

MANUAL TÉCNICO:



TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE FITONEMATOIDES

Lorena Gracielly de Almeida Souza
Larissa Fernanda Andrade Souza
Patrícia Prado Nasser
Renato Martins Alves
Mariany de Jesus Limas
Jheimison Luiz Santos
Dilson Lucas Fernandes Silva
Autores



TERRIED

MANUAL TÉCNICO:

TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE FITONEMATOIDES

Lorena Gracielly de Almeida Souza
Larissa Fernanda Andrade Souza
Patrícia Prado Nasser
Renato Martins Alves
Mariany de Jesus Limas
Jheimison Luiz Santos
Dilson Lucas Fernandes Silva
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: TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE FITONEMATOIDES

[Manual Técnico] / Autores: Lorena Gracielly de Almeida Souza; Larissa Fernanda Andrade Souza; Patrícia Prado Nasser; Renato Martins Alves; Mariany de Jesus Limas; Jheimison Luiz Santos; Dilson Lucas Fernandes Silva.
-- 1. ed. -- Alegrete, RS : Editora TerriED, 2024.

PDF-

ISBN 9 7 8 - 6 5 - 8 4 9 5 9 - 5 3 - 8

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



10.48209/978-65-84959-53-8



www.terried.com

contato@terried.com

(55) 99656-1914

SUMÁRIO

MANUAL TÉCNICO: TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE NEMATÓIDES.....	6
1. INÓCULO.....	8
2. EXTRAÇÃO DAS RAÍZES.....	9
3. UTILIZAÇÃO DE PENEIRAS.....	10
4. OBSERVAÇÃO EM MICROSCÓPIO.....	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15

MANUAL TÉCNICO: TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE NEMATÓIDES

Os nematoides fazem parte do filo Nematoda, sendo animais invertebrados, geralmente microscópicos, medindo de 0,2 a 1,5 mm de comprimento, com poucas espécies que podem atingir 3,0 mm, ou até mais. Os nematoides, em geral, apresentam vida livre e, por serem altamente diversificados possuem diversos hábitos alimentares e apresentam diferentes papéis ecológicos no solo (MAGGENTI, 1981; BONGERS; FERRIS, 1999; HUGOT et al., 2001).

São considerados os animais mais abundantes dentre os multicelulares, os nematoides ocupam habitats mais variados que qualquer outro grupo de metazoários, salvo os artrópodes. Podem ser encontrados em locais como: lagos, rios, mares solo, raízes e em outras partes das plantas como caules e folhas (MAGGENTI, 1981).

Os fitonematoides são parasitas de plantas, se reproduzindo em cerca de 40% das espécies, de maneira em que a fêmea não precisa da presença do macho para reprodução. O modo predominante de reprodução é a anfimixia ou fertilização cruzada, que envolve a participação de machos e fêmeas. Reprodução monossexuada por partenogênese – facultativa ou obrigatória também ocorre e nela o macho não é essencial, restringindo-se à fêmea; por sinal que a partenogênese é relativamente comum em fitonematoides de grande importância econômica, como em várias espécies dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus*. O hermafroditismo é muito raro e há autores que consideram especulativa a sua ocorrência em fitonematoides (FERRAZ; BROWN, 2016).

Os nematoides são classificados quanto aos hábitos alimentares, sendo os de vida livre, aqueles que sua alimentação é a base de micro-organismos associados à decomposição da matéria orgânica, sendo considerados recicladores de nutrientes do solo e são muito importantes para o ecossistema. Também

existem algumas espécies de nematoides de vida livre que são predadores, alimentando-se de outros nematoides. Os nematoides zooparasitas utilizam animais vertebrados ou invertebrados como hospedeiros, estabelecendo-se, definitiva ou temporariamente, em órgãos de seus sistemas digestório, circulatório, respiratório ou outros. Os nematoides Fitoparasitas ou Fitonematoides são relativamente pouco conhecidos pelo homem, apesar dos enormes prejuízos que podem causar à agricultura. Isso levou vários especialistas em Nematologia a denominá-los “os inimigos invisíveis das plantas” (FERRAZ; BROWN, 2016).

Dentre os fitonematoides, destaca-se o gênero *Meloidogyne*, comumente conhecido como nematoide de galhas. Este é um fitopatógeno cosmopolita em função de sua extensa gama de hospedeiros e ampla distribuição geográfica (MOENS et al., 2009). Ao ocorrer a introdução de *Meloidogyne* em uma área, sua erradicação é praticamente impossível.

No Brasil as espécies desse gênero mais frequentes são *Meloidogyne incognita* (Kofoed & White) Chitwood (1949) e *Meloidogyne Javanica* Treub (1885) (FERRAZ et al., 2011). Estes nematoides podem interagir com outros patógenos causando complexo de doenças de difícil controle que provocam transtornos aos produtores (MÔNACO et al., 2009).

