

MANUAL TÉCNICO:



MANUTENÇÃO DE INÓCULO DE *Meloidogyne* spp

Larissa Fernanda Andrade Souza
Lorena Gracielly de Almeida Souza
Patrícia Prado Nasser
Natan Cantuária Nunes
Robson Rodrigues dos Santos
Loranny Danielle Pereira de Oliveira
Autores



TERRIED

MANUAL TÉCNICO:

MANUTENÇÃO DE INÓCULO DE *Meloidogyne* spp

Larissa Fernanda Andrade Souza
Lorena Gracielly de Almeida Souza
Patrícia Prado Nasser
Natan Cantuária Nunes
Robson Rodrigues dos Santos
Loranny Danielle Pereira de Oliveira
Autores



TERRIED

1.ª Edição - Copyrights do texto - Autores e Autoras

Direitos de Edição Reservados à Editora Terried

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.



O conteúdo dos capítulos apresentados nesta obra são de inteira responsabilidade d@s autor@s, não representando necessariamente a opinião da Editora.

Permitimos a reprodução parcial ou total desta obra, considerado que seja citada a fonte e a autoria, além de respeitar a Licença Creative Commons indicada.

Conselho Editorial

Adilson Cristiano Habowski - ***Currículo Lattes***

Adilson Tadeu Basquerote Silva - ***Currículo Lattes***

Alexandre Carvalho de Andrade - ***Currículo Lattes***

Anísio Batista Pereira - ***Currículo Lattes***

Celso Gabatz - ***Currículo Lattes***

Cristiano Cunha Costa - ***Currículo Lattes***

Denise Santos Da Cruz - ***Currículo Lattes***

Emily Verônica Rosa da Silva Feijó - ***Currículo Lattes***

Fabiano Custódio de Oliveira - ***Currículo Lattes***

Fernanda Monteiro Barreto Camargo - ***Currículo Lattes***

Fredi dos Santos Bento - ***Currículo Lattes***

Guilherme Mendes Tomaz dos Santos - ***Currículo Lattes***

Leandro Antônio dos Santos - ***Currículo Lattes***

Lourenço Resende da Costa - ***Currículo Lattes***

Marcos Pereira dos Santos - ***Currículo Lattes***

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

MANUAL TÉCNICO: MANUTENÇÃO DE INÓCULO DE *Meloidogyne* spp
[Manual Técnico] / Autores: Larissa Fernanda Andrade
Souza; Lorena Gracielly de Almeida Souza; Patrícia Prado
Nasser; Natan Cantuária Nunes; Robson Rodrigues dos Santos;
Loranny Danielle Pereira de Oliveira. -- 1. ed. --
Alegrete, RS : Editora TerriED, 2024.

PDF-

ISBN 9 7 8 - 6 5 - 8 4 9 5 9 - 5 4 - 5

1. Pesquisa

23-147990

CDD-370-1

Índices para catálogo sistemático:

1. Técnica de Pesquisa 610.1

Contato para informações sobre o Manual:
Lorena Almeida: lorenagracielly2@gmail.com



10.48209/978-65-84959-54-5



www.terried.com

contato@terried.com

(55) 99656-1914

SUMÁRIO

MANUAL TÉCNICO: MANUTENÇÃO DE INÓCULO DE <i>MELOIDOGYNE</i> SPP.....	6
1. OBTENÇÃO DE OVOS.....	9
2. PRODUÇÃO DE MUDAS PARA INÓCULO.....	10
3. TRANSPLANTIO DAS MUDAS.....	11
4. INOCULAÇÃO DAS MUDAS.....	12
5. OBSERVAÇÃO DOS SINTOMAS.....	13
LITERATURA CONSULTADA.....	7

MANUAL TÉCNICO: MANUTENÇÃO DE INÓCULO DE *Meloidogyne* spp.

Os fitonematoides em sua grande maioria, tem preferencialmente como alvo, serem parasitas de raízes de planta. Porém, outros órgãos subterrâneos também podem ser atacados, como tubérculos, túberas, rizomas ou frutos hipógeos. Há, ainda, espécies que parasitam a parte aérea da planta, em caule, folhas e frutos. Sendo os fitonematoides patógenos que afetam diversas culturas, causando prejuízos aos agricultores.

Dentre os fitonematoides, destaca-se o gênero *Meloidogyne*, que é conhecido como nematoide de galhas, sendo este cosmopolita em função de sua extensa gama de hospedeiros e ampla distribuição geográfica (Moens *et al.*, 2009). Os sintomas causados por este nematoide incluem murcha nas horas mais quentes do dia, declínio, queda de folhas e sintomas de deficiência mineral. Nas raízes, que se desvitalizam e param de crescer, as galhas e rachaduras são visíveis. Às vezes há formação de raízes laterais curtas, e o engrossamento das raízes, formando as chamadas galhas, que se caracteriza como o sintoma principal da infecção por este fitonematoide, o que indica o nome popular de Nematoide das galhas.

São relatadas mais de duas mil espécies do gênero *Meloidogyne*, onde as espécies comumente mais distribuídas são *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* Chitwood, 1949 (Min *et al.*, 2012; Elling, 2013; Suresh *et al.*, 2019).

As principais espécies presentes no Brasil atualmente são:

M. arenaria,

M. coffeicola Lordello & Zamith, 1960,

M. enterolobii Yang & Eisenback 1983,

M. ethiopica Whitehead 1968,

M. exigua,

M. graminicola Golden & Birchfield 1965,
M. hapla,
M. hispanica Hirschmann 1986,
M. incognita,
M. javanica, Goeldi 1887,
M. luci Carneiro et al., 2014,
M. morocciensis Rammah & Hirschmann 1990,
M. paranaensis Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos & Almeida 1996, e
M. petuniae Charchar, Eisenback & Hirschmann 1999 (Carneiro et al., 2016).

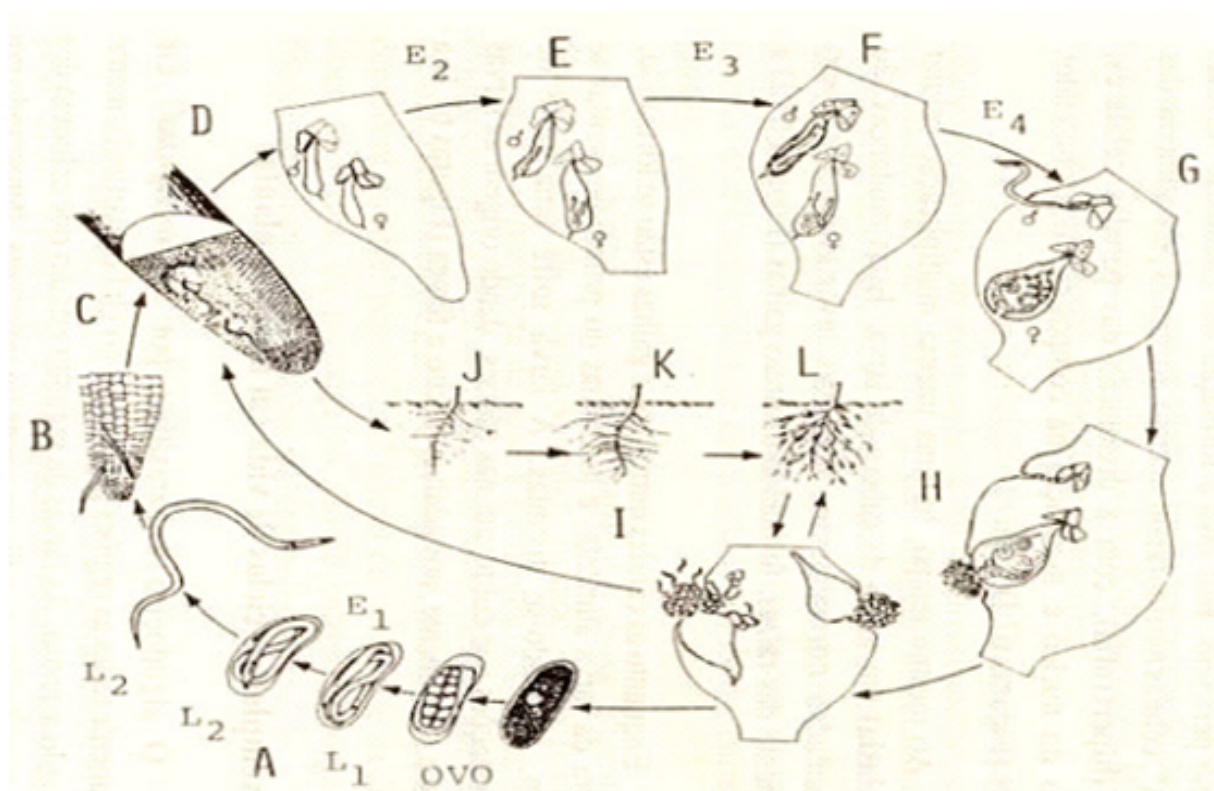
Sendo *M. javanica* e *M. incognita* consideradas como as de maior ocorrência e severidade quando atacam plantações de grãos, principalmente a soja (Oliveira *et al.*, 2018). Hoje no Brasil já existem 56 cultivares de soja resistente ou moderadamente resistente a *M. javanica* e 62 a *M. Incognita*, porém somente essa medida não é satisfatória em áreas com alta infestação.

Os nematoides-das-galhas, em seu ciclo de vida, passam na maioria do tempo, no interior das raízes em que infectam, sendo classificados como endoparasitas sedentários. Cada fêmea adulta realiza em média a postura de 400 a 500 ovos em uma matriz gelatinosa, garantindo o sucesso da espécie. Além das fases de fêmea adulta e ovo, também existem quatro estádios juvenis que ocorrem por meio da troca de cutícula desses nematoides, chamadas de ecdises ou mudas (Abad *et al.*, 2009).

O ciclo de vida se inicia com os ovos (A) que são depositados pela fêmea numa matriz gelatinosa, a “ooteca”, que os protege (H, I). São colocados mais de 500 ovos, podendo chegar a ter o tamanho do corpo da fêmea. O desenvolvimento embrionário resulta na formação de uma larva (L1). A primeira transformação ocorre no interior do ovo, assim que eclode já é a larva L2, que

irá procurar uma raiz para alimentar-se, guiada pelos exsudados da planta (B). A L2, vermiforme, cauda geralmente afilada, penetra normalmente próximo a capa protetora da raiz, na sua extremidade, movendo-se para o interior da planta (C). As primeiras penetrações do estilete são acompanhadas de secreções que causam um crescimento das células, levando à formação das “células gigantes” nutridoras (D-I). Ao mesmo tempo, uma intensa multiplicação celular causa o aumento das raízes, formando as galhas (J-L). As larvas, então, sofrem mudanças, dando origem as L3 e L4 e, finalmente, aos adultos, machos e fêmeas (E2-E4).

Figura 1. Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. (Seg. AGRIOS In Tihohod, 1993).



A duração do ciclo de vida destes nematoides é variável, de acordo com a espécie, temperatura, tipo de solo, além da susceptibilidade da cultura em que o fitonematoide está causando a infecção.

Diversas são as pesquisas realizadas utilizando fitonematoides do gênero *Meloidogyne*, em pesquisas científicas e tecnológicas visando encontrar méto-

dos de controle e desenvolvimento de metodologias para minimizar os danos provocados por estes na produção agrícola. Diante disso, neste manual será abordado a manutenção de inóculo de *Meloidogyne spp.*, buscando ajudar estudantes e profissionais que trabalham manejando estes fitonematóides.

1. OBTENÇÃO DE OVOS

A suspensão de ovos é obtida a partir de raízes infectadas com nematoides das galhas, sendo a extração realizada seguindo a técnica proposta por Hussey e Barker modificada por Bonetti e Ferraz (1981).

As raízes devem ser devidamente lavadas e picadas em pedaços de aproximadamente 0,5 cm, sendo levadas ao liquidificador com uma solução de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% por 20 segundos para serem trituradas.

A suspensão obtida deve ser vertida em peneiras de 20, 60 e 400 mesh, posicionadas de forma sobreposta, e os ovos retidos na última peneira devem ser recolhidos com o auxílio de um pisseta e levados ao microscópio óptico, onde com o auxílio de câmara de Peters deve ser feita a contagem e calibração da suspensão para de 2000 a 4000 ovos por mL.

Figura 2. Obtenção de ovos de nematoide, seguindo metodologia de Hussey e Barker modificada por BONETI e FERRAZ, 1981.



2. PRODUÇÃO DE MUDAS PARA INÓCULO

Recomenda-se a utilização de mudas de tomate para inoculação dos nematoides, uma vez que se trata de uma cultura de ciclo rápido, e muito suscetível a infecção por estes nematoides. Quanto as sementes a serem utilizadas recomenda-se a utilização das sementes Santa Clara.

As sementes devem ser semeadas em bandeijas contendo substrato, e mantidas por cerca de 10 a 15 dias.

Figura 3. Semeadura de sementes de tomate.



3. TRANSPLANTIO DAS MUDAS

Após cerca de 10 a 15 dias de semeadura, as mudas devem ser transplantadas para vasos de 3 litros, contendo substrato. Durante o transplântio deve ser feito a adubação das mudas com nitrogênio, fósforo e potássio.

Figura 4. Mudas de tomate transplantadas.



4. INOCULAÇÃO DAS MUDAS

Para realizar a inoculação das mudas, deve-se realizar três furos próximo as raízes, sendo o solo infestado com a suspensão de ovos obtidas, descritas no item 1. A quantidade de suspensão depositada em cada vaso deve ser igual, para garantir uniformidade do lote de inóculo.

Figura 5. Infestação dos vasos contendo as mudas de tomate.



5. OBSERVAÇÃO DOS SINTOMAS

As galhas podem ser observadas nas raízes cerca de 28 a 30 dias após a inoculação. Este período de tempo é variável de acordo com temperatura, condições do substrato e outras práticas culturais.

Figura 6. Sintoma das 'galhas' em raiz de tomateiro.



Após a formação das galhas, todo o processo deve ser repetido, sendo extraídos os ovos e a infestação dos vasos com novas mudas de tomate, com o intuito de renovar o inóculo.

Em regiões quentes recomenda-se a irrigação das plantas duas vezes ao dia, em regiões de temperaturas amenas, a irrigação uma vez ao dia é suficiente. Recomenda-se a adubação periódica das plantas, assim como seu tutoramento.

LITERATURA CONSULTADA

CARNEIRO, R.M.D.G.; MONTEIRO, J.M.S; SILVA, U.C.; GOMES, G. (2016) Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. In: OLIVEIRA, C.M.G., SANTOS, M. A., CASTRO, L.H.S. (Eds) Diagnose de fitonematoides, Millennium Editora, Campinas, SP, cap.3, pp. 47-64.

Claudio Marcelo Gonçalves de Oliveira Juliana Magrinelli Osório Rosa Nematoides Parasitos do Cafeeiro Boletim Técnico Instituto Biológico São Paulo - SP Nº 32 - págs. 1-28 Fevereiro/2018.

Ferraz, L.C.C.B. & R.M. Souza, 2014. A Sociedade Brasileira de Nematologia: 40 anos. Manaus, Norma Editora.

ELLING, A.A. (2013) Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. Phytopathology 103, pp. 1092-1102. doi: 10.1094/phyto-01-13-0019-rvw.z.

HUANG, C.S. & MAGGENTI, A.R. (1969) Mitotic aberrations and nuclear changes of developing giant cells in *Vicia faba* caused by root knot nematode *Meloidogyne javanica*. Phytopathology 59, pp. 447-455.

Moura, R.M. 2000. Fundamentos históricos e evolutivos da Nematologia de Interesse Agrícola. Nematologia Brasileira 24: 1-21.

MOENS, M.; PERRY, R.N.; STARR, J.L.; *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J. L. ed. Root-knot Nematodes. Wallingford, UK: CAB International, 2009, p. 1–17.

MIN, Y.Y.; TOYOTA, K.; SATO, E. (2012) A novel nematode diagnostic method using the direct quantification of major plant-parasitic nematodes in soil by real-time PCR. Nematology 14, pp. 265-276. doi: 10.1163/156854111x601678.

OLIVEIRA, C.M.G.; ROSA, J.M.O.; GIORIA, R.; BRAGA, K.R.B. (2018) Nematoides. In: BRANDÃO FILHO, J.U.T.; FREITAS, P.S.L.; BERIAN, L O.S.; GOTO, R. (Eds) Hortaliças-fruto (online), EDUEM, Maringá, PR, pp. 315-338. doi: 10.7476/9786586383010.0011.

SUBBOTIN, S.A.; PALOMARES-RIUS, J.E.; CASTILLO, P. (2021) Systematics of Root-Knot Nematodes (Nematoda: Meloidogynidae). In: HUNT, D. J.; PERRY, R.N. (Eds) Nematology Monographs and Perspectives, The Netherlands, Leiden, Brill (in press).

MANUAL TÉCNICO:

MANUTENÇÃO DE INÓCULO DE *Meloidogyne* spp



TERRIED

www.terried.com
contato@terried.com
(55) 99656-1914