



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
FITOPATOLOGIA

**Nematoide das Lesões Radiculares (*Pratylenchus spp.*)  
no Cerrado Brasileiro  
com Ênfase nos Danos Causados à Cultura do Arroz**

**RAIANY LIMA DE SOUSA**

Dissertação a ser apresentada ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

**BRASÍLIA -DF  
2018**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
FITOPATOLOGIA**

**Nematoide das Lesões Radiculares (*Pratylenchus* spp.)  
no Cerrado Brasileiro  
com Ênfase nos Danos Causados à Cultura do Arroz**

**RAIANY LIMA DE SOUSA**

Dissertação a ser apresentada ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

**Orientador: Professor Cleber Furlanetto  
Co-orientador: Dr. Dilson da Cunha Costa**

**BRASÍLIA -DF**

**2018**

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

Sousa, Raiany Lima de.

Nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) no cerrado brasileiro com ênfase nos danos causados à cultura do arroz. /Raiany Lima de Sousa.

Brasília, 2018. Número de páginas p.:88 il.

Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília-DF.

### 1. Fitopatologia – Nematologia

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) no cerrado brasileiro com ênfase nos danos causados à cultura do arroz.

A minha mãe Conceição por todo apoio, incentivo, cuidado, amor e investimento em meus estudos ensinando que o conhecimento é a maior herança.

A minha filha Isadora por me amar, inspirar, orgulhar, e por compreender minha ausência e o quanto minha vida acadêmica é importante.

A minha irmã caçula Laura pelo carinho e companhia.

A minha vizinha Francisca por todo amor, mimo, apoio, incentivo e orações.

Ao meu falecido vizinho que sempre me apoiou, financiou e incentivou em todos os meus sonhos.

Ao meu pai Higino que em vida foi meu grande amor e fã.

**DEDICO...**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus por me capacitar, abençoar, honrar e sua graça me alcançar onde quer que eu esteja.

À minha família, minha mãe, meu padrasto Ronaldo, minha avó Francisca, meus irmãos Laura, Vinícius e Jean, e em especial minha filha Isadora, por serem meu porto seguro nos momentos difíceis com apoio e encorajamento.

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília (Unb), pela oportunidade de cursar o mestrado em Fitopatologia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Dr. Cleber Furlanetto, pela orientação acadêmica, atenção e doação de reagentes.

Ao Dr. Dilson da Cunha Costa pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pela co-orientação, ensinamentos, apoio e amizade.

Ao professor Dr. Juvenil Cares pelo conhecimento compartilhado e auxílio.

A minha amiga Ana Cláudia da Costa e colegas (Thiago, Rafael, Alex, Bárbara) do laboratório de Nematologia Vegetal da Quarentena da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pela ajuda e suporte nos experimentos, além do companheirismo em momentos de descontração.

Ao técnico Willian Matos e ao estatístico Juaci Malaquias da Embrapa Cerrados pelo auxílio na execução dos experimentos e análises estatísticas.

A Dra. Valécia Silva Lobo, Dra. Regina Carneiro e Dr. Dilson da Cunha Costa por permitir que esse estudo fosse por mim desenvolvido como dissertação de mestrado.

Aos funcionários da Embrapa Arroz e Feijão (Goiânia) que auxiliaram na instalação e condução do experimento dos experimentos de campo.

Ao Dr. Vilmar Gonzaga (Embrapa Cenargen) e Vanessa Mattos pelos ensinamentos, treinamento e auxílio na realização das identificações morfométricas e moleculares.

Aos amigos da pós-graduação Adriana Andrade, Kamila de Araújo, Paula Darliny, Sheila Freitas e Luiz Lopes pela companheirismo e momentos de estudos.

Ao meu pastor, Jorge, pelas orações e cobertura espiritual nos momentos mais críticos.

E aos meus amigos pela paciência nas minhas ausências e pela torcida.

A todos, meu muito obrigada!

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Professor **Cléber Furlanetto**, com apoio institucional e financeiro da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**Nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) no cerrado brasileiro com ênfase nos danos causados à cultura do arroz.**

**RAIANY LIMA DE SOUSA**

DISSERTAÇÃO APROVADA em 06/12/2018 por:

**Prof. Adalberto Corrêa Café Filho**  
Examinador (membro interno)

**Dr. Jadir Borges Pinheiro**  
Examinador (membro externo)

**Prof. Juvenil Enrique Cares**  
(Presidente da Banca - UnB)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL  
BRASIL

**2018**

## SUMÁRIO

Lista de figuras .....	vi
Lista de tabelas .....	vii
Resumo .....	viii
Abstract.....	ix
Introdução.....	10
<b>Capítulo 1. A cultura do arroz e os nematoides das lesões radiculares (<i>Pratylenchus spp.</i>)</b>	
1.1. A cultura do arroz .....	14
1.2. Importância econômica.....	15
1.3. O Cultivo do arroz no Brasil .....	15
1.3.1. Arroz irrigado. ....	16
1.3.2. Arroz de sequeiro. ....	17
1.4. Sanidade na cultura do arroz.....	17
1.5. Fitonematoídes associados à cultura do arroz .....	18
1.6. Nematoides das lesões radiculares ( <i>Pratylenchus</i> Filipjev, 1936) .....	18
1.7. Ciclo de vida de <i>Pratylenchus spp.</i> .....	21
1.8. Classificação taxonômica de <i>Pratylenchus spp.</i> .....	22
1.9. Plantas Hospedeiras de <i>Pratylenchus spp.</i> .....	23
1.10. Danos causados por <i>Pratylenchus spp.</i> e sua associação com microrganismos de solo.....	24
1.11. Manejo de <i>Pratylenchus spp.</i> .....	24
Referências bibliográficas. ....	27
<b>CAPÍTULO 2. Levantamento das espécies de nematoides das lesões radiculares (<i>Pratylenchus spp.</i>) associadas à cultura do arroz, soja, milho e feijão em plantios do Brasil Central.</b>	
Resumo .....	37
Abstract.....	38
2.1. Introdução.....	39
2.2. Material e métodos .....	40
2.2.1. Coleta de amostras de solo e raízes de plantas de arroz, soja, milho e feijão.....	40
2.2.2. Identificação morfológica e morfométrica de <i>Pratylenchus spp.</i> .....	41

2.2.3. Identificação molecular das populações/espécies de <i>Pratylenchus</i> .....	43
2.3. Resultados.....	46
2.3.1. Identificação morfológica e morfométrica de <i>Pratylenchus</i> spp. ....	46
2.3.2. Identificação molecular das populações/espécies de <i>Pratylenchus</i> .....	51
2.4. Discussão .....	51
2.5. Conclusões.....	55
Referências bibliográficas. ....	56
<b>Capítulo 3. Patogenicidade e nível de dano e perda por <i>Pratylenchus zae</i> na cultura do arroz.</b>	
Resumo .....	62
Abstract.....	63
3.1. Introdução.....	64
3.2. Material e métodos.....	66
3.2.1. Reação de linhagens e cultivares de arroz a <i>Pratylenchus zae</i> em casa de vegetação .....	66
3.2.2. Avaliação da patogenicidade de diferentes populações de <i>Pratylenchus zae</i> em linhagens e cultivares de arroz em casa de vegetação .....	67
3.2.3. Avaliação do nível de dano causado por <i>Pratylenchus zae</i> em plantas de arroz em casa de vegetação. ....	67
3.2.4. Avaliação do nível de dano e perda na produção de arroz causadas por <i>Pratylenchus zae</i> em campo .....	68
3.3. Resultados.....	70
3.3.1. Reação de linhagens e cultivares de arroz a <i>Pratylenchus zae</i> em casa de vegetação.....	70
3.3.2. Avaliação da patogenicidade de diferentes populações de <i>Pratylenchus zae</i> em linhagens e cultivares de arroz em casa de vegetação.....	71
3.3.3. Avaliação do nível de dano causado por <i>Pratylenchus zae</i> em plantas de arroz em casa de vegetação. ....	71
3.3.4. Avaliação do nível de dano e perda causadas por <i>Pratylenchus zae</i> em plantas de arroz em campo .....	74
3.4. Discussão .....	78
3.5. Conclusões.....	84
Referências bibliográficas.....	85

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Produção de arroz por Estado brasileiro.....16
- Figura 2.** Ciclo de vida de *Pratylenchus* spp.....22
- Figura 3.** (A – B) Cilindros de cenoura preparados em capela de fluxo e mantidos em BODs. (C) Manutenção das populações de *Pratylenchus* em plantas de cana de açúcar em casa de vegetação.....46
- Figura 4.** Principais caracteres morfológicos para identificação de *Pratylenchus brachyurus*. A) Fotomicrografia da região labial com os anéis da região labial, mais estreita que o diâmetro do corpo, exibindo o estilete com nódulos basais esféricos (seta). B) Fotomicrografia da fêmea, exibindo a posição da vulva mais na porção terminal do corpo (seta). (C - F) Cauda hemisférica com término liso, característica da espécie e suas variações na forma do término da cauda.....47
- Figura 5.** Principais caracteres morfológicos para identificação de *Pratylenchus zaeae*. A) Fotomicrografia da região labial contínua com o contorno do corpo e nódulos do estilete achatados (setas), B) Fotomicrografia da fêmea, indicando a posição da vulva mais ao meio do corpo (seta). (C - F) Cauda subaguda com término liso predominante na espécie e suas variações na forma do término da cauda.....48
- Figura 6.** **Figura 6.** Análise multivariada utilizando componentes principais (ACP) para as variáveis, comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável “a” (comprimento do corpo/menor largura do corpo) e variável (b’) (distância da extremidade anterior ao final do esôfago), