nós e entrenós bem distintos, As raízes são fasciculadas ou em cabeleira e os rizomas constituídos por nódios, internódios e gemas, que são responsáveis pela formação do perfilho da touceira (LUCCHESI, 2001; MOZAMBANI, 2006).

A cana-de-açúcar se desenvolve em dois ciclos: cana-planta, quando a planta ainda não teve seu primeiro corte, este período pode variar de 12 a 18 meses (de acordo com a variedade) e cana-soca, ciclo que começa a partir do primeiro corte e garante um período de produtividade de 12 meses, quando é feito o próximo corte (SUGAWARA; RUDORFF, 2011). Por isso é considerada uma planta semiperene, por permitir vários cortes sem a necessidade de replantio.

A cana-de-açúcar é uma planta tipicamente tropical, adaptada a condições de altas temperaturas, intensa luminosidade e, relativa, escassez de água, sendo estes componentes climáticos essenciais para o bom desenvolvimento e produção da cana-de-açúcar (SEGATO et al., 2006).

Desde sua introdução no Brasil, em 1532 por Martim Afonso de Sousa no primeiro engenho em São Vicente (MOZER; TELLE, 2002), a cana-de-açúcar tem

destacada importância econômica, sendo o país, atualmente, o maior produtor mundial desta cultura e de seus produtos (açúcar e etanol), seguido da Índia e China (CONAB, 2016). De acordo com o último levantamento nacional de produção de cana-de-açúcar para indústria pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) espera-se para a safra 2016/17 uma produção de 694,54 mil toneladas, um acréscimo de 4,4% (28,96 mil toneladas) em relação à safra 2014/15. A área cultivada com cana-de-açúcar no Brasil nesta safra 2016/17 teve um aumento de 5,3% (456,1 mil hectares) resultante de um aumento de 6,1% (467 mil ha) na área da Região Centro-Sul e um decréscimo de 1,1% (10,8 mil ha) na área da Região Norte/Nordeste.

Para a área Norte/Nordeste é estimado um acréscimo de 3,0% passando de 48,82 milhões de toneladas na safra 2015/16 para 50,31 milhões de toneladas na safra atual. O aumento de produtividade foi alcançado pela recuperação após um período de déficit hídrico na safra passada na região Nordeste e de condições adversas de cultivo na região Norte, obtendo um aumento de produtividade (4,2%) mesmo tendo uma diminuição na área plantada (1,1%). O estado de Pernambuco é o sétimo produtor em área plantada (251,1 mil ha) e em produção (17,8 mil ton.), ficando atrás dos estados de São Paulo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraná e Alagoas, (CONAB, 2016).

Fitonematoides associados à cultura da cana-de-açúcar

Os nematoides estão entre os principais patógenos que diminuem a produtividade da cana-de-açúcar no país. Este fato é agravado pela monocultura, uso intensivo do solo, expansão dos canaviais para áreas de solos arenosos de tabuleiros costeiros e estações com secas prolongadas (DINARDO-MIRANDA, 2008; MOURA et al., 2000). Dentre uma vasta gama de gêneros registrados em associação com a cana-de-açúcar no Brasil, os ectoparasitas aparecem com maior frequência, com destaque para o

gênero *Helicotylenchus* Steiner (1945) (BELLÉ et al., 2014; MOURA; ALMEIDA, 1981; MOURA et al., 1999; RODRIGUES et al., 2011; STEVEN; SUNDAY; FISAYO, 2014). Fitonematoides ectoparasitas como *Radopholus* sp. (Thorne, 1949), *Paratrichodorus minor* (Colbran, 1956) Siddiqui, 1974, *Trichodorus* sp. (Cobb, 1913), *Xiphinema* sp. (Cobb, 1913), *Criconemella ornata* (Raski, 1958), *Helicotylenchus dihystra* (Cobb, 1893), Sher, 1961, *Hemicycliophora arenaria* (Raski, 1958), *Longidorus* sp. (Micoletzky, 1922) e *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliveira, 1940) foram encontrados por Moura (2005) em análises laboratoriais de amostras oriundas de canaviais no Estado de Pernambuco.

Dentre os nematoides mais nocivos à cultura da cana-de-açúcar estão *Pratylenchus* Filipjev (1936) (nematoides das lesões radiculares) e *Meloidogyne* Goldi (1887) (nematoides das galhas). Em todo o mundo, as espécies de *Meloidogyne* e *Pratylenchus zae* são as mais frequentes em campos de cana-de-açúcar e no Brasil, *P. zae*, *M. javanica* e *M. incognita* são considerados as espécies-chaves para a cultura, sendo economicamente importantes pelos danos que causam (CADET; SPAULL, 2005; DINARDO-MIRANDA, 2005; DINARDO-MIRANDA; GIL; MENEGATTI, 2003; STEVEN, SUNDAY; FISAYO, 2014). Dinardo-Miranda (2005) classificou *M. incognita* como a espécie mais prejudicial, pelos danos causados que são, geralmente, mais severos e, *P. zae* como o mais comum. O autor relatou redução de produção de 20 a 30% para *M. javanica* e *P. zae*, enquanto *M. incognita*, considerado o mais agressivo, causa redução de produção de 40 a 50%, danos observados logo no primeiro corte. Em recente levantamento feito por Noronha et al. (2017) em canaviais no estado de Alagoas, *P. zae* e *M. incognita* foram nematoides predominantes no solo e nas raízes da cultura.

Esses endoparasitas se restringem às raízes de onde extraem seu alimento de células vivas para crescimento e desenvolvimento e, concomitantemente, injetam toxinas nos tecidos radiculares que resultam em deformações/galhas ou lesões enegrecidas. Como consequência, as raízes se tornam pobres em radículas, não sendo capazes de absorver água e nutrientes em quantidade necessária ao bom desenvolvimento da planta. As plantas infectadas ficam raquíticas, cloróticas e improdutivas, sintomas observados em campo sob forma de reboleira (ASSUNÇÃO et al., 2010).

Associados à cana-de-açúcar, os nematoides podem causar reduções significativas na produção, diminuindo o número de perfilhos, o diâmetro do colmo e o desenvolvimento vegetativo, em resposta aos danos causados no sistema radicular da planta. Por ser semiperene, a cana-de-açúcar é explorada comercialmente em até 15 cortes. Porém os danos causados por nematoides podem reduzir essa performance para 2-4 cortes, fato que justifica a preocupação dos produtores com a presença desses patógenos (VIEIRA, 1993). Além dos danos diretos, as plantas atacadas por nematoides geralmente, ficam predispostas ao ataque de outras doenças e pragas (ABAWI; CHEN, 1998) como a associação frequente com o raquitismo da soqueira e cupins (REGIS; MOURA, 1989; MOURA et al, 2000).

O controle é difícil em campo devido à alta severidade, fácil disseminação e frequente associação de mais de uma espécie parasitando a mesma planta. O manejo de fitonematoides é baseado no uso de variedades resistentes, rotação de cultura com plantas não hospedeiras, adição de matéria orgânica, uso de plantas antagonistas e o uso de nematicidas sistêmicos (FERRAZ et al, 2009). A ocorrência de população mista de nematoides das galhas e nematoides das lesões, diminui as alternativas de variedades

resistentes e/ou tolerantes, uma vez que é difícil ter uma variedade com resistência a mais de um gênero de nematoide (CHAVES et al., 2009; MACEDO et al., 2009).

Meloidogyne spp.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* apresentam dimorfismo sexual evidente, com machos e fêmeas morfologicamente diferentes. As fêmeas são sedentárias, obesas e tem formato piriforme, mantendo mobilidade apenas na região anterior do corpo para alimentação, chegando a medir 0,40 – 1,3 mm de comprimento por 0,21- 0,75 mm de largura. Os machos e os juvenis de segundo estágio(J₂), são vermiformes, medindo de 1,2 – 1,5 mm de comprimento por 30 – 60 µm de diâmetro (HUNT; HANDOO, 2012). Os machos, normalmente, saem da raiz em direção ao solo (CARES; BLUM; ANDRADE, 2006). Maior atenção é dada ao estágio infectivo J₂, ao macho adulto e à fêmea adulta, pois são estes os estádios mais utilizados para identificação clássica, utilizando técnicas de morfologia e morfometria (HUNT; HANDOO, 2012).

Meloidoginose é uma patogenia resultante da interação nematoide-raiz que induz a diferenciação de focos celulares, com a formação de galhas radiculares (ROCHA et al., 2007). No interior dos ovos, após várias mudanças durante o desenvolvimento embrionário forma-se o juvenil de primeiro estágio (J₁), que logo sofre a primeira ecdise formando o juvenil de segundo estágio (J₂). Este perfura o ovo com o estilete, sai para o solo e migra segundo um gradiente de concentração de exsudatos, até uma raiz, penetrando-a. Após a penetração, o J₂ migra pelo córtex para o tecido vascular e inicia a alimentação estabelecendo, assim, o parasitismo. Por injeção de secreções esofagianas nas células das plantas através do estilete, causa alterações morfológicas e fisiológicas, formando um grupo de células nutridoras. Nesse momento, o J₂ adquire uma forma

robusta e torna-se sedentário, sendo esta a fase parasita (FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2001; AGRIOS, 2005; FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Essas células nutridoras recebem o nome de células gigantes. As células gigantes são células selecionadas e modificadas por secreções esofagianas do J₂, e em número de 5 a 7, formam o sítio de alimentação do nematoide. As células gigantes são resultado de repetidas cariocineses sem citocinese. Esse conjunto de células modificadas é hipertrofiada, metabolicamente hiperativa e multinucleada, possuindo um citoplasma denso. Essas células especializadas funcionam como um dreno nutritivo, mobilizando fotoassimilados das folhas para as células gigantes nas raízes, servindo de alimento contínuo para as fêmeas (ENDO, 1975; TAYLOR; SASSER, 1978; HUSSEY, 1989; HUSSEY; MIMS, 1991; VAN DER EYCKEN et al., 1996; ABAD et al., 2003). As células do córtex se multiplicam desordenadamente (hiperplasia) e aumentam de tamanho (hipertrofia), a raiz engrossa formando um tumor denominado galha. Com a formação de células gigantes há a obstrução física dos vasos condutores de água e minerais, resultando em sintomas de murcha no período mais quente do dia, deficiência nutricional e raquitismo (CLURE, 1977). Após a indução do sítio de alimentação, o nematoide sofre mais três ecdises, passando para J₃, J₄ (fases desprovidas de estilete) e adulto (macho ou fêmea) com esôfago e estilete já regenerados (DAVIS; HUSSEY; BAUM, 2004; AGRIOS, 2005; JAOUANNET et al., 2012).

O parasitismo dos nematoides nas raízes tem grande impacto sobre a fisiologia e crescimento das plantas. Esse impacto se dá pela remoção de nutrientes durante a alimentação, pela diminuição da absorção e translocação de água pelas raízes e pela alteração ou destruição do tecido radicular, retardando o crescimento (HUSSEY; WILLIAMSOM, 1998).

Na região Nordeste as espécies prevalentes em campos cultivados com cana são: *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *P. zea* Graham, com destaque para as espécies de *Meloidogyne* (MOURA et al., 2000). *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* apresentam boa adaptação, tem sobrevivência prolongada em temperaturas acima de 28°C e estão bem adaptados às várias regiões edafoclimáticas do país. A agressividade desse nematoide depende da suscetibilidade da cultivar plantada, da espécie e raça do nematoide, concentração de inoculo do nematoide presente na lavoura e das características do solo, por exemplo, solos de textura arenosa ou franco-arenosa são favoráveis ao nematoide por facilitar sua migração (RINALDI; NUNES; MONTECELLI, 2014; SILVA, 2012). Em experimentos de estudos comparativos em variedades de cana-de-açúcar, foi possível observar a prevalência de *M. incognita* sobre *M. javanica* (REGIS; MOURA, 1989; DINARDO-MIRANDA, 1999; BARBOSA et al., 2009). Dinardo-Miranda (1999) e Garcia et al (1997) concluíram que *M. javanica* é menos agressivo à cana que *M. incognita*, e que os maiores valores de fator de reprodução eram relatados para *M. incognita* e estavam, frequentemente, relacionados a maiores danos a esta cultura.

Meloidogyne enterolobii Yang e Eisenback (1983) também conhecido como nematoide das galhas da goiabeira e antes chamado *M. mayaguensis*, foi, por algum tempo, confundido com *M. arenaria* e *M. incognita* quando se analisava os padrões perineais (CARNEIRO et al., 2001; CARNEIRO et al., 2007). Esse nematoide foi relatado pela primeira vez no Brasil em Petrolina (PE) e Curaçá e Maniçoba (BA) (CARNEIRO et al., 2001), embora sintomas relacionados à ‘morte súbita’ da goiabeira, causados por uma espécie atípica de *Meloidogyne*, tenha sido relatada anteriormente (MOURA; MOURA, 1989; FERREIRA FILHO; SANTOS; SILVEIRA, 2000; SILVEIRA; CARVALHO; SANTOS, 2000). Nos anos seguintes, vários foram os

relatos desse nematoide no Rio de Janeiro (LIMA et al, 2003), Rio Grande do Norte e Ceará (TORRES et al., 2004; 2005), Maranhão (SILVA et al., 2008), Piauí (SILVA et al., 2006), Paraná (CARNEIRO et al., 2006), São Paulo (ALMEIDA et al., 2006), Espírito Santo (LIMA et al., 2007), Mato Grosso do Sul (ASMUS et al., 2007), Santa Catarina e Rio Grande do Sul (GOMES et al., 2008). *Meloidogyne enterolobii* é um nematoide altamente agressivo e polífago, cuja gama de hospedeiros se estende a culturas anuais, perenes, hortícolas, ornamentais e, até mesmo, a fragmentos de mata (LIMA et al., 2005). Maranhão, Moura e Pedrosa (2001) alertaram para a ameaça de *M. enterolobii* à cultura da goiaba e outras culturas importantes ao agronegócio, risco evidenciado por altas perdas de produção que, às vezes, justificam a erradicação da cultura. Em 2009, Moura e colaboradores relataram *M. enterolobii* em análises de áreas cultivadas com cana-de-açúcar no estado de Pernambuco e, recentemente, Bellé et al. (2015) registraram esse nematoide ocorrendo naturalmente em canaviais no norte do Rio Grande do Sul.

***Pratylenchus* spp.**

Os nematoides do gênero *Pratylenchus* causam lesões necróticas nas raízes de plantas hospedeiras (GODFREY, 1929; TIHOHOD, 1993). Esse nematoide não apresenta dimorfismo sexual e se reproduz tanto por anfimixia quanto por partenogênese (FERRAZ; BROWN, 2016). São endoparasitas migradores de corpo fusiforme, variando de 0,3-0,9 mm de comprimento. Todos os estádios desse nematoide são infectivos. Estima-se que as fêmeas produzem e depositam, em média, de 70 a 120 ovos, variando com a espécie de *Pratylenchus* (FERRAZ; BROWN, 2016; GONZAGA et al., 2016).

Os ovos desses nematoides são colocados dentro das raízes, um por um, e às vezes no solo, embora isso não seja muito comum. Ao eclodirem, o J₂ migra no solo em busca das raízes, sofrendo ainda mais três ecdises até alcançar estágio adulto (fêmea ou macho). Tanto juvenis quanto adultos são capazes de penetrar as raízes das plantas e de se movimentar pelo córtex em direção ao cilindro central. Essa migração pode ser ocorrer entre ou dentro das células, por ação mecânica (diversas punções do estilete) ou por ação enzimática (secreções esofagianas). Os ferimentos causados nas raízes pela migração desse nematoide permitem a entrada de outros agentes patogênicos resultando no sintoma final de lesões e causando a destruição dos tecidos (ZUNKE, 1990a,b; FERRAZ; BROWN, 2016; GONZAGA et al., 2016).

As lesões necróticas causadas nas raízes e, principalmente, nas radículas, decorrentes do processo destrutivo, diminuem a absorção de água e nutrientes pela planta. A redução do sistema radicular se reflete em mau desenvolvimento da parte aérea, fato observado em forma de ‘reboleiras’. As reboleiras são áreas onde é possível observar o subdesenvolvimento das plantas além de clorose, deficiência nutricional e seca nas extremidades foliares. Esses danos resultam em queda crescente de produtividade (OLOWE; CORBETT, 1976; BARBOSA, 2008; SMILEY, 2015).

Pratylenchus brachyurus e *P. zae* são os mais importantes para a cana-de-açúcar. Embora estas duas espécies possam aparecer conjuntamente, *P. zae* é o responsável pelas perdas mais relevantes dessa cultura (FERRAZ; BROWN, 2016). Testando doses de inoculo de *P. brachyurus* e *P. zae* nas variedades SP701143 e SP711406, Dinardo-Miranda (1990) observou que *P. brachyurus* teve boa multiplicação nas raízes das duas variedades sem causar reduções de produtividade, enquanto *P. zae* causou perdas significativas na variedade SP711406. Experimentos em campo revelaram que a aplicação de nematicidas no plantio de cana-de-açúcar contribuiu para

altos incrementos de produtividade da planta quando na presença de *P. zea* (DINARDO-MIRANDA et al., 1998; 2006). Em testes com inseticidas/nematicidas para controle de nematoides em área infestada com *M. javanica* e *P. zea*, aldicarb 150G – 12 kg/ha aplicado em uma ou duas doses e carbofuran 100G – 40 kg/ha foram os tratamentos mais eficientes em diminuir a população de *P. zea* por até três meses após a aplicação (DINARDO-MIRANDA; GARCIA; PARAZZI, 2002).

Interação entre *Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp.

Os nematoides das galhas e os nematoides das lesões radiculares são parasitas de muitas culturas de importância econômica, inclusive ocorrendo de forma concomitante. O modo de parasitismo desses nematoides é diferente. Por exemplo, o J₂ de *Meloidogyne* se estabelece na raiz na região de diferenciação vascular após um breve período de migração através do córtex causando pouco ou nenhum dano nas células (CHRISTIE, 1936; DAVIS, 1959). As células do cilindro vascular se desenvolvem de forma anormal, no local onde o J₂ se estabeleceu (LINFORD, 1937) e, ao redor deste, as células corticais sofrem hiperplasia e hipertrofia causando o sintoma típico de galhas.

Por outro lado, *Pratylenchus* penetra a raiz atrás da zona de alongação e diferenciação, permanece migrando no córtex e incita os sintomas de escurecimento e necrose (PITCHER; PATRICK; MOUNTAIN, 1960; KHAN, 1993). Essas estratégias de parasitismo, bem como densidade populacional e o tempo de exposição, podem definir qual dos patógenos terá melhor chance de sucesso. A prévia inoculação de *P. thornei* em menta (*Mentha arvensis* L.) não permitiu bom desenvolvimento de *M. incognita* por deixar menos sítios de alimentação disponíveis, enquanto a prévia inoculação com *M. incognita* causou alterações fisiológicas nas plantas, diminuindo as chances de sucesso de parasitismo de *P. thornei* (HASEEB; SHUKLA, 2000).

A interação entre diferentes espécies de nematoides, normalmente, é mais antagonista do que benéfica e embora duas ou mais espécies possam coabitar o mesmo hospedeiro, a competição se torna severa (ZACHEO, 1993). Estudo envolvendo infecção concomitante de *Pratylenchus* e *Meloidogyne* em soja (*Glycine max* L. Merrill) revelou que estes nematoides se suprimem mutuamente havendo diminuição de suas populações (HERMAN; HUSSEY; BOERMA, 1988). Esse antagonismo entre espécies não está restrito apenas a nematoides com formas de parasitismos parecidos. Dickson e McSorley (1990) avaliaram o comportamento de *Belonolaimus longicaudatus* Raul (1958), *M. incognita* e *P. brachyurus* no milho (*Zea mays* L.) e observaram que quando *B. longicaudatus* era inoculado sozinho, tinha um rápido aumento populacional, entretanto quando combinado com *P. brachyurus* sua população era reduzida, inclusive mais do que quando inoculado juntamente com *M. incognita*. Os autores ainda observaram que, 3 meses após a inoculação dos três nematoides juntos, a população de *B. longicaudatus* foi reduzida a quase 0, com predominância da população de *M. incognita* sobre *P. brachyurus*.

Infecções conjuntas de ectoparasitas e endoparasitas, na maioria das vezes, são supressivas para o ectoparasita, isso acontece porque os endoparasitas tem uma relação de parasitismo mais evoluída (ZACHEO, 1993). As espécies do gênero *Meloidogyne* são parasitas altamente especializados e tem efeito sistêmico sobre a alimentação de outros nematoides na mesma planta através de substâncias deletérias secretadas pelo nematoide ou produzidas pela planta em resposta ao parasitismo por esse nematoide e que são transmissíveis de tecidos infectados para tecidos sadios (VIGLIERCHIO et al., 1968; ESTORES; CHEN, 1972). Esse efeito foi observado quando *P. penetrans* foi inoculado em uma metade da raiz de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) sendo que a outra metade já estava com 15 dias de inoculada com *M. incognita*, sendo possível

observar uma significativa redução populacional de *P. penetrans* (ESTORES; CHEN, 1972).

Herman, Hussey e Boerma (1988) afirmam que o impacto das infecções combinadas de endoparasitas migradores e sedentários sobre o desenvolvimento das plantas é aditivo, embora, nem sempre, resultem em danos maiores que os causados em infecções isoladas. Os mesmos autores estudaram o efeito de *P. brachyurus* e de *M. incognita* em variedades de soja resistente a *M. incognita* (Gordon) e suscetível aos dois nematoides (Coker 317) e observaram que a combinação dos dois nematoides causou redução na parte aérea das duas variedades e, somente, a variedade Coker 317 teve redução do sistema radicular. Estudando o mesmo patossistema, Ferraz (1995) observou que as maiores reduções de massa da parte aérea e de sistema radicular foram obtidos quando *P. brachyurus* foi inoculado sozinho, seguido da inoculação conjunta de *P. brachyurus* com *M. javanica*. Contudo em cebola, o desenvolvimento foi reduzido mais severamente em infestações conjuntas de *P. penetrans* e *M. hapla*, ficando *P. penetrans* como o segundo responsável por maiores perdas (PANG; HAFEZ; SUNDARARAJ, 2009). Em cana-de-açúcar, Sujatha e Mehta (1997) observaram que em infecção conjunta de *P. zae* e *M. javanica*, as características qualitativas (brix, pureza, sacarose) e as características quantitativas (comprimento e peso das raízes) foram mais reduzidas que em infecções isoladas.

***Aphelenchoides* sp.**

Mais de 180 espécies já são descritas atualmente para esse gênero de nematoide (HUNT, 2008; SANCHEZ-MONGE et al., 2015). Abriga desde espécies de vida-livre habitantes de solo até fitoparasitas (HUNT, 1993). O parasitismo de *Aphelenchoides* Fisher (1894), em plantas se dá nas partes aéreas como, por exemplo, folhas,

inflorescências e sementes, além de frutos hipógeos (JESUS; CARES, 2016) e até mesmo raízes (BRIDGE; HUNT, 1985). Este nematoide causa danos e perda econômica em uma extensa gama de hospedeiros (HUNT, 1993).

O gênero *Aphelenchoides* não apresentam dimorfismo sexual, mantendo a forma filiforme durante toda a vida e, a maioria das espécies que causam doenças em plantas, se reproduzem por anfimixia (FERRAZ; BROWN, 2016). O comprimento do corpo, normalmente, não ultrapassa 1,2 mm, possuem a região labial pronunciada, o metacorpo bem desenvolvido, estilete delicado, a cauda com formato conóide apresentando mucros na porção terminal, as fêmeas possuem apenas uma gônada e os machos apresentam um espículo característico em forma de acúleo (JESUS; CARES, 2016). Normalmente, são ectoparasitas e endoparasitas migrador, no caso de *A. arachidis*, mas vale salientar que na ausência de culturas hospedeiras sobrevivem bem no solo se alimentando de hifas fúngicas, porém o solo não se constitui uma fonte de inoculo (YOSHII; YAMAMOTO, 1970). Quando na presença de plantas hospedeiras, esses nematoides iniciam uma migração externa e ascendente, sendo imprescindível a presença de lâmina de água (BERNARD; NOE, 2016). Ao alcançar as folhas e os primórdios foliares, se alimentam intensamente e quando as folhas se expandem se mostram pequenas, retorcidas, estreitas e com coloração mais escura (FERRAZ; BROWN, 2016).

Dentre as espécies de *Aphelenchoides*, cinco se destacam pela importância agrícola, são elas: *A. besseyi*, *A. fragariae*, *A. ritzemabosi*, *A. subtenuis* e *A. arachidis*. Dentre estas espécies, *A. arachidis* é a única que ainda não foi relatada no Brasil, estando restrita apenas à Nigéria causando danos à cultura do amendoim (*Arachishypogaea* L.). As demais são pragas importantes para arroz (*Oryza* L.), morango (*Fragaria* L.) e crisântemo (*Chrysanthemum* L.), respectivamente. *Aphelenchoides subtenuis* teve apenas um relato no Estado do Acre associado a

rizosfera de braquiária (*Brachiaria* (Trin.) Griseb) (SHARMA et al., 2001). As espécies de *Aphelenchoides* podem variar sua forma de parasitismo de acordo com a planta hospedeira disponível ou a parte da planta atacada (FORTUNER; WILLIAMS, 1975; CARES; SANTOS; TENENTE, 2008). Em 1961, Krusberg estudando o parasitismo de *Ditylenchus dipsacie* *A. ritzemabosi* em alfafa (*Medicago sativa* L.), observou que este nematoide parasitou raízes de alfafa crescidas em meio de cultura de forma ectoparasítica. Ferraz, Pitelli e Furlan (1978), em estudo de levantamento de nematoides associados à plantas daninhas, encontraram nematoides do gênero *Aphelenchoides*, contudo não contabilizaram por não acreditarem que estes nematoides estivessem se comportando como fitoparasitas. *Aphelenchoides besseyi* (SILVEIRA et al., 1977; DUNCAN; MOENS, 2006) e *A. arachidis* (CARES et al., 2008; MOSES et al., 2015) já foram relatadas em associação com cana-de-açúcar.

Nas condições brasileiras, os nematoides são reconhecidamente importantes para a cana-de-açúcar, em função dos danos que causam à cultura. Diante do exposto, os objetivos desse trabalho foram: 1) avaliar a reprodução de *M. incognita* e *M. enterolobii* quando em infestação única ou conjunta com *P. zaeae*, 2) verificar os efeitos da infestação conjunta de espécies de *Meloidogyne* e *P. zaeae* no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar e 3) relatar a penetração e migração de *Aphelenchoides* sp. em raiz de cana-de-açúcar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, P.; FAVERY, B.; ROSSO, M. N.; CASTAGNONE-SERENO, P. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 217-224, 2003.
- ABAWI, G. S.; CHEN, J. Concomitant pathogen and pest interactions. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAN, G. L. (Eds.). **Plant and Nematode Interactions**. Madison: American Society of Agronomy Inc., 1998. p. 135-158.
- AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by nematodes. In: AGRIOS, G. N. (Ed.) **Plant Pathology**. 5 ed. London: Academic Press, 2005. p. 825-874.
- ALENCAR, K. **Análise do balanço entre demanda por etanol e oferta de cana-de-açúcar no Brasil**. 2012, 49 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- ALMEIDA, E.J., SOARES, P.L.M., SANTOS, J.M. & MARTINS, A.B.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*) no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p.112-113. 2006. (Resumo).
- ASMUS, G.L., E.M. VICENTINI, & R.M.D.G. CARNEIRO. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 112. 2007. (Resumos).
- ASSUNÇÃO, A.; SANTOS, L. C.; ROCHA, M. R.; REIS, A. J. S.; TEIXEIRA, R. A.; LIMA, F. S. O. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 1, p. 56-62, 2010.
- BARBOSA, B. F. F. **Estudo das inter relações patógeno-hospedeiro de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, e *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven em cana-de-açúcar**. 2008, 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.
- BARBOSA, B. E. F.; SANTOS, J. M.; SOARES, P. L. M.; BARBOSA, J. C. Avaliação comparativa da agressividade de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* à variedade SP911049 de cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba, v. 33, n. 3, p. 243-247, 2009.

BELLÉ, C.; GOMES, C. B.; LIMA-MEDINA, L.; ROSA, J. B.; PACHECO, D. R.; CASA-COILA, V. H.; SILVA, S. D. A. Diversidade de espécies de *Meloidogyne* em cana-de-açúcar no litoral norte do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 32., 2015, Londrina. **Anais...** Paraná: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2015, p.73.

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**, Brandenton, v. 44, n. 2, p. 207-217, 2014.

BERNARD, E. C.; POE, J. P. Plant Parasitic Nematodes. In: OWNLEY, B. H.; TRIGIANO, R. N. (Eds.). **Plant Pathology, concepts and laboratory exercises**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press: Taylor in France Group, 2017. p. 103-118.

BRIDGE, J.; HUNT, D. J. (Eds.). **Aphelenchoides arachidis**. CIH description of plant parasitic nematodes. Saint Albans, UK: Commonwealth Institute of Helminthology, 1985. v. 8, 116 p.

CADET, P.; SPAULL, V. W. Nematode parasites of sugarcane. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. Wallingford: C.A.B. International Institute of Parasitology, 2005. p. 645-674.

CARES, J. E.; BLUM, L. E. B.; ANDRADE, E. P. Nematologia vegetal: uma introdução. In: BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. (Eds.). **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. 1. ed. Brasília: Otimismo, 2006. p. 128-166.

CARES, J. E.; SANTOS, J. R. P.; TENENTE, R. C. V. Taxonomia de nematoides de sementes, bulbos e caules – parte II. In: CRUZ, W. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. 2008. v. 16, 307 p.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CIROTTO, P. A.; QUINTANILHA, A. P.; SILVA, D. B.; CARNEIRO, R. G. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. accessions and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n. 4, p. 281-284, 2007.

CARNEIRO, R.G.; MÔNACO, A.P.A.; MORITZ, M.P.; NAKAMURA, K.C.; SCHERER, A. Identificação de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 293-298, 2006.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 25, n. 2, p. 223-228, 2001.

CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento de cana-de-açúcar**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 31-40, 2004.

CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R.; PEDROSA, E. M.; GUIMARÃES, L. M.; OLIVEIRA, M. K. D. S. Incidência de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* sp. em cana-de-açúcar no estado de Pernambuco, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba- SP, v. 33, n. 4, p. 278-280, 2009.

CLURE, M. A. M. *Meloidogyne* incognita: a metabolic synk. **Journal of Nematology**, College Park, v. 9, n. 1, p. 1-3, 1977.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar**. v.3 – Safra 2016/2017, n. 3 - Terceiro Levantamento. Brasília: Conab, 2016. Disponível em:<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_12_27_16_30_01_boletim_cana_portugues_-3o_lev_-_16-17.pdf> Acesso em: 07mar. 2017.

CHRISTIE, J. R. The development of root-knot nematode galls. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p. 1-22, 1936.

DAVIS, E. L.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J. Getting to the roots parasitism by nematodes. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 20, p. 134-141, 2004.

DAVIS, R. A. Cytological and histological effects of *Xiphinema diversicaudatum* and *Meloidogyne hapla* on rose roots. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 49, p. 253 (Abstr.). 1959.

DICKSON, D. W.; McSORLEY, R. Interaction of three plant-parasitic nematodes on corn and soybean. **Journal of Nematology**, College Park, v. 22, n. 4s, p. 783-791, 1990.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Nematoides e pragas de solo em cana-de-açúcar. Encarte de Informações Agronômicas, n. 110, p. 25-32, 2005. Disponível em: <[https://www.ipni.net/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/\\$FILE/Enc25-32-110.pdf](https://www.ipni.net/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/$FILE/Enc25-32-110.pdf)> Acesso em: 04 mar. 2017.

DINARDO-MIRANDA, L.L. Nematoides. In: DINARDO-MIRANDA, L. L., A. C. M. VASCONCELOS; M. G. A. LANDELL (Eds.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2008. p. 405-422.

DINARDO-MIRANDA, L. L. **Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *Pratylenchus zaeae* (Nemata: Pratylenchidae) a duas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.)**. 1990. 51f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba, v. 23, n. 2, p. 76-83, 1999.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GARCIA, V.; PARAZZI, E. V. J. Efeito de inseticidas no controle de *Manaharvafimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) e de nematoides fitoparasitos na qualidade tecnológica e produtiva de cana-de-açúcar. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 609-614, 2002.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GIL, M. A.; GONÇALVES, R. F. Interação entre nematicidas e herbicidas aplicados no plantio da cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 557-562, 2006.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GIL, M. A.; MENEGATTI, C. C. Danos causados por nematoides a variedade de cana-de-açúcar em cana planta, **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 27, n. 1, p. 69-73, 2003.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; MENEGATTI, C. C.; GARCIA, V.; SILVA, S. F.; ODORISI, M. Reação de diversas variedades de cana-de-açúcar a *Pratylenchus zaeae*. **STAB – Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 17, n. 2, p. 39-41, 1998.

DUNCAN, L. W.; MOENS, M. The bud and leaf nematodes, *Aphelenchoides fragariae* and *A. ritzemabosi*. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). **Plant Nematology**. Wallingford: CAB International, 2006. p. 142-152.

ENDO, B. Y. Pathogenesis of nematode-infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.13, p. 213-238, 1975.

ESTORES, R. A.; CHEN, T. A. Interactions of *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne incognita* as coinhabitants in tomato. **Journal of Nematology**, College Park, v. 4, n.3, p. 170-174, 1972.

- FERRAZ, L. C. C. B. Interações entre *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne javanica* em soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 305-309, 1995.
- FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. (Eds.) **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 251 p.
- FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In. AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; FILHO, B. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. v. 1. p. 277-305.
- FERRAZ, L. C. C. B.; PITELLI, R. A.; FURLAN, V. Nematoides associados a plantas daninhas na região de Jaboticabal – SP: primeiro relato. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 5-11, 1978.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; ARIEIRA, C. R. D. **Manejo Sustentável de Fitonematoides**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2009. 306 p.
- FERREIRA FILHO, N. C.; SANTOS, J. M.; SILVEIRA, S. F. Caracterização morfológica e bioquímica de uma nova espécie parasita da goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 24, n. 1, p. 121, 2000. Resumos.
- FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. Viçosa: UFV, 2001. 84p. (CadernosDidáticos, 58).
- FORTUNER, R.; WILLIAMS, K. J. O. Review of literature on *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942, the nematode causing the white tip disease in rice. **Helminthological Abstracts, Series B Plant Nematology**, v. 44, n. 1, p. 1-348, 1975.
- GARCIA, V.; SILVA, S. F.; DINARDO-MIRANDA, L. L. Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em relação à *Meloidogyne incognita*. **Revista Nacional do Alcool e Açúcar**, v. 17, n. 87, p.14-19, 1997.
- GODFREY, G. H. A. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus* n. sp. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 9, n. 6, p. 6-629, 1929.
- GOMES, C. B.; COUTO, M. E.; CARNEIRO, R. M. D. G. (2008) Registro de Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira (*Psidium guajava* L.) e Fumo (*Nicotianatabacum* L.) no Sul do Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 244-247, 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. (Eds.). **Diagnose de Fitonematoides**. Campinas: Editora Millennium, 2016. p. 71-98.

HASEEB, A.; SHUKLA, P. K. Effect of *Pratylenchus thornei* and *Meloidogyne incognita*, alone and in combinations, on the growth and oil yield of menthaarvensis. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 28, n. 2, p. 151-155, 2000.

HERMAN, M.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Interactions between *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus brachyurus* on soybean. **Journal of Nematology**, College Park, v. 20, n. 1, p. 79-84, 1988.

HUNT, D. J. A checklist of the Aphelenchoidea (Nematoda: Tylenchina). **Journal of Nematode Morphology and Systematics**, v. 10, p. 99-135, 2008.

HUNT, D. J. A. (Ed.). **Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae: their systematic and bionomics**. Wallingford: CAB International, 1993. 352 p.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. Root-knot nematodes. In: MANZANILLA-LÓPEZ, R. H.; MARBÁN-MENDOZA, N. (Eds.). **Practical Plant Nematology**. Madrid: BBA, 2012. p. 359-409.

HUSSEY, R. S. Disease - inducing secretion of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 27, p. 123-141, 1989.

HUSSEY, R. S.; MIMS, C. W. Ultrastructure of feeding tubes formed in giant-cells induced in plants by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Protoplasma**, New York, v. 162, p. 99-107, 1991

HUSSEY, R. S.; WILLIAMSON, V. M. Physiological and molecular aspects of nematode parasitism. In: BARHER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (Ed.) **Plant and Nematode Interactions**. 1. ed. Madison: ASA, v. 36, p. 87-108, 1998.

JESUS, D. S.; CARES, J. E. Gênero *Aphelenchoides*. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (Eds.). **Diagnose de Fitonematoides**. Editora Millennium: Campinas, p. 99-118, 2016.

JAOUANNET, M.; PERFUS-BARBEOCH, L.; DELEURY, E.; MAGLIANO, M.; ENGLER, G.; VIEIRA, P.; DANCHIN, E. G. J.; DA ROCHA, M.; COQUILLARD, P.; ABAD, P.; ROSSO, M. N. A root-knot nematode-secreted protein is injected into giant cells targeted to the nuclei. **New Phytologist**, Cambridge, v. 194, p. 924-931, 2012.

KRUSBERG, L. R. Studies on the culturing and parasitism of plant-parasitic nematodes, in particular *Ditylenchus dipsaci* and *Aphelenchoides ritzemabosi* on alfalfa tissues. **Nematologica**, Leiden, v. 6, n. 3, p. 181-200, 1961.

KHAN, M. W. Mechanisms of interactions between nematodes and other plant pathogens. In: KHAN, M. W. (Ed.). **Nematodes Interactions**. Aligarh: Chapman & Hall, p. 55-78, 1993.

LESUFI, M. M.; SWART, A.; McDONALD, A. H.; KNOETZE, R.; TIEDT, L. R.; TRUTER, M. Morfological e molecular studies on *Aphelenchoides arachidis* Bos, 1977 (Nematoda: Aphelenchoididae) from groundnuts in South Africa. **Nematology**, College Park, v. 17, n. 4, p. 433-445, 2015.

LIMA, I.M., DOLINSKI, C.M. & SOUZA, R.M. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 257-258. 2003. (Resumo).

LIMA, I.M., MARTINS, M.V.V., SERRANO, L.A.L, CARNEIRO, R.M.D.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira cv. 'Paluma' no estado do Espírito Santo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 133. 2007. (Resumo)

LIMA, I. M.; SOUZA, R. M.; SILVA, C. P.; CARNEIRO, R. M. D. G. *Meloidogyne* spp. from preserved areas of Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 31-38, 2005.

LINFORD, M. B. The feeding of the root-knot nematode in root tissue and nutrient solution. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 27, p. 824-835, 1937.

LUCCHESI, A. A. A cana-de-açúcar. In: CASTRO, P. R. C.; KLUDE, A. R. (Eds.). **Ecofisiologia de culturas extrativistas: cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendzeneiro e oliveira**. 1. ed. Piracicaba: Cosmópolis Stoller do Brasil, v. 1, p. 13-45, 2001.

MACEDO, N.; MACEDO, D.; CAMPOS, M.; NOVARETTI, W. R. T.; FERRAZ, L. C. C. B. Manejo de pragas e nematoides. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; 21 CALDAS, C. (Eds.). **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool - tecnologias e perspectivas**. 2 ed. Viçosa: editora, v. 1, p. 119-159, 2009.

MARANHÃO, S. R. V. L.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Reação de indivíduos segregantes de goiabeira a *Meloidogyne incognita* raça 1e *M. mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 25, n.2, p. 191-195, 2001.

MOURA, R. M. Nematoides de interesse agrícola assinalados na UFRPE no Nordeste do Brasil (1967-2005). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, n. 2, p. 289-292, 2005.

MOURA, R. M.; ALMEIDA, A. V. Estudos preliminares sobre a ocorrência de fitonematoides associados à cana-de-açúcar em áreas de baixa produtividade agrícola no Estado de Pernambuco. **Sociedade Brasileira de Nematologia**, v.5, p. 213-220, 1981.

MOURA, R. M.; ALMEIDA, R. M. A.; COSTA, M.; LIMA, S. T. S.; CARNEIRO, R. M. D. G. *Meloidogynes* species detected in sugarcane fields in the State of Pernambuco, Brazil. In: II INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY (40th ONTA), 28., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: Universidade Federal de Alagoas, p.24-24, 2009.

MOURA, R. M.; MOURA, A. M. *Meloidogyne* da goiabeira: doença de alta severidade no Estado de Pernambuco. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 13, n. 1, p. 13-19, 1989.

MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MACEDO, M. E. A.; MOURA, A. M.; SILVA, E. G.; LIMA, R. F. Ocorrência dos fitonematoides *Pratylenchus zae* e *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 101-103, 2000.

MOZAMBANI, A. E. História e Morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. D. S.; JENDIROBA, E. (Eds.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. 1. ed. Piracicaba: CP 2, p. 11-18, 2006.

MOZER, S.; TELLES, V. **Descobrimos a História**. 1. ed. São Paulo: Editora Ática, 151 p., 2002.

OLOWE, T.; CORBETT, D. C. M. Aspects of the biology of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zae*. **Nematologica**, Leiden, v. 22, n. 2, p. 202-211, 1976.

PANG, W.; HAFEZ, S. L.; SUNDARARAJ, P. Concomitant interaction of *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne hapla* on onion. **Nematropica**, Bradenton, v. 39, n. 2, p.297-303, 2009.

PITCHER, R. S., Z. A. PATRICK and W. B. MOUNTAIN. Studies on the host-parasite relations of *Pratylenchus penetrans* (Cobb) to apple seedlings. I. Pathogenicity under sterile conditions. **Nematologica**, Leiden, v. 5, p. 309-314, 1960.

REGIS, E. M. O.; MOURA, R. M. Comportamento de cinco variedades de cana-de-açúcar em relação ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* raça 1. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba, v.13, p. 109-118, 1989.

RINALDI, L. K.; NUNES, J.; MONTECELLI, T. D. N. Efeito de texturas de solos sobre *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* em soja. **Cultivando o saber**, Paraná, v. 7, n. 1, p. 94-101, 2014.

ROCHA, T. L.; MURAD, A. M.; ESPINDOLA, L. S.; FIRMINO, A. A. P.; NETO, O. B. O.; COUTINHO, M. V.; SILVA, M. C. M.; SÁ, M. F. G. Prospecção de moléculas de extratos vegetais do bioma cerrado para o controle de *Colletotrichum gossypii* var. cephalosporioides e *Meloidogyne incognita*. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (**Documentos 228**), Brasília, DF, 2007.

RODRIGUES, C. V. M. A.; PEDROSA, E. M. R.; OLIVEIRA, A. K. S.; LEITÃO, D. A. H. S.; BARBOSA, N. M. R.; OLIVEIRA, N. J. V. Distribuição vertical da nematofauna associada à cana-de-açúcar. **Nematropica**, Brandenton, v. 41, n. 1, p. 5-11, 2011.

RODRÍGUEZ-KABANA, R.; WILLIAMS, J. C. Soybean yield losses caused by *Meloidogyne arenaria* and *Heterodera glycines* in a field infested with the two parasites. **Nematropica**, Bradenton, v. 2, n. 2, p. 93-104, 1981.

SÁNCHEZ-MONGE, A.; FLORES, L.; SALAZAR, L.; HOCKLAND, S.; BERT, W. An update list of plants associated with plant-parasitic *Aphelenchoides* (Nematoda: Aphelenchoididae) and its implications for plant-parasitism within this genus. **Zootaxa**, New Zealand, v. 4013, p. 207-227, 2015.

SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M.; MOZANBANI, A. E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In. SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Eds.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Livrocere, 2006.

SHARMA, R. D.; CAVALCANTE, M. J. B.; VALENTIM, J. F. Nematoides associados ao capim *Brachiaria brisantha* cv. Mandaru no estado do Acre, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 25, n. 2, p. 217-222, 2001.

SILVA, A. P. **Comportamento de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii***. 2012. 50f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

SILVA, G.S., ATAYDE SOBRINHO, C., PEREIRA, A.L. & SANTOS, J.M. 2006. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Piauí. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 307-309, 2006.

SILVA, G. S.; PEREIRA, A. L.; ARAÚJO, J. R. G.; CARNEIRO, R. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no estado do Maranhão. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 242-243, 2008.

SILVEIRA, S. F.; CARVALHO, A. J. C.; SANTOS, J. M. Ocorrência de nematoide das galhas em goiabal de São João da Barra, RJ. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, supl., p. 340-341, 2000.

SILVEIRA, S.G.P.; CURI, S.M.; FERNANDES, C.O.; BONA, A. Ocorrência do nematoide *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942, em áreas produtoras de sementes de arroz, no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 2, n. , p. 81-91, 1977.

SMILEY, R. W. Root lesion nematode: Biology and management in Pacific Northwest wheat cropping systems. A Pacific Northwest Extension Publication. PNW 617, 2015. Disponível em: <https://catalog.extension.oregonstate.edu/sites/catalog/files/project/pdf/pnw617_1.pdf> Acesso em: 26 mar. 2017.

SOUZA, R. M.; NOGUEIRA, M. S.; LIMA, I. M.; MELARATO, M.; DOLINSKI, C. M. Manejo do nematoide das galhas da goiabeira em São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 165-169, 2006.

STEVEN, A.; SUNDAY, S.; FISAYO, D. Biodiversity of plant-parasitic nematodes of sugarcane in Bacita, Nigeria. **Journal of Entomology and Nematology**, v. 6, n. 6, p. 71-79, 2014.

SUGAWARA, S. M.; RUDORFF, B. F. T. Acompanhamento do crescimento vegetativo da cana-de-açúcar por meio de séries temporais de NDVI do sensor Modis. In: XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. Curitiba. **Anais**.p. 391-398, 2011.

SUJATHA, K.; MEHTA, U. K. Relative pathogenicity of *Pratylenchus zae* and *Meloidogyne javanica* on sugarcane crop. **International Journal of Nematology**, v. 7, p. 221-224, 1997.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, Identification and Control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. North Carolina State University, Raleigh. 111p.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993, 372p.

TORRES, G.R.C., COVELLO, V.N., SALES JÚNIOR, R., PEDROSA, E.M.R. & MOURA, R.M. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 570, 2004.

TORRES, G.R.C., SALES JÚNIOR, R., REHN, V.N.C., PEDROSA, E.M.R. & MOURA, R.M. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Ceará. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 105-107, 2005.

VAN DER EYCKEN, W.; ENGLER, J. A.; INZÉ, D.; MONTAGU, M. V.; GHEYSEN, G. A molecular study of root-knot nematode-induced feeding sites. **The Plant Journal**, v. 9, n. 1, p. 45-54, 1996.

VIEIRA, M. A. S. **Comportamento de genótipos de cana-de-açúcar em solos com infestação natural de nematoides**. Tese (Doutorado em Genética). 1993. 92f. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1993.

VIGLIERCHIO, D. R.; YU, P. K. Plant growth substances and parasitic nematodes. Host influence on auxin content. **Experimental Parasitology**, San Diego, v.23, n. 1, p. 88-95, 1968.

YOSHII, H.; YAMAMOTO, S. A rice nematode disease I) symptoms and pathogenic nematode. **Journal of the Faculty of Agriculture**, Kyushu University, v. 9, n. 3, p. 209-222, 1970.

ZACHEO, G. Introduction. In: KHAN, M. W. (Ed.). **Nematodes Interactions**. Aligarh: Chapman & Hall, p.1-25, 1993.

ZUNKE, U. Ectoparasitic feeding behavior of the root lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*, on root hairs of different host plants. **Revue de Nématologie**, Bondy, v. 13, n. 3, p. 331-337, 1990a.

ZUNKE, U. Observations of the invasion and endoparasitic behavior of the root lesion nematode *Pratylenchus penetrans*. **Journal of Nematology**, College Park, v. 22, n. 3, p. 309-320, 1990b.

CAPÍTULO II
INTERAÇÃO ENTRE *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii* e *P. zea* EM
CANA-DE-AÇÚCAR

Interaction among *Meloidogyne incognita* and *M. enterolobii* with *Pratylenchus zae*.

Raycenne Rosa Leite • Elvira Maria Regis Pedrosa • Sandra Roberta Vaz Lira Maranhão • Sabrina França Silva • Lilian Margarete Paes Guimarães*

E. M. R. Pedrosa

Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil.

R. R. Leite • S. R. V. L. Maranhão • S. F. Silva • L. M. P. Guimarães*

Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil. phone: +55 81 33206212, fax: +55 81 33206205, e-mail: lilian.guimaraes@ufrpe.br

RESUMO

1
2 Leite, R. R.; E. M. R., Pedrosa; S. R. V. L., Maranhão, S. F., Silva; L. M. P.,
3 Guimarães. 2017. Interação entre *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii* e *Pratylenchus*
4 *zoeae* em cana-de-açúcar. *Nematropica*, 41:00-00

5 Os nematoides *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zoeae* estão comumente presentes
6 nos canaviais brasileiros causando sérios problemas. Aliado a isso, tem-se o recente
7 assinalamento de *M. enterolobii* ocorrendo naturalmente em campos de cana-de-açúcar
8 em Pernambuco e no Rio Grande do Sul. Assim, este trabalho teve como objetivos i)
9 mensurar, isoladamente, os níveis populacionais de *M. incognita* e *M. enterolobii* em
10 duas variedades de cana-de-açúcar; ii) contabilizar as densidades populacionais de *M.*
11 *incognita*, de *M. enterolobii* e de *P. zoeae* em infestações conjuntas e, iii) avaliar os
12 efeitos da ação conjunta desses nematoides no desenvolvimento inicial da cana-de-
13 açúcar. Três experimentos foram conduzidos paralelamente. No primeiro experimento,
14 três densidades populacionais dos dois nematoides, *M. incognita* e *M. enterolobii*, foram
15 inoculados nas duas variedades de cana-de-açúcar, RB867515 e RB92579, além do
16 tratamento controle – sem nematoide. O segundo experimento seguiu o mesmo
17 delineamento do primeiro, tendo como diferença a prévia infestação do solo com *P.*
18 *zoeae* ($P_i \approx 2000$ juvenis e adultos). No terceiro experimento, foi feita inoculação de *P.*
19 *zoeae* seguida da inoculação com *M. incognita* ou *M. enterolobii* nas duas variedades de
20 cana-de-açúcar. *Meloidogyne enterolobii* não teve bom desenvolvimento nas variedades
21 de cana após 120 dias da infestação, ao contrário de *M. incognita* que alcançou altos
22 níveis populacionais. Em infecções mistas com *P. zoeae*, houve uma redução
23 populacional de *M. incognita*, enquanto que *M. enterolobii* alcançou fator de reprodução
24 maior que 1 nas duas variedades estudadas. Menores biomassa fresca e seca foram
25 obtidas na infestação conjunta de *P. zoeae* e *M. incognita*, considerada como a mais

26 danosa para a cana-de-açúcar. Em infecções mistas, *P. zea* e *M. incognita* se
27 suprimiam mutuamente, diminuindo seus níveis populacionais.

28 Palavras-chave: infecção conjunta, nematoide das galhas, nematoide das lesões
29 radiculares, *Saccharum*.

30 ABSTRACT

31 Leite, R. R.; E. M. R., Pedrosa; S. R. V. L., Maranhão, S. F., Silva; L. M. P.,
32 Guimarães. 2017. Interaction among *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii* and
33 *Pratylenchus zea* in sugarcane. *Nematropica*, 41:00-00

34 The nematodes *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus zea* are ubiquitous in
35 the Brazilian sugarcane fields and induce severe production losses. Moreover a recent
36 report showed a natural occurrence of *M. enterolobii* in sugarcane fields from
37 Pernambuco and Rio Grande do Sul. Therefore we aimed to measure (i) the isolate
38 population density of both *M. incognita* and *M. enterolobii* in two sugarcane varieties
39 (ii) the population density of *M. incognita*, *M. enterolobii* e *P. zea* in mixed infections
40 and, (iii) evaluate the combined effects of nematodes on sugarcane shoots and roots
41 growth. Three experiments were performed. In first experiment, three population
42 densities of *M. incognita* and *M. enterolobii* were inoculated in both RB867515 and
43 RB92579 sugarcane varieties with a control treatment – no nematode. The second
44 experiment was designed similarly to the first experiment, but with a previous infection
45 of *P. zea* (initial population=2000). The third experiment consisted of a prior
46 inoculation with *P. zea* followed by *M. incognita* and *M. enterolobii* in both sugarcane
47 varieties. *Meloidogyne enterolobii* did not develop well on both sugarcane varieties
48 even after 120 days of inoculation, while *M. incognita* reached high population density.
49 In contrast, when in a mixed infections with *P. zea*, the *M. incognita* populations
50 decreased while *M. enterolobii* reached a reproduction factor higher than 1, in both

51 sugarcane varieties. The mixed infection with *P. zea* and *M. incognita* reduced both
52 fresh and dried shoot weight, thus being considered the more damaging infection to
53 sugarcane. In mixed infections, *P. zea* and *M. incognita* mutually suppressed each other,
54 decreasing their population densities.

55 Key words: *Saccharum* spp., root-knot nematode, lesion root nematode, interaction.

56

57

INTRODUÇÃO

58 Nas áreas cultivadas com cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) no Brasil, os
59 fitonematoides estão entre os principais patógenos que diminuem a produtividade
60 (MOURA, 2000; DINARDO-MIRANDA, 2005). Os mais comuns e nocivos à cultura
61 são os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp. Goeldi) e o nematoide das lesões
62 radiculares (*Pratylenchus* spp. Filipjev). *Pratylenchus zea* Graham, *M. incognita*
63 (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood são considerados
64 nematoides altamente patogênicos e os mais importantes à cana-de-açúcar devido aos
65 prejuízos causados (CADET; SPAULL, 2005; GUIMARÃES et al., 2008; STEVEN;
66 SUNDAY.; FISAYO, 2014). Dinardo-Miranda (1999; 2005) e Garcia et al. (1997)
67 apontam *M. javanica* como menos agressivo à cana que *M. incognita*, e *P. zea* como o
68 mais comum. As perdas causadas na produção estão na ordem de 20 a 30% para *M.*
69 *javanica* e *P. zea* e de até 50% para *M. incognita*.

70 *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback é um nematoide altamente agressivo
71 que vem causando danos em diversas culturas ao redor do mundo. No Brasil, foi
72 inicialmente relatado em Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA), em plantações de
73 goiabeiras (*Psidium guajava* L.), tendo recebido o nome de *M. mayaguensis* (Carneiro
74 et al., 2001). Após estudos morfológicos, de gama de hospedeiras, de fenótipos das
75 enzimas esterase e malato desidrogenase e de sequências de mtDNA, *M. mayaguensis*

76 foi considerado sinonímia de *M. enterolobii*, nome válido atualmente. Dois
77 assinalamentos foram feitos relatando a ocorrência desse nematoide em campos de
78 cana-de-açúcar em Pernambuco (Moura et al., 2009) e no Rio Grande do Sul (Bellé et
79 al., 2015).

80 Infestações mistas de fitonematoides em campos de cultivo de cana-de-açúcar
81 são muito comuns, fato agravado pela monocultura, uso intensivo do solo, solos de
82 baixa fertilidade e estações de seca prolongada (DINARDO-MIRANDA, 2008;
83 MOURA et al., 2000). Entretanto, a maioria dos trabalhos trata sobre infecções
84 individuais na planta, causada por apenas um desses nematoides. Além do mais, a
85 ocorrência da relação parasítica um ‘nematoide-uma doença’, em campo, é uma
86 situação atípica (DICKSON; McSORLEY, 1990). Os trabalhos que tratam de infecções
87 mistas e de danos causados por comunidade poliespecífica de nematoides são
88 esporádicos, restritos a algumas culturas e, geralmente, antigos (FERRAZ, 1995).

89 A combinação interespecífica de *Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp. já foi
90 estudada em algumas culturas. Em soja, essa interação causou redução na massa das
91 plantas, tanto de parte aérea quanto de raiz e ainda foi possível perceber a supressão
92 mútua desses nematoides (HERMAN; HUSSEY; BOERMA, 1988; DICKSON;
93 McSORLEY, 1990; FERRAZ, 1995). No intuito de verificar a inibição desses
94 nematoides Estores e Chen (1972) separaram o sistema radicular de um mesmo
95 tomateiro em duas partes e inocularam *M. incognita* em uma metade e 15 dias depois *P.*
96 *penetrans*(Cobb) Filipjev & Schuurmans Stekhoven em outra. Os autores observaram
97 que *P. penetrans* não conseguiu se desenvolver. Em infestações de *P. penetrans* e *M.*
98 *hapla* Chitwood em cebola, foi observada diminuição de produtividade pela redução no
99 diâmetro do bulbo, altura da planta e massas das matérias fresca e seca da parte aérea
100 (PANG; HAFEZ; SUNDARARAJ, 2009). Testando níveis de inóculo de *M. incognita* e

101 de *P. penetrans* em alfafa, foi possível observar que *P. penetrans* suprimia mais *M.*
102 *incognita* do que o contrário (AMOSU; TAYLOR, 1975; TURNER; CHAPMAN,
103 1972). Inoculando *M. chitwood* Golden, O'Bannon, Santo & Finley e *P.*
104 *neglectus* (Rensch) Filipjev & Schuurmans Stekhoven em batata foi observada uma
105 mútua supressão destas espécies na raiz e no solo, com predominância de supressão de
106 *M. chitwood* por *P. neglectus* (AL-REHIAYANE et al., 1999). *Pratylenchus*
107 *brachyurus*(Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven conseguiu suprimir as
108 populações de *M. incognita* e *M. hapla* em plantas de fumo, mantendo a população final
109 desses nematoides igual ao nível de inóculo inicial utilizado (JOHNSON; NUSBAUM,
110 1970). Infecções de *P. thornei* Sher & Allen e de *M. incognita* em menta causaram
111 redução de massa das raízes e da parte aérea e, ainda, diminuição da porcentagem de
112 óleo obtida da folha fresca (HASEEB; SHUKLA, 2000), Em cana-de-açúcar, a infecção
113 de *P. zae* e *M. javanica*, causou depreciação da qualidade do produto final obtido como
114 brix, sacarose e pureza (SUJATHA; MEHTA, 1997).

115 Os objetivos deste trabalho foram determinar a taxa reprodutiva de *M. incognita*
116 e de *M. enterolobii* quando em inoculação isolada e quando em inoculação conjunta
117 com *P. zae* em cana-de-açúcar e os efeitos dessa interação sobre o desenvolvimento
118 inicial das variedades RB867515 e RB92579.

119

120

MATERIAIS E MÉTODOS

121 Foram realizados três experimentos, que foram conduzidos na casa de vegetação
122 do Laboratório de Fitonematologia do Departamento de Agronomia da Universidade
123 Federal Rural de Pernambuco.

124 Obtenção do inóculo do nematoide

125 A população de *M. incognita* foi obtida de raízes de cana-de-açúcar
126 naturalmente infectadas em campo. Em laboratório, essas raízes foram lavadas e as
127 fêmeas, com suas respectivas massas de ovos, foram retiradas e acondicionadas em
128 recipientes separados e identificados. A prévia identificação das espécies foi feita pela
129 morfologia da região perineal em preparações microscópicas e a confirmação foi feita
130 pela técnica de eletroforese de isoenzimas em gel de poliacrilamida. Identificada a
131 espécie, as respectivas massas de ovos das fêmeas submetidas à identificação foram
132 inoculadas em tomateiros variedade ‘Santa Clara’ para multiplicação.

133 A espécie *M. enterolobii* foi obtida de raízes de goiabeiras cultivadas no
134 Submédio do Vale do São Francisco. Essas raízes foram lavadas, as fêmeas foram
135 retiradas, e identificadas pela eletroforese, conforme descrito anteriormente.
136 Confirmada a espécie, procedeu-se a extração de ovos e inoculação em tomateiro para
137 multiplicação.

138 As populações de nematoide utilizadas nos experimentos foram obtidas de raízes
139 de tomateiros mantidos em casa de vegetação do Laboratório de Fitonematologia.
140 Tomateiros da variedade ‘Santa Clara’ foram transplantados aos 21 dias de idade para
141 vasos de 5L contendo solo esterilizado a 120°C/2h. A infestação com ovos de *M.*
142 *incognita* e de *M. enterolobii* foi feita em dois orifícios equidistantes próximos ao caule
143 das plantas. Após 60 dias da inoculação, essas raízes foram retiradas dos vasos e
144 procedeu-se a extração de ovos conforme metodologia de Hussey e Barker (1973)
145 modificada por Bonetti e Ferraz (1981). A suspensão foi quantificada em lâmina de
146 Peters sob microscópio óptico.

147 A população de *P. zae* utilizada no experimento 2 e 3 foi obtida de solos
148 infestados em campos cultivados com cana-de-açúcar na Usina Santa Teresa, Goiana-

149 PE e anteriormente identificada por morfometria (Castillo e Volvas, 2007). Os
150 nematoides foram mantidos em mudas de ápice caulinar de cana-de-açúcar das
151 variedades RB 867515 e RB 92579. Os nematoides foram extraídos de raiz pela técnica
152 de flotação centrífuga em sacarose de Jenkins (1964) Os espécimes foram quantificados
153 em lâmina de Peters sob microscópio óptico.

154 Experimento 1

155 Reprodução de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* em inoculação única

156 Foram estudadas duas variedades (RB867515 e RB92579) obtidas junto à
157 Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina (EECAC) da Universidade Federal
158 Rural de Pernambuco (UFRPE). As plantas de cana-de-açúcar foram obtidas a partir de
159 rebolos. Para a formação de mudas selecionaram-se plantas de cana-de-açúcar oriundas
160 de campos cultivados na EECAC, considerando-se vigor e sanidade. Os colmos
161 selecionados foram cortados em tamanhos de 60 mm, contendo apenas uma gema por
162 rebolo, e plantados em copos plásticos de 500mL contendo solo esterilizado a 120°C e 1
163 atm. durante 2 horas.

164 Passados 15 dias do plantio, selecionaram-se as mudas que apresentavam melhor
165 desenvolvimento e seguiu-se a inoculação com ovos e juvenis (J₂) de *M. incognita* e *M.*
166 *enterolobii*. Para cada nematoide, utilizaram-se diferentes densidades de inóculo: 0,
167 5000, 10000 e 20000 ovos e J₂ para inoculação das mudas de cana-de-açúcar. O inóculo
168 foi distribuído em dois orifícios equidistantes próximos ao colmo das plantas.

169 A irrigação foi suspensa por cinco dias, evitando a lixiviação do inóculo. Após
170 esse período, as plantas foram retiradas dos copos plásticos e transplantadas para sacos
171 de muda, com capacidade para 5L de substrato, onde permaneceram até o momento de
172 avaliação.

173 O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em
174 esquema fatorial com dois nematoides (*M. incognita* e *M. enterolobii*), duas variedades
175 (RB867515 e RB92579) e quatro densidades de inóculo (0, 5000, 10000, 20000), com
176 cinco repetições, totalizando um estande experimental com 80 plantas.

177 Após 120 dias, as raízes dessas plantas foram retiradas e lavadas em água.
178 Procedeu-se a extração de ovos segundo metodologia proposta por Hussey e Barker
179 (1973) e modificada por Bonetti e Ferraz (1981). Os ovos presentes nas suspensões de
180 cada unidade experimental foram quantificados em lâmina de Peters sob microscópio
181 óptico. Os parâmetros avaliados foram a população final total do nematoide nas raízes
182 de cana-de-açúcar e o fator de reprodução obtido pela População final/População inicial.

183 Experimento 2

184 Reprodução de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* em inoculação mista 185 com *Pratylenchus zae*.

186 Foram utilizadas duas variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579
187 obtidas do cultivo de ápices caulinares desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento
188 Genético de Cana-de-açúcar – RIDESA, produzidas e cedidas pela Biofábrica da Usina
189 Santa Tereza, Goiana-PE. Essas mudas foram transplantadas para copos plásticos de
190 500 ml, contendo solo esterilizado a 120 °C e 1 atm. por 2 horas.

191 Todas as plantas do experimento foram inoculadas com *P. zae* em uma
192 densidade inicial de 2000 ovos e juvenis. Sete dias depois procedeu-se a inoculação
193 com as espécies de *Meloidogyne*. Para cada nematoide (*M. incognita* e *M. enterolobii*),
194 utilizaram-se diferentes densidades de inóculo: 0, 5000, 10000 e 20000 ovos e J₂ para
195 inoculação das mudas de cana-de-açúcar. O inóculo foi distribuído em dois orifícios
196 equidistantes próximos ao colmo das plantas.

197 A irrigação foi suspensa por cinco dias, evitando a lixiviação do inóculo. Após
198 esse período, as plantas foram retiradas dos copos plásticos e transplantadas para sacos
199 de muda, com capacidade para 5L de substrato, onde permaneceram até o momento de
200 avaliação.

201 O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em
202 esquema fatorial com duas combinações de nematoides (*P. zaeae* + *M. incognita* e *P.*
203 *zaeae* + *M. enterolobii*), duas variedades (RB867515 e RB92579) e quatro densidades de
204 inóculo (0, 5000, 10000, 20000), com cinco repetições, totalizando um estande
205 experimental com 80 plantas.

206 Após 120 dias, as raízes dessas plantas foram retiradas e lavadas em água.
207 Procedeu-se a extração de ovos segundo metodologia proposta por Hussey e Barker
208 (1973) e modificada por Bonetti e Ferraz (1981). Os ovos e J₂ das espécies de
209 *Meloidogyne* presentes nas suspensões de cada unidade experimental, foram
210 quantificados em lâmina de Peters sob microscópio óptico. Os parâmetros avaliados
211 foram a população final total das espécies de *Meloidogyne* nas raízes de cana-de-açúcar
212 e o fator de reprodução obtido pela População final/População inicial.

213 Experimento 3

214 Desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar e reprodução de *Meloidogyne incognita*,
215 *Meloidogyne enterolobii* e *Pratylenchus zaeae*.

216 Foi conduzido com mudas advindas de cultivo de ápices caulinares das
217 variedades RB867515 e RB92579, também desenvolvidas pelo Programa de
218 Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar – RIDESA, produzidas e cedidas pela
219 Biofábrica da Usina Santa Tereza, Goiana-PE.

220 Todas as plantas foram inicialmente inoculadas com 2000 ovos e juvenis de *P.*
221 *zaeae*. Decorridos sete dias, essas plantas foram inoculadas com 2000 ovos e J₂ de *M.*

222 *incognita* ou de *M. enterolobii*, em dois orifícios equidistantes próximos ao colmo das
223 plantas.

224 A irrigação foi suspensa por cinco dias, evitando a lixiviação do inóculo. Após
225 esse período, as plantas foram retiradas dos copos plásticos e transplantadas para sacos
226 de muda, com capacidade para 5L de substrato, onde permaneceram até o momento de
227 avaliação.

228 O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em
229 esquema fatorial com duas combinações de nematoides (*P. zae* + *M. incognita* e *P.*
230 *zae* + *M. enterolobii*) e duas variedades (RB867515 e RB92579) com cinco repetições,
231 totalizando um estande experimental com 20 plantas. A avaliação foi feita 100 dias
232 após a inoculação.

233 Aos 100 dias da inoculação, retirou-se as raízes do solo e procedeu-se a lavagem
234 em água. Essas raízes foram trituradas em liquidificador contendo apenas água e
235 centrifugadas em solução de sacarose segundo metodologia proposta por Jenkins
236 (1964). A suspensão foi quantificada em lâmina de Peters sob microscópio óptico. Os
237 parâmetros avaliados em relação à planta foram peso de biomassa fresca, seca e raiz e
238 altura de plantas, e em relação aos nematoides foram a população de juvenis das
239 espécies de *Meloidogyne* e de juvenis e adultos de *P. zae* nas raízes de cana-de-açúcar.

240 Análise Estatística

241 Os dados foram analisados quanto normalidade e homogeneidade de variância e
242 transformados para $\log(x+1)$ e para $(\sqrt{x}+1)$ para análise de variâncias (ANOVA). Os
243 dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) utilizando-se o programa
244 Statistica 8. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
245 Os dados apresentados na tabela são os dados não transformados.

246

247 RESULTADOS

248 EXPERIMENTO 1

249 Reprodução de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* em infestação única

250 A espécie *M. enterolobii* apresentou as menores médias de densidade
251 populacional quando inoculada em cana-de-açúcar, mantendo uma estabilidade
252 reprodutiva baixa independente das densidades de inóculo inicial ($p > 0,05$), enquanto o
253 nível populacional de *M. incognita* aumentou de forma proporcional ao inóculo inicial,
254 alcançando altos valores de fator de reprodução com o inóculo de 10000 ovos e
255 J_2 /planta, e uma redução populacional com o inóculo de 20000 ovos e J_2 /planta (Tabela
256 1).

257 Quando comparadas as densidades de inóculo inicial de *M. incognita* na
258 variedade RB867515, pode-se observar diferença estatística entre elas. Na densidade
259 inicial de 10000 ovos e J_2 /planta, o nematoide apresentou o maior nível populacional,
260 evidenciado pelo fator de reprodução ($FR=120,95$). Enquanto que na variedade
261 RB92579, não houve diferença entre as densidades populacionais utilizadas, somente
262 diferindo em relação à testemunha sem inoculação (Tabela 1).

263 Observou-se que as plantas submetidas a uma densidade de inóculo de 20000
264 ovos e J_2 , apresentaram um decréscimo na população de *M. incognita*, quando
265 comparados proporcionalmente com as demais densidades.

266 Com relação a multiplicação de *M. incognita* nas duas variedades estudadas,
267 observa-se que ambas se apresentaram como hospedeiras, embora tenha havido
268 diferença na multiplicação do nematoide entre as variedades nas diferentes densidades
269 de inóculo testadas (Tabela 1). Comparando as duas variedades, notou-se diferença
270 significativa ($p < 0,05$) quando as plantas foram inoculadas com 5000 e 10000 ovos e
271 J_2 /planta, obtendo maior multiplicação de *M. incognita* na variedade RB92579 com

272 inóculo inicial de 5000 ovos e J_2 /planta, enquanto que em inóculo inicial de 10000 ovos
273 e J_2 /planta a maior multiplicação foi observada na variedade RB867515. Quando
274 inoculadas com 20000 ovos e J_2 /planta, ambas não diferiram estatisticamente.

275 Os valores de fator de reprodução apresentados para *M. enterolobii* mostraram a
276 dificuldade que este nematoide tem em parasitar a cana-de-açúcar, que, neste caso, se
277 apresenta como uma planta má-hospedeira. Apesar de alguns indivíduos terem
278 concluído seu ciclo de vida, 120 dias foram insuficientes para que esse nematoide
279 alcançasse um nível populacional que se tornasse danoso à cana-de-açúcar.

280

281 EXPERIMENTO 2

282 Reprodução de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* em infestação mista
283 com *Pratylenchus zaeae*.

284 Em infestações mistas com *P. zaeae*, *M. incognita* e *M. enterolobii* se
285 comportaram de modos diferentes. Houve um decréscimo na população final de *M.*
286 *incognita* e um leve aumento populacional de *M. enterolobii* (Tabela 2). A população
287 final das espécies permaneceu indiferente às concentrações crescentes de inóculo
288 ($p > 0,05$), diferindo apenas do controle.

289 Observando o fator de reprodução de *M. incognita* em presença de *P. zaeae* na
290 variedade RB867515, notou-se que *M. incognita* manteve um padrão de crescimento
291 populacional diretamente proporcional ao aumento de inóculo inicial, nas duas
292 primeiras densidades (5000 e 10000 ovos e J_2 /planta) e um decréscimo na densidade de
293 20000 ovos e J_2 /planta. Já na variedade RB92579, o fator de reprodução foi
294 inversamente proporcional a adição de inóculo.

295 *Meloidogyne enterolobii* em presença de *P. zaeae*, teve um aumento populacional
296 na densidade de 5000 ovos e J_2 /plantas, nas duas variedades de cana-de-açúcar, seguida

297 de decréscimo nas outras duas densidades de inóculo. *Meloidogyne enterolobii* em
298 associação com *P. zae* apresentou um aumento populacional, refletindo em um fator de
299 reprodução mais alto ($FR > 1$).

300 Comparando-se o desenvolvimento das espécies de *M. enterolobii* nas duas
301 variedades de cana-de-açúcar estudadas, notou-se que, na presença de *P. zae*, *M.*
302 *enterolobii* teve maior taxa reprodutiva na variedade RB867515, mesmo havendo
303 decréscimo dessa taxa com o aumento do inóculo inicial.

304

305 EXPERIMENTO 3

306 Desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar: biomassa fresca e seca de parte aérea e peso 307 de raiz

308 *Meloidogyne incognita*, combinado com *P. zae*, afetou significativamente a
309 biomassa fresca da parte aérea nas duas variedades utilizadas nesse estudo (Tabela 3),
310 diferindo apenas do controle sem a inoculação deste nematoide. Já a associação *M.*
311 *enterolobii* + *P. zae* não causou redução significativa ($p < 0,05$) na biomassa fresca de
312 parte aérea quando comparado aos demais tratamentos. Salienta-se o fato de estas
313 plantas já estarem naturalmente infectadas com *P. zae*. E, mesmo sob uma infecção
314 mista somente a combinação *P. zae* e *M. incognita* causaram decréscimo na biomassa
315 fresca da parte aérea, fato que não é observado na combinação *P. zae* e *M. enterolobii*.

316 Ainda na Tabela 3, pode-se observar que *M. incognita* em infecção mista
317 reduziu, significativamente, o peso da matéria seca da parte aérea nas duas variedades
318 estudadas, confirmando os resultados obtidos na matéria fresca, mostrando ser esta
319 combinação de nematoides a mais danosa para cana-de-açúcar, e *M. incognita* o mais
320 agressivo as duas espécies de *Meloidogyne* usadas no trabalho.

321 Na variedade RB92579, *M. enterolobii*, em infecção mista, não causou reduções
322 significativas de peso de matéria seca de parte aérea (Tabela 3). Contudo, na variedade

323 RB867515 esse nematoide causou redução significativa ($p < 0,05$) não sendo menor
324 apenas àquela causada por *M. incognita*. Nem *M. enterolobii*, nem tampouco *M.*
325 *incognita*, em infecção mista, afetaram a altura e o peso fresco das raízes ($p > 0,05$)
326 (Tabela 3).

327 A reprodução das espécies de *Meloidogyne* é suprimida em presença de *P. zae*
328 (Tabela 4). A população final tanto de *M. incognita* quanto *M. enterolobii* não foi alta
329 na presença de *P. zae*. A população final de *M. enterolobii* e de *P. zae*., na variedade
330 RB92579, sofreu uma redução. Enquanto que na variedade RB867515, ambas tiveram
331 um aumento populacional.

332 A densidade populacional de *M. incognita* na variedade RB92579 foi
333 significativamente maior quando comparada a densidade populacional alcançada na
334 variedade RB867515. Fato que se repete com a espécie *P. zae*, o que pode demonstrar
335 a competição desses dois nematoides pelo mesmo sítio de alimentação, tendo como
336 resultado dessa competição uma supressão mútua destes nematoides (Tabela 4).

337

338 DISCUSSÃO

339 Um inóculo inicial de 20000 ovos e J_2 /planta de *M. incognita*, pode ser
340 caracterizado como muito alto, levando a uma competição intraespecífica, diminuindo
341 consideravelmente a densidade populacional final e, conseqüentemente, os fatores de
342 reprodução (FR) (Tabela 1). A melhor adaptabilidade de *M. incognita* à variedade
343 RB867515 é devido também à extensa utilização dessa variedade em todo o Brasil,
344 além das boas características agrônômicas apresentadas, bem como resistência a
345 ambientes de alta radiação e falta de água, embora seja suscetível a *Meloidogyne* spp.
346 Estes resultados corroboram com experimentos que afirmam que esta variedade se

347 apresenta como boa hospedeira deste nematoide (GUIMARÃES, 2008; CHAVES et al.,
348 2009; SILVA et al., 2012; BARBOSA, 2013).

349 Alguns trabalhos relatam a dificuldade que *M. enterolobii* apresenta para
350 reproduzir-se em cana-de-açúcar (SILVA et al., 2012; BARBOSA, 2013; PEREIRA,
351 2014). Na tabela 1 os valores apresentados do fator de reprodução confirmam a
352 dificuldade desta espécie em parasitar cana-de-açúcar, mesmo após 120 dias em contato
353 com a planta. Niño (2008) afirma que o tempo de exposição da planta ao nematoide
354 influencia a resposta destas ao parasitismo. Com isso, pode-se afirmar que 120 dias não
355 foram suficientes para que o ciclo de vida de todos os nematoides se completasse
356 diferente de *M. incognita* que completou seu ciclo e multiplicou-se normalmente
357 (Tabela 1).

358 Segundo Boerma e Hussey (1992) o alongamento do ciclo do nematoide pode
359 constituir um mecanismo de resistência da planta ao nematoide. Outro aspecto a se
360 considerar é que a espécie *M. enterolobii* utilizada neste trabalho é oriunda de cultivos
361 de goiabeira e não de cana-de-açúcar como a espécie *M. incognita*. Embora haja relatos
362 de que *M. enterolobii* já tenha sido encontrado por Moura et al. (2009) e Bellé et al.
363 (2015) em campos cultivados de cana-de-açúcar nos estados de Pernambuco e Rio
364 Grande do Sul, respectivamente.

365 A origem da população do nematoide é muito importante porque reflete a
366 especificidade do nematoide com uma planta hospedeira (CHRISTIE, 1959). Na
367 tentativa de encontrar outros hospedeiros para *M. exigua*, Lordello (1964) testou 11
368 espécies botânicas além do cafeeiro, e observou que mesmo que algumas poucas
369 espécies apresentassem pequenas galhas, não exibiam fêmeas, sugerindo a morte
370 prematura dos J2 e a incapacidade desta espécie em parasitar outras plantas que não
371 cafeeiro.

372 A diminuição populacional de *M. incognita* em presença de *P. zae* demonstra
373 uma competição entre os nematoides pela penetração nas raízes e pelo sítio de
374 alimentação (PANG et al., 2009). Além disso, sob alta infecção a resposta bioquímica
375 de uma planta muito estressada pode ser deletéria ao nematoide (LO et al., 1996;
376 GARCION et al., 2007).

377 Em infecções conjuntas, em variedade suscetível, ambas as populações se
378 suprimem devido a diminuição e competição por sítios de alimentação interespecífico
379 (PANG et al., 2009), e isso se reforça pelos hábitos alimentares destas duas espécies de
380 nematoides, *P. zae* é um endoparasita migrador e *M. incognita* um endoparasita
381 sedentário. Enquanto *P. zae* tem rápida penetração e movimentação dentro dos tecidos
382 de forma intracelular, *M. incognita*, um nematoide sedentário após todas as ecdises, é
383 um parasita altamente especializado e frequentemente tem um efeito sistêmico sobre a
384 alimentação de outros nematoides na mesma raiz (ESTORES; CHEN, 1972).

385 Com o expressivo aumento populacional de *M. enterolobii* em presença de *P.*
386 *zae*, especula-se a necessidade de *M. enterolobii* sofrer estímulo adicional à
387 penetração. E mesmo com esse estímulo, 120 dias após a inoculação, o fator de
388 reprodução baixo mostra o atraso e dificuldade no desenvolvimento desse nematoide.

389 A presença de populações mistas em campo cultivados com cana-de-açúcar em
390 todo o território brasileiro, em especial no estado de Pernambuco, apresentam frequente
391 predominância de *P. zae* em relação as espécies de *Meloidogyne*. Fato já mencionado
392 por Chaves et al., (2009), que observaram *P. zae* em elevada densidade populacional
393 na maioria das variedades estudadas no Litoral Norte de Pernambuco. *Pratylenchus*
394 *zae* e *M. incognita* também foram relatados como mais frequentes em levantamentos
395 realizados em canaviais em Alagoas e no Rio Grande do Sul, de amostragem de solo e
396 raízes (BELLÉ et al., 2014; NORONHA et al., 2017).

397 A infecção combinada de endoparasitas migradores e sedentários normalmente é
398 aditiva, embora nem sempre resulte em danos maiores à planta comparadas às infecções
399 únicas (HERMAN et al., 1988). A característica de má hospedeira da cana-de-açúcar a
400 *M. enterolobii* somada à competição por sítios de alimentação com *Pratylenchus*, não
401 permitiu a *M. enterolobii* um bom desenvolvimento nem tampouco a potencialização de
402 suas características danosas.

403 Dinardo-Miranda (2005) já havia observado o comportamento agressivo de *M.*
404 *incognita* estudando essa espécie e *M. javanica*. Esse autor relatou níveis de perda que
405 chegam a 50% somente causados por *M. incognita*, enquanto que para *M. javanica* os
406 níveis de danos não ultrapassam 20%.

407 A redução da biomassa seca causada pelo parasitismo dos nematoides nas
408 variedades de cana-de-açúcar explica-se pelo acúmulo maior de água nos tecidos aéreos
409 de uma planta infectada como consequência do parasitismo com *Meloidogyne* sp.
410 (VIGLIERCHIO, 1979).

411 Parâmetros como a altura da planta e o peso do sistema radicular podem ser um
412 indicativo de que mesmo parasitadas por fitonematoides as plantas ainda conseguiram
413 se desenvolver (Silva, 2015). O que aponta para uma resposta de tolerância destas
414 plantas ao parasitismo dos fitonematoides. Os resultados obtidos nesse experimento
415 podem apontar para uma resposta de tolerância inicial das variedades de cana-de-açúcar
416 ao parasitismo desses nematoides.

417 O aumento populacional observado em *M. enterolobii* na variedade RB867515
418 pode ter sido devido à prévia infecção por *P. zaeae*. Tanto pelo estresse causado à planta
419 (SHURTLEFF; AVERRE III, 2000; DUTRA; CAMPOS, 2000), como pela atração que
420 a área penetrada impõe a outros nematoides, agregando-os ao redor da área lesionada
421 (ZUNKE, 1990).

422 Há estudos que defendem que o efeito inibitório de *Meloidogyne* sp. sobre *P.*
423 *zeae* vai além de simples competição pelo sítio de alimentação. Em um experimento,
424 Estores e Chen (1972) dividiram longitudinalmente as raízes de um tomateiro e
425 plantaram em dois copos, sendo uma metade da raiz infectada com *M. incognita* e a
426 outra com *P. penetrans*, 10 dias depois. Os autores observaram baixa reprodução de *P.*
427 *penetrans* quando a outra metade da raiz era inoculada com *M. incognita*. Herman et al.
428 (1988) em mesmo experimento utilizando soja, obtiveram resultados iguais quando
429 inocularam *M. incognita* em uma metade da raiz e *P. brachyurus* em outra. Tais
430 resultados indicam haver uma substância deletéria secretada pela planta sob infecção
431 por *M. incognita* translocável para as outras raízes que não apresentam infecção por *M.*
432 *incognita* (VIGLIERCHIO; YU, 1968; BALASUBRAMANIAN; RANGASWAMI,
433 1962).

434 *Pratylenchus zae* e *M. incognita* são nematoides que coabitam solos dos
435 canaviais brasileiros (MOURA et al., 2000). Enquanto *M. incognita* é considerado o
436 nematoide mais agressivo, *P. zae* é considerado o mais comum (DINARDO-
437 MIRANDA, 2005). Inclusive, alguns autores abordam a dificuldade de se desenvolver
438 uma variedade de cana-de-açúcar resistente devido a infestação mista em campos de
439 cultivo de cana-de-açúcar (CHAVES et al., 2009; MACEDO et al., 2009). Por ser
440 comum a infestação concomitante dos canaviais com diferentes espécies, acredita-se
441 que estes nematoides, em algumas situações, infectem e se alimentem da mesma planta.
442 A competição ocorre devido às diferentes formas de parasitismo destes dois nematoides.
443 *Meloidogyne incognita*, um endoparasita sedentário, que altera um grupo de células
444 nutridoras com função de manter todo o período reprodutivo da fêmea e *P. zae*, um
445 endoparasita migrador, que no seu percurso dentro da raiz causa o rompimento de
446 células. As diferentes formas de alimentação destes dois nematoides inviabiliza o

447 parasitismo de ambos na mesma raiz, ou seja, a parte do sistema radicular em que um
448 está presente o outro não consegue habitar (ESTORES; CHEN, 1972).

449 O nematoide que é beneficiado com a melhor oportunidade de parasitismo pode
450 melhor expressar seu potencial danoso (HASEEB; SHUKLA, 2000). Num estudo com
451 *P. thornei* e *M. incognita* parasitando menta, quando *P. thornei* era inoculado primeiro
452 seu habito migratório com rápida penetração deixava poucos sítios de alimentação
453 disponíveis para uma subsequente infecção por *M. incognita*, e quando se inoculava *M.*
454 *incognita* primeiro, as alterações fisiológicas que este causava na planta tornavam-na
455 menos suscetível ao parasitismo por *P. thornei* (HASEEB; SHUKLA, 2000).
456 Resultados que corroboram com o do presente trabalho. As variedades de cana-de-
457 açúcar utilizadas foram naturalmente infectadas com *P. zaeae* e após algumas semanas,
458 foram inoculadas ou com *M. incognita* ou com *M. enterolobii*, esse tempo até a
459 inoculação de outro nematoide, pode ter permitido a *P. zaeae* uma vantagem sobre
460 *Meloidogyne* no que diz respeito ao parasitismo.

461 Os resultados deste trabalho trazem novas evidências do potencial de
462 parasitismo em infecções mistas e se somam à pouca literatura existente sobre o
463 assunto. Os resultados aqui apresentados reforçam a naturalidade da interação entre
464 várias espécies em campos de produção. E mostra que mesmo coabitando, esses
465 nematoides podem se suprimir ou facilitar a infecção de espécies não adaptadas
466 mutuamente. Outros trabalhos poderão ser desenvolvidos futuramente na tentativa de
467 elucidar os mecanismos que levam a diferentes respostas dessa interação e mesmo as
468 modificações na planta.

469

470 CONCLUSÕES

471 Pelos resultados pode-se concluir que *M. incognita* e *P. zae* juntos, suprimem
472 um ao outro. Por outro lado, quando em presença de *P. zae*, *M. enterolobii* tem uma
473 vantagem no parasitismo sobre a cana-de-açúcar. Houve, também, um aumento na
474 densidade populacional de *M. incognita* quando na variedade RB867515 e inóculo
475 inicial de 10000 nematoides/planta. A biomassa da parte aérea é reduzida pela infecção
476 conjunta de *P. zae* e *M. incognita*. Os 120 dias de infecção das plantas com *M.*
477 *enterolobii*, não foram suficientes para completar o ciclo de vida deste nematoide.

478

479

480 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

481

482 Al-Rehiyani, S. S. L.; Hafez, M. T., and Sundararaj, P. 1999. Effects of *Pratylenchus*
483 *neglectus*, *Bacillus megaterium* and oil radish or rapeseed green manure on productive
484 potential of *Meloidogyne chitwoodi* on potato. *Nematropica* 29:37-49.

485

486 Amosu, J. O., and Taylor, D. P. 1975. Interaction of *Meloidogyne hapla*, *Pratylenchus*
487 *penetrans* and *Tylenchorryncus agri* on Kenland red clover, *Trifolium pratense*. *Indian*
488 *Journal of Nematology New Delhi* 4:124-131.

489

490 Balasubramanian, M., and Rangaswami, G. 1962. Presence of índole compound in
491 nematode galls. *Nature* 194(4830):774-775.

492

493 BARBOSA, N. M. R. 2013. Reprodução e distribuição de nematoides do gênero
494 *Meloidogyne* em canaviais de Pernambuco e Paraíba. 2013. 62f. Dissertação (Mestrado
495 em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

496

497 Bellé, C.; Gomes, C. B.; Lima-Medina, L; Rosa, J. B.; Pacheco, D. R.; Casa-Coila, V.
498 H., e Silva, S. D. A. 2015. Diversidade de espécies de *Meloidogyne* em cana-de-açúcar
499 no litoral norte do Rio Grande do Sul, p. 73 in: XXX CONGRESSO BRASILEIRO DE
500 NEMATOLOGIA, 32, 2015, Londrina. Anais. Paraná: Congresso Brasileiro de
501 Nematologia.

502

- 503 Bellé, C.; Kulczynski, S. M.; Gomes, C. B.; Kuhn, P. R. 2014. Fitonematoides
504 associados à cultura da cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul, Brasil.
505 *Nematropica*44(2):207-217.
506
- 507 Boerma, H. R., and Hussey, R. S. 1992. Breeding plants for resistance to nematodes.
508 *Journal of Nematology*24(2):242-252.
509
- 510 Bonetti, J.I.S.; Ferraz, S. 1981. Modificações do método de Hussey & Barker para
511 extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*
512 6:553.
513
- 514 Cadet, P., and Spaul, V. W. 2005. Nematode parasites of sugarcane. Pp. 645- 674 in M.
515 Luc, R. A. Sikora, and J. Bridge, ed. *Plant parasitic nematodes in subtropical and*
516 *tropical agriculture*. Wallingford, UK: C.A.B. International Institute of Parasitology.
517
- 518 Carneiro, R. M. D. G., e Almeida, M. R. A. 2001. Técnica de eletroforese usada no
519 estudo de enzimas dos nematoides das galhas para identificação de espécies.
520 *Nematologia Brasileira* 25:35-44.
521
- 522 Castillo, P.; Vovlas, N. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis,
523 biology, pathogenicity and management. *Nematology monographs and perspectives*.
524 Leiden-Boston: Brill Academic Publishers, 529p.
525

- 526 Chaves, A.; Maranhão, S. R.; Pedrosa, E. M.; Guimarães, L. M., e Oliveira, M. K. D. S.
527 2009b. Incidência de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus zea* em cana-de-açúcar no
528 estado de Pernambuco, Brasil. *Nematologia Brasileira* 33(4):278-280.
529
- 530 Chaves, A.; Pedrosa, E. M. R.; Pimentel, R. M. M.; Coelho, R. S. B; Guimarães, L. M.
531 P., e Maranhão, S. R. V. L. 2009a. Resistance induction to *Meloidogyne incognita* in
532 sugarcane through mineral organic fertilizers. *Brazilian Archives of Biology and*
533 *Technology* 52(6):1393-1400.
534
- 535 Christie, J. R. 1959. *Plant nematodes: their bionomics and control*. Gainesville,
536 University of Florida, 256 pp.
537
- 538 Dinardo-Miranda, L. L. 2005. Manejo de nematoides em cana-de-açúcar. *Tecnologia*
539 *Agrícola: Jornal Cana*, 07: 64-69.
540
- 541 Dinardo-Miranda, L. L. 2008. Nematoides. Pp. 405-422 in: L. L. Dinardo-Miranda, A.
542 C. M. Vasconcelos, e M. G. A. Landell, ed. *Cana-de-açúcar*. Campinas: Instituto
543 Agronômico.
544
- 545 Dinardo-Miranda, L. L. 1999. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo
546 de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. *Nematologia Brasileira*. 23:76-83.
547
- 548 Dutra, M. R., e Campos, V. P. 2000. Patogenicidade de nematoide em cafeeiros
549 submetidos a estresse, p. 107 in: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE

- 550 NEMATOLOGIA, 22, 2000, Uberlândia. Anais. Minas Gerais: Sociedade Brasileira de
551 Nematologia.
- 552
- 553 Estores, R. A., e Chen, T. A. 1972. Interactions of *Pratylenchus penetrans* and
554 *Meloidogyne incognita* as coinhabitants in tomato. *Journal of Nematology* 4:170-174.
- 555
- 556 Ferraz, L. C. C. B. 1995. Interações entre *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne*
557 *javanica* em soja. *Scientia Agricola* 52:305-309.
- 558
- 559 Ferraz, L. C. C. B., e Lordello, L. G. E. 1982. Suscetibilidade e danos a espécie de
560 *Eucalyptus* e *Pinus* por nematoides das galhas no Estado de São Paulo. *Revista de*
561 *Agricultura* 57:67-75.
- 562
- 563 Garcia, V.; Silva, S. F., e Dinardo-Miranda, L. L. 1997. Comportamento de variedades
564 de cana-de-açúcar em relação à *Meloidogyne incognita*. *Revista Nacional do Alcool e*
565 *Açúcar* 17:14-19.
- 566
- 567 Garcion, C.; Lamotte, O., e Métraux, J. P. 2007. Mechanisms of defence to pathogens:
568 biochemistry and physiology. Pp. 109-132 in D. Walters, A. Newton, G. Lyon,
569 (Eds.). *Induced resistance for plant defence - a sustainable approach to crop*
570 *protection*. Oxford, Blackwell.
- 571
- 572 Guimarães, L. M. P., Pedrosa, E. M. R., Coelho, R. S. B., Chaves, A., Maranhão, S. R.
573 V. L., e Miranda, T. L. 2008. Efeito do metil jasmotato e silicato de potássio no

- 574 parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar.
575 Nematologia Brasileira. 32:50-55.
576
- 577 Haseeb, A., e Shukla, K. 2000. Effect of *Pratylenchus thornei* and *Meloidogyne*
578 *incognita*, alone and in combinations, on the growth and oil yield of
579 *Mentha arvensis*. Nematologia Mediterranea 28(2):151-155.
580
- 581 Herman, M.; Hussey, R. S., e Boerma, H. R. 1988. Interactions between *Meloidogyne*
582 *incognita* and *Pratylenchus brachyurus* on soybean. Journal of Nematology 20:79-84.
583
- 584 Hussey, R. S.; Barker, K. R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of
585 *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reporter 57(12):1025-1028.
586
- 587 Jenkis, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes
588 from soil. Plant Disease Reporter 48:692.
589
- 590 Johnson, A. W., e Nusbaum, C. J. 1970. Interactions between *Meloidogyne incognita*,
591 *M. hapla* and *Pratylenchus brachyurus* in Tobacco. Journal of Nematology 2:334-340.
592
- 593 Lo, L. C.; Weiergang, I.; Bonham, C.; Hipsking, J.; Wood, K., e Nicholson, R. L. 1996.
594 Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin.
595 Physiological and Molecular Plant Pathology 49(1) 21-31.
596

- 597 Lordello, L. G. E. 1964. Contribuição ao conhecimento dos nematoides que causam
598 galhas em raízes de plantas em São Paulo e Estados vizinhos. Anais da E.S.A. Luiz de
599 Queiroz, 21:181-218.
600
- 601 Macedo, N.; Macedo, D.; Campos, M.; Novaretti, W. R. T., e Ferraz, L. C. C. B. 2009.
602 Manejo de pragas e nematoides. Pp. 119-159 in F. Santos, A. Borém, C. Caldas, (Eds.).
603 2 ed. Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool - tecnologias e perspectivas. Viçosa,
604 MG: Editora UFV.
605
- 606 Moura, R. M.; Almeida, R. M. A.; Costa, M.; Lima, S. T. S., e Carneiro, R. M. D. G.
607 2009. *Meloidogyne* species detected in sugarcane fields in the State of Pernambuco,
608 Brazil, p. 24 in: II INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY
609 (40th ONTA), 28, 2009, Maceió. Anais Maceió: Universidade Federal de Alagoas.
610
- 611 Moura, R. M., Pedrosa, E. M. R., Maranhão, S. R. V. L., Macedo, M. E. A., Moura, A.
612 M., Silva, E. G., e Lima, R. F. 2000. Ocorrência dos fitonematoides *Pratylenchus zaeae* e
613 *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. Fitopatologia Brasileira,
614 5:101-103.
615
- 616 Niño, N. E.; Arbeláez, G., e Navarro, R. 2008. Efecto de diferentes densidades
617 poblacionales de *Meloidogyne hapla* sobre uchuva (*Physalis peruviana* L.)
618 en invernadero. Agronomía Colombiana 26(1)58-67.
619
- 620 Noronha, M. A.; Muniz, M. F. S.; Cruz, M. M.; Assunção, M. C.; Castro, J. M. C.;
621 Oliveira, E. R. L.; Miranda, C. G. S.; Machado, A. C. Z. 2017. *Meloidogyne* and

- 622 *Pratylenchus* species in sugarcane fields in the state of Alagoas, Brazil. *Ciência Rural*
623 47(2):1-3.
624
- 625 Pang, W.; Hafez, S. L., e Sundararaj, P. 2009. Concomitant interaction of *Pratylenchus*
626 penetrans and *Meloidogyne hapla* on onion. *Nematropica*, Bradenton 39:297-303.
627
- 628 Pereira, B. C. C. B. 2014. Relações entre *Meloidogyne incognita* e
629 *Meloidogyne enterolobii* em cana-de-açúcar e goiabeira. 2014. 76f. Tese (Doutorado em
630 Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- 631 Shurtleff, M. C., and Averre III, C. W. 2000. Diagnosing plant diseases caused by
632 nematodes. St. Paul, APS Press: The American Society, 187 pp.
633
- 634 Silva, A. P.; Pedrosa, E. M. R.; Chaves, A.; Maranhão, S. R. V. L.; Guimarães, L. M.
635 P., e Rolim, M. M. 2012. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de
636 *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii*. *Suplemento da Revista Brasileira de Ciências*
637 *Agrárias* 7:814-819.
638
- 639 Silva, M. S. 2015. Comportamento de genótipos RB de cana-de-açúcar a nematoides
640 das galhas e avaliação dos mecanismos de resistência envolvidos. 2015. 61f. Tese
641 (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
642
- 643 Steven, A.; Sunday, S.; Fisayo, D. Biodiversity of plant-parasitic nematodes of
644 sugarcane in Bacita, Nigeria. **Journal of Entomology and Nematology**, v. 6, n. 6, p.
645 71-79, 2014.
646

- 647 Sujatha, K., and Mehta, U. K. 1997. Relative pathogenicity of *Pratylenchus zae* and
648 *Meloidogyne javanica* on sugarcane crop. International Journal of Nematology 7: 221-
649 224.
- 650
- 651 Turner, D. R., and Chapman, R. A. 1972. Infection of seedlings of alfalfa and red
652 clover by concomitant populations of *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus*
653 *penetrans*. Journal of Nematology 4: 280-286.
- 654
- 655 Viglierchio, D. R. 1979. Response of *Pinus ponderosa* seedlings to stylet-bearing
656 nematodes. Journal of Nematology 11(4): 377-387.
- 657
- 658 Viglierchio, D. R., and Yu, P. K. 1968. Plant growth substances and parasitic
659 nematodes. Host influence on auxin content. Experimental Parasitology 23(1):88-95.
- 660
- 661 Zunke, U. 1990. Observations on the invasion and endoparasitic behavior of the root
662 lesion nematode *Pratylenchus penetrans*. Journal of Nematology 22(3):309-320.

663 TABELA 1. Densidade populacional e Fator de reprodução de *M. incognita* e *M.*
 664 *enterolobii* 120 dias após a inoculação.

População inicial	<i>M. incognita</i>			
	RB 867515		RB 92579	
	Pf	FR	Pf	FR
0	0cA	0	0bA	0
5000	29200 bB	5,84	103860 aA	20,77
10000	1209480 aA	120,94	371400 aB	37,14
20000	54860 bA	2,74	85410 aA	4,27
CV%	8,09	36,40	18,43	42,42
População inicial	<i>M. enterolobii</i>			
	RB 867515		RB92579	
	Pf ^{ns}	FR	Pf ^{ns}	FR
0	0	0	0	0
5000	512	0,10	300	0,06
10000	192	0,01	600	0,06
20000	488	0,02	550	0,02
CV%	84,07	233,89	83,03	114,02

665 Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste
 666 de Tukey a 5% de probabilidade.

667 Apresentadas médias originais de uma análise com dados transformados para $\log(x+1)$ e $(\sqrt{x}+0,5)$.

668 ns – não significativo

669 Pf = população final

670 Fator de Reprodução: $Pf(\text{população final})/Pi(\text{população inicial})$.

671 TABELA 2. Densidade populacional e Fator de reprodução de *M. incognita* e *M.*
 672 *enterolobii* 120 dias após a infestação mista com *P. zea*.

População		<i>P. zea</i> + <i>M. incognita</i>			
inicial	RB 867515		RB 92579		
	Pf	FR	Pf	FR	
0	0 b	0	0 b	0	
5000	13400 a	2,68	34500 a	6,90	
10000	34860 a	3,48	27200 a	2,72	
20000	11836 a	0,59	27850 a	1,39	
CV%	14,42	90	58,09	73,58	
População		<i>P. zea</i> + <i>M. enterolobii</i>			
inicial	RB 867515		RB92579		
	Pf	FR	Pf	FR	
0	0 b	0	0 b	0	
5000	26200 a	5,24	8570 a	1,71	
10000	13000 a	1,30	9500 a	0,95	
20000	33120 a	1,65	11832 a	0,59	
CV%	18,89	85,55	17,67	7427	

673 Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de
 674 probabilidade.

675 Apresentadas médias originais de uma análise com dados transformados para $\log(x+1)$ e $(\sqrt{x}+0,5)$.

676 Pf = população final

677 Fator de Reprodução: $Pf(\text{população final})/Pi(\text{população inicial})$.

678 TABELA 3. Peso de parte aérea e raiz de variedades RB de cana-de-açúcar inoculadas
 679 com *M. incognita* e *M. enterolobii* e naturalmente infectadas com *Pratylenchus*.

Tratamentos		Biomassa fresca de parte aérea (g)	Biomassa seca de parte aérea (g)	Altura (cm)	Peso raiz (g)
RB 92579	<i>M. enterolobii</i>	167,14 ab	32,42 ab	174,4 ^{ns}	59,47 ^{ns}
	<i>M. incognita</i>	135,06 b	25,36 b	186,6 ^{ns}	57,73 ^{ns}
	Controle	198,38 a	37,61 a	181,6 ^{ns}	55,00 ^{ns}
CV%		15,189	16,246	10,34	16,3
RB 867515	<i>M. enterolobii</i>	181,37 ab	32,15 b	194,75 ^{ns}	70,28 ^{ns}
	<i>M. incognita</i>	160,18 b	29,88 b	191,80 ^{ns}	61,16 ^{ns}
	Controle	221,30 a	44,65 a	217,80 ^{ns}	62,12 ^{ns}
CV%		17,40	10,78	10,65	24,68

680 Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de
 681 probabilidade.

682 Comparação de médias feita dentro de cada variedade

683 ns – não significativo

684

685 TABELA 4. População final e fator de reprodução de *P. zaeae* e *Meloidogyne* sp.em
 686 variedades RB de cana-de-açúcar, 100 dias após a inoculação com *M. incognita* e *M.*
 687 *enterolobii*.

Nematoide	Variedade	População Final total/planta	
		<i>Pratylenchus</i>	<i>Meloidogyne</i>
<i>M. enterolobii</i>	RB92579	9834 b	54 b
	RB867515	39825 a	1500 a
<i>M. incognita</i>	RB92579	65620 a	1480 a
	RB867515	4580 b	75 b
CV%		24,50	30,67

688 Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

689 Apresentados dados originais de uma análise com dados transformados em $(\sqrt{x+1})$ para *Pratylenchus* e

690 $\log(x+1)$ para *Meloidogyne*.

691 Pi – população inicial(2000 ovos e J₂/planta).

CAPÍTULO III

PRIMEIRO REGISTRO NO BRASIL DE *Aphelenchoides* sp. EM RAÍZES DE CANA-
DE-AÇÚCAR

1 **FIRST REPORT OF *Aphelenchoides* sp. IN SUGARCANE ROOTS IN BRAZIL**

2

3

4 **Raycenne Rosa Leite • Ana Cristina Menezes Mendes Gomes • Juvenil Enrique Cares • Márcio**

5 **Fernandes Alves Leite • Elvira Maria Regis Pedrosa • Lilian Margarete Paes Guimarães***

6

7

8 R. R. Leite • L. M. P. Guimarães*

9 Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP: 52171-900, Recife, PE,

10 Brazil. *Phone: +55 81 33206212. E-mail: lilianmguimaraes@gmail.com

11

12 E. M. R. Pedrosa

13 Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP: 52171-900,

14 Recife, PE, Brasil.

15

16 A. C. M. M. Gomes

17 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – EMBRAPA CENARGEN, CEP: 70770-200, Brasília,

18 DF, Brazil.

19

20 J. E. Cares

21 Departamento de Fitopatologia, Instituto Biológico, Universidade de Brasília – Campus Darcy Ribeiro,

22 CEP: 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

23

24 M. F. A. Leite

25 Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, CEP: 65054-970,

26 São Luís, MA, Brazil.

27

28 RESUMO

29 Leite, R. R.; A. C. M. M. Gomes; J. E. Cares; M. F. A. Leite; E. M. R., Pedrosa; L. M. P., Guimarães.
30 2017. Primeiro registro *Aphelenchoides* sp. em raízes de cana-de-açúcar no Brasil.

31 O gênero *Aphelenchoides* é conhecido como nematoide de parte aérea. Entretanto, alguns
32 trabalhos relatam esse nematoide associado a rizosfera de algumas plantas, inclusive em relação
33 ectoparasítica. Este trabalho registra a presença de *Aphelenchoides* sp. em raízes de cana-de-açúcar.
34 Plantas de cana-de-açúcar foram inoculadas com 10000 ovos/planta com um inóculo advindo de cultivo
35 experimental de alface. Dez dias após a inoculação as raízes de cana-de-açúcar foram coletadas, coradas e
36 dissecadas. Em microscópio óptico foi possível a visualização de características morfológicas típicas do
37 gênero que permitiram a identificação do nematoide. Por meio de cortes histológicos, o nematoide foi
38 observado dentro do córtex radicular da cana-de-açúcar, em típico movimento serpentiforme. Hifas
39 fúngicas foram observadas dentro das células, próximas ao corpo do nematoide. Danos internos foram
40 constatados devido à destruição da parede celular por onde o nematoide se movimentou. Porém, sintomas
41 primários ou reflexos da infecção pelo nematoide nas raízes e na parte aérea das plantas, não foram
42 constatados.

43

44 Palavras-chaves: nematoide foliar, histopatologia, morfologia, *Saccharum* spp.

45

46 ABSTRACT

47 Leite, R. R.; A. C. M. M. Gomes; J. E. Cares; M. F. A. Leite; E. M. R., Pedrosa; L. M. P., Guimarães.
48 2017. First report of *Aphelenchoides* sp. in sugarcane roots in Brazil.

49 The genus *Aphelenchoides* is a widely known shoot nematode. However, some studies also
50 report this nematode inhabiting plants rhizosphere in which they may act as ectoparasite. This study
51 reports the presence of *Aphelenchoides* sp. in sugarcane roots. Sugarcane plantlets were inoculated with
52 10,000 eggs/plant of *Aphelenchoides* obtained from lettuce. Ten days after inoculation, sugarcane roots
53 were sampled, stained, and dissected. Visualization of typical morphological characteristics of
54 *Aphelenchoides* was observed under optical microscope which enabled its identification. Histological
55 sections showed the presence of nematode inside sugarcane root cortex with typical sinusoidal movement.
56 Fungal hyphae could also be detected inside root cells and near nematode bodies. Internal root damage

57 also occurred due to the cell wall destruction carried out by nematode movement. However, no primary or
58 secondary symptoms were detected on either plant roots and shoots.

59 Key-words: foliar nematode, histopathology, morphology, *Saccharum* spp.

60

61 Sugarcane is a major crop for more than 80 countries in both tropical and subtropical regions,
62 and Brazil currently leads the world production (Mozambani 2006; Conab 2016). However, the diversity
63 of nematodes in sugarcane is high, with more than 48 genera being assigned as ecto- and/or endoparasites
64 associated to sugarcane roots and rhizosphere (Cadet and Spaul 2005). Among them, the genus
65 *Aphelenchoides* Fisher, 1894. The majority of species from this genus are free-living nematodes while
66 some others are shoot parasites infecting leaves, inflorescences, and seeds (Jesus and Cares 2016).
67 Previous reports found this nematode in rhizosphere of several crops, and some showed capacity to
68 endoparasite roots (Bos 1977a,b; Bridge et al. 1977; Bridge and Hunt 1985; Mor and Spiegel 1993).

69 Previous research detected the presence of *Aphelenchoides* in sugarcane rhizosphere of many
70 croplands in Brazil. Bellé et al. (2014) showed the diversity of nematode genera in 65 soil samples and
71 roots of sugarcane, obtained from cultivated areas of 21 municipalities of Rio Grande do Sul, south of
72 Brazil (subtropical region). The authors found *Aphelenchoides* specimens in 35.38% of soil samples. In
73 northeastern sugarcane fields from Pernambuco state (tropical region), Rodrigues et al. (2011) analyzed
74 the vertical distribution of different nematode taxa and reported the presence of *Aphelenchoides* in
75 different soil samples these sugarcane fields.

76 Recently, we detected the presence of *Aphelenchoides* inside the roots of the sugarcane varieties
77 RB 867515 and RB 92579 at the Laboratory of Plant Nematology from Federal Rural University of
78 Pernambuco. Eggs presented in suspension were obtained from an experimental field with lettuce crops.
79 The eggs were counted in a Peters' slide under optical microscopy. After that, we inoculated 10,000 eggs
80 per plant of each variety.

81 Ten days after inoculation, roots were collected and stained to allow observation of nematode in
82 plant tissue following the procedures of Byrd et al. (1983). The stereoscopic microscope showed, inside
83 sugarcane roots, slender nematodes with offset labial region and conoid tails (Figure 1A-B). After root
84 dissection, singly collected specimens were added in a glass slide with glycerol and then they could be
85 identified as belonging to the genus *Aphelenchoides*. Morphological characteristics as offset labial region,

86 weak stylet, large metacarpus, males with spicules typical of the genus, and conoid tail with terminal
87 mucro (Figure 1C-F) contributed to accurately identify the nematode at genus level.

88 In order to detect *Aphelenchoides* migration within sugarcane root tissue, we performed
89 histopathological tests. Root slices of 1mm were fixed in 1% glutaraldehyde: 4% formaldehyde: 0.1M
90 phosphate buffer at pH 6.9: distilled sterilized water; washed in 0.05M phosphate buffer at pH 6.9. Later,
91 roots were passed to ethanol dehydration serie, added in Technovit resin, sectioned in 3.5- μ m thick slices,
92 stained with toluidine blue, and observed under light microscope. This allowed the observation of
93 *Aphelenchoides* in root cortex and inside sugarcane root cell. Some sections also showed the presence of
94 fungal hyphae close to the nematode body (Figure 2A-B). Bos (1977a) and Bridge et al. (1977) reported
95 *Aphelenchoides arachidis* Bos, 1977, inside roots of peanut (*Arachis hypogaea* L.) in north Nigeria. This
96 nematode is a facultative parasite capable of eating fungal hyphae inside plant roots (Cares et al. 2008).
97 Beyond peanut roots infection, Bridge and Hunt (1985) reported a higher seed infection rate of the
98 pathogenic fungi such as *Fusarium* spp. (Tassi) Gold, *Rizoctonia solani* Kuhn and *Sclerotium rolfsii* Sacc.
99 (Bridge and Hunt 1985). Bos (1977b) and Bridge and Hunt (1985) reported *A. arachidis* associated with
100 roots of maize, sorghum, sugarcane and others grasses which could cause economic losses in north
101 Nigeria. Similarly, root infection of *A. subtenuis* (Cobb 1926) Steiner and Buhner caused commercial
102 losses in narcissus (Mor and Spiegel 1993). Despite the atypical parasitism of *Aphelenchoides* sp. reported
103 in this research, we did not detect any deleterious symptoms in sugarcane after 10 days of inoculation.
104 This might indicate that the nematode penetrates the root searching for fungal hyphae. Additionally, as a
105 facultative parasite the cell content also appears to be a possible source for feeding this nematode. The
106 impact of *Aphelenchoides* sp. in sugarcane roots needs more in-depth studies to highlight the feeding
107 source of this nematode in sugarcane roots.

108

109 ACKNOWLEDGMENTS

110 The authors would like to thank Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco
111 (FACEPE) for the Mobility Scholarship and to the EMBRAPA Genetic Resources and Biotechnology,
112 especially to Dra. Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro, who provided equipment and reagents for the
113 histopathological studies.

114

115 REFERENCES

116

117 Bellé, C.; Kulczynski, S. M.; Gomes, C. B.; Kuhn, P. R. (2014). Fitonematoides associados à cultura da
118 cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul, Brazil. *Nematropica*, 44(2), 207-217.

119 Bos, W. S. (1977a). *Aphelenchoides arachidis* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoidea), an endoparasite of the
120 testa of groundnuts in Nigeria. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 84, 95-99.

121 Bos, W.S. (1977b). A preliminary report on the distribution and host-range of the nematode
122 *Aphelenchoides arachidis* Bos in the North of Nigeria. *Samaru Agricultural Newsletter* 19, 21-23.

123 Bridge, J.; Bos, W. S.; Page, L. J.; McDonald, D. (1977). The biology and possible importance of
124 *Aphelenchoides arachidis* a seed-born endoparasitic nematode of groundnuts from northeast
125 Nigeria. *Nematologica*, 23(2), 253-259.

126 Bridge, J.; Hunt, D. J. (1985). *Aphelenchoides arachidis*. CIH description of plant parasitic nematodes.
127 Saint Albans, UK: Commonwealth Institute of Helminthology, 116, 3.

128 Byrd Jr, D. W.; Kirkpatrick, J.; Barker, K. R. (1983). An improved technique for clearing and staining
129 plant tissue for detection of nematodes. *Journal of Nematology*, 15(1), 142-143.

130 Cadet, P.; Spaull, V.W. (2005). Nematode parasites of sugarcane.. In Luc, M.; Sikora, R. A.; Bridge, J.
131 (ed). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture* (pp. 645- 674). C.A.B.
132 International Institute of Parasitology, Wallingford – UK.

133 Cares, J. E.; Santos, J. R. P.; Tenente, R. C. V. (2008). Taxonomia de nematoides de sementes, bulbos e
134 caules – parte II. In W. C. Luz, *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 16 (pp. 39-84).

135 Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). (2015). Acompanhamento da safra brasileira: cana-
136 de-açúcar, v.3 – Safra 2016/2017, n. 3 - Terceiro Levantamento. Brasília: Conab, 2016.

137 Disponível em:

138 <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_12_27_16_30_01_boletim_cana_portugues_-3o_lev_-_16-17.pdf> Acesso em: 07 março 2017.

140

141 Jesus, D. S.; Cares, J. E. (2016). Gênero *Aphelenchoides*. In Oliveira, C. M. G.; Santos, M. A.; Castro, L.
142 H. S. *Diagnose de fitonematoides* (pp. 99-118). Campinas: Millenium Editora.

143 Mor, M.; Spiegel, Y. (1993). Infection of narcissus roots by *Aphelenchoides subtenuis*. *Journal of*
144 *Nematology*, 25(3), 476-479.

- 145 Mozambani, A. E. (2006). História e morfologia da cana-de-açúcar. In S. V. Segato (org.). Atualização
146 em produção de cana-de- açúcar (pp. 11-18). Piracicaba: CP 2.
- 147 Rodrigues, C. V. M. A.; Pedrosa, E. M. R.; Oliveira, A. K. S.; Leitão, D. A. H. S.; Barbosa, N. M. R.;
148 Oliveira, N. J. V. (2011). Distribuição vertical da nematofauna associada à cana-de-açúcar.
149 Nematropica, 41(1), 5-11.
- 150

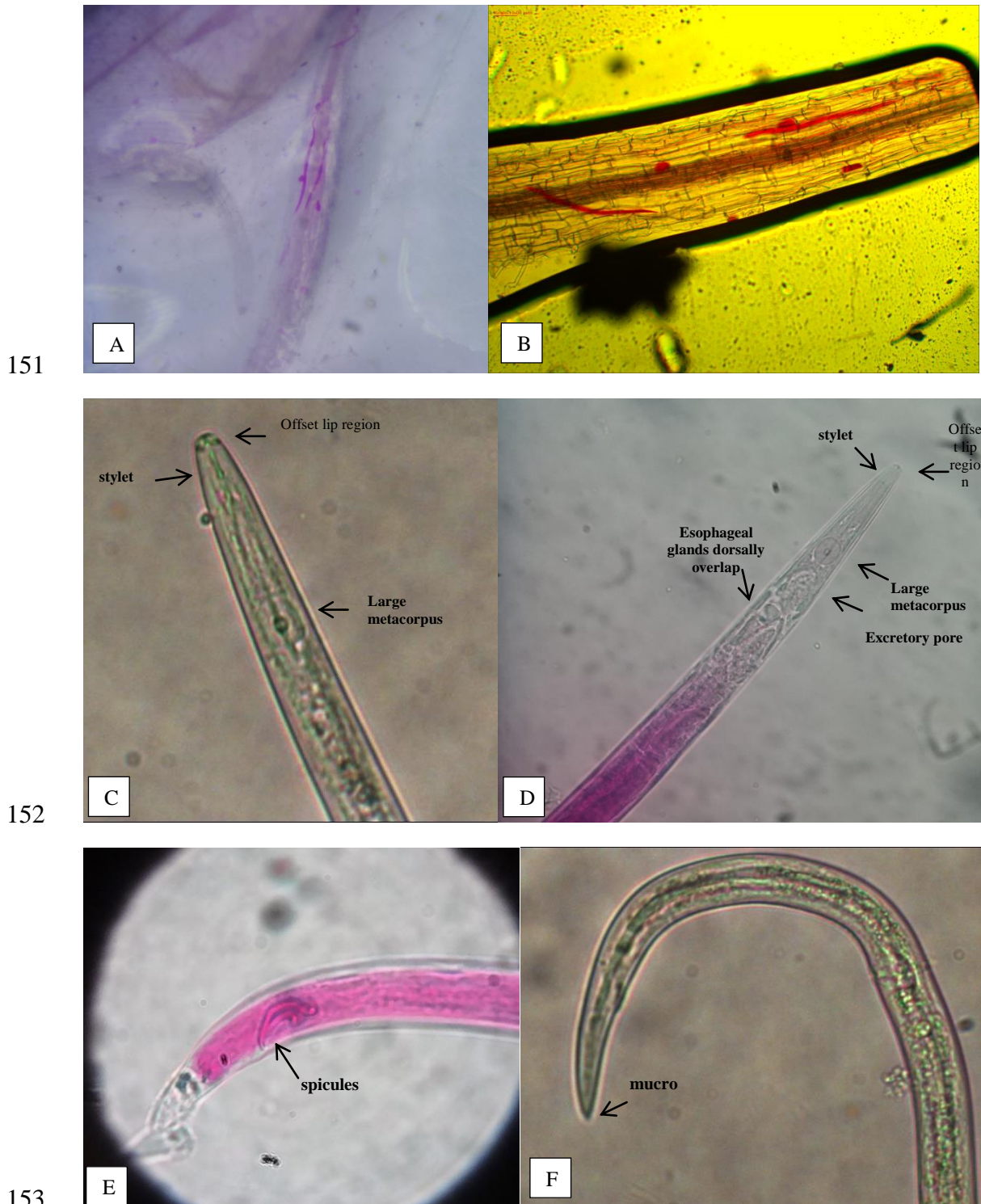
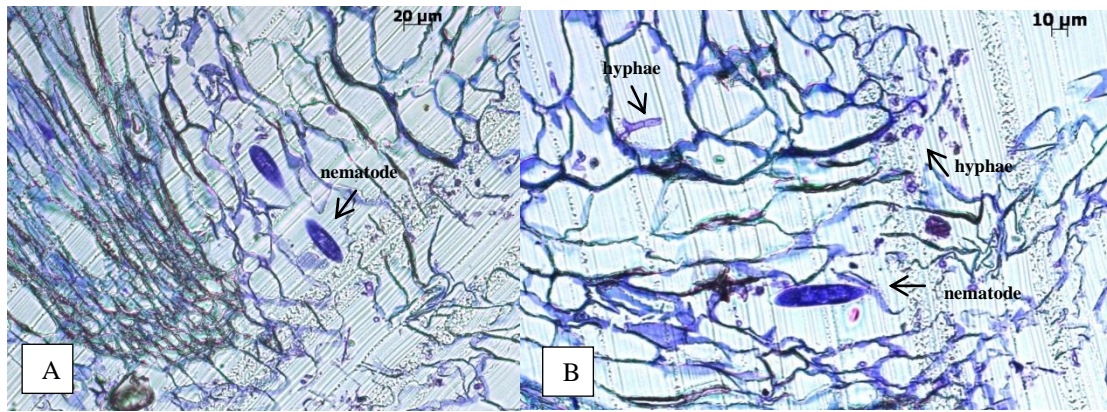


Figure 1. Photomicrographs of *Aphelenchoides* sp. inside sugarcane root tissues (A) in stereoscopic microscope and (B) under optical microscopy; (C) and (D) head region morphological characteristics of *Aphelenchoides* sp.; (E) male spicules in thorn shape; (F) tail conoid with a terminal mucro.



157

158 Figure 2. Photomicrographs of sugarcane root slices stained with toluidine blue. (A) nematode presence

159 inside cortex cells and (B) presence of fungal hyphae in sugarcane cells close to nematode body.

160

CAPÍTULO IV
CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- Em infecção conjunta, *M. incognita* e *P. zae* juntos, suprimem um ao outro;
- Em presença de *P. zae*, *M. enterolobii* tem uma vantagem no parasitismo sobre a cana-de-açúcar;
- Houve um aumento na densidade populacional de *M. incognita* quando na variedade RB867515 e inoculo inicial de 10000 nematoides/planta;
- A biomassa da parte aérea é reduzida pela infecção conjunta de *P. zae* e *M. incognita*;
- Cento e vinte dias de contato de *M. enterolobii* com as plantas, não foram suficientes para que todos os nematoides completassem o ciclo de vida;
- Foi registrada, pela primeira vez no Brasil, a presença de *Aphelenchoides* sp. em raízes de cana-de-açúcar;
- Nenhum sintoma na planta foi observado pelo parasitismo de *Aphelenchoides* sp.