Os principais hospedeiros de *Meloidogyne javanica* são as culturas da soja, aveia preta, pé-de-galinha, nabo forrageiro, girassol, cana-de-açúcar, feijoeiro, caupi, mandioca e arroz. Quanto a *Meloidogyne incognita* os principais hospedeiros são as culturas da soja, aveia preta, milho, pé-de-galinha, nabo forrageiro, girassol, milho, sorgo, algodoeiro, cana-de-açúcar, feijoeiro, mandioca e arroz.

Os sintomas principais da infecção por *Meloidogyne* se manifestam no sistema radicular, sendo possível observar o engrossamento, denominados galhas. Plantas levemente infestadas apresentam galhas pequenas nas raízes ab-

sorventes, enquanto aquelas altamente infestadas podem ter redução do sistema radicular com galhas grandes e alongadas e, conseqüentemente, baixo vigor, sintomas de deficiência nutricional e redução na produção.

Para controlar estes fitonametoides o uso de cultivares resistentes é o método mais indicado para redução desses parasitas nas áreas plantadas, pois não oneram os custos de produção e não apresentam riscos ao meio ambiente, contudo as cultivares existentes não apresentam resistência completa a *Meloidogyne* spp. (DIAS-ARIEIRA, 2012). Recomenda-se a utilização de mudas isentas de nematóides; evitar a entrada de enxurrada oriunda de áreas infestadas; evitar a reinfestação da área por máquinas, implementos agrícolas e água de irrigação infestados; efetuar o plantio de crotalária ou mucunas para reduzir a população do nematóide e utilizar porta-enxertos resistentes como SO4, Kober 5BB, 420 A, Pausen 1103, RR 101-14, entre outros.

Para a obtenção de ovos de *Meloidogyne* seja para avaliação nematológica ou para infestação de plantas com intuito de obtenção de inóculo com mesmo, são necessárias a utilização de técnicas, de forma que os ovos não sejam danificados durante o processo. Neste manual será descrito o processo de extração de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* spp. seguindo como base o método Hussey e Barker modificada por Bonetti e Ferraz (1981).

1. INÓCULO

Para se obter os ovos de *Meloidogyne* spp. é preciso obter raízes infectadas com o fitonematóide, a partir da observação do sintoma característico, o engrossamento das raízes, em formato de galhas. Estas raízes infectadas devem ser lavadas em água corrente, de maneira que seja retirada o máximo possível de terra e/ou substrato.

Figura 1. Raiz de alface (*Lactuca sativa*) com sintomas característicos de *Meloidogyne* spp.



FOTO: SOUZA, L. G. A.

2. EXTRAÇÃO DAS RAÍZES

As raízes após serem devidamente lavadas devem ser picadas com a utilização de uma faca de serra, ou tesoura, em pedaços de aproximadamente 0,5 cm. Após este procedimento essas raízes devem ser depositadas em um liquidificador com uma solução de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% por 20 segundos para serem trituradas.

Figura 2. Raízes sendo trituradas no liquidificador.



FOTO: SOUZA, L. F. A.

3. UTILIZAÇÃO DE PENEIRAS

A suspensão obtida deve ser vertida em peneiras de 20, 60 e 400 mesh, posicionadas de forma sobreposta. De forma manual estas peneiras devem ser batidas em movimentos repetidos em uma superfície fixa, até que o líquido vertido seja eliminado o máximo possível.

Figura 3. Peneiras de 20, 60 e 400 mesh sobrepostas.



FOTO: SOUZA, L. G. A.

O líquido retido na última peneira contendo os ovos retidos serão recolhidos com o auxílio de um piseta e um funil e levados ao microscópio óptico.

Figura 4. Recolhimento da suspensão obtida.



FOTO: SOUZA, L. F. A.

4. OBSERVAÇÃO EM MICROSCÓPIO

Com o auxílio de câmara de Peters é feita a contagem da suspensão de ovos no microscópio óptico, onde será possível observar os ovos, que apresentam aparência característica (Figura 6), confirmando assim a presença de *Meloidogyne* spp. na amostra avaliada.

Figura 5. Câmara de Peters contendo suspensão de ovos sendo observada em microscópio óptico.

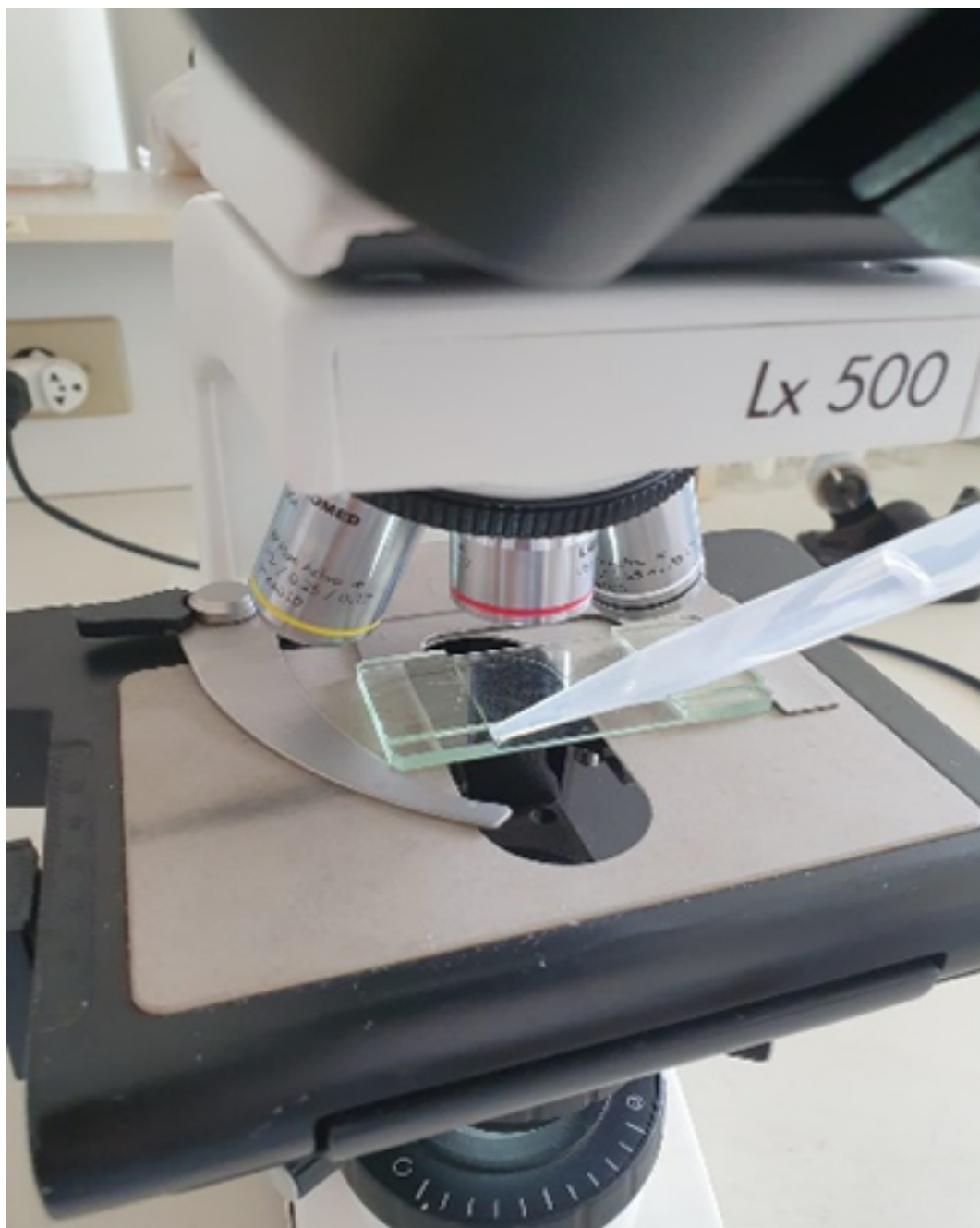


FOTO: SOUZA, L. F. A.

Figura 6. Ovos de *Meloidogyne* spp.



FOTO: Google imagens

A utilização da técnica de extração de forma eficiente contribui para confirmação da presença de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em uma área, sendo que o conhecimento sobre o patógeno presente em uma plantação é o primeiro passo para a determinação do método de controle a ser utilizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONGERS, T; FERRIS, H. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*, v.14, p. 224-228, 1999.

COYNE, D.L., NICOL, J.M. and CLAUDIUS-COLE, B. 2007. *Nematologia prática: Um guia de campo e de laboratório*. SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Cotonou, Benin.

DIAS-ARIEIRA, C.R et al. Reação de vegetais e plantas aromáticas a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. *Horticultura Brasileira*, v.30, p. 322-326, 2012.

FERRAZ, L.C.C.B.; MONTEIRO, A.R. Nematoides. In: AMORIM, L.; RESENDE, J.A. M.; BERGAMIM FILHO, A. *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. cap. 13, p. 277-305.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F.. *Nematologia de plantas: fundamentos e importância*. L.C.C.B. Ferraz e D.J.F.. Brown (Orgs.). Manaus: NORMA EDITORA, 2016.

FERRAZ, L.C.C.B. O nematoide *Pratylenchus brachyurus* a soja sob plantio direto. *Revista Plantio Direto*, v.96, p.23-27, 2006.

HUGOT, J.P.; BAUJARD, P.; MORAND, S. Biodiversity in helminthes and nematodes as a field study: an overview. *Nematology*, Leiden, v. 3, p. 199-208, 2001.

MAGGENTI, A. *General Nematology*. New York, NY: Springer Verlag, 1981. 372 p.

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.

MÔNACO A. P. A.; CARNEIRO, R. G.; KRANZ, W. M.; GOMES, J. C.; SCHERER, A.; SANTIAGO, D. C. Reação de espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 3, a *M. javanica* e a *M. paranaensis*. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v. 33, n. 3, p. 335 – 242, 2009.

MANUAL TÉCNICO:



TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE FITONEMATOIDES



TERRIED

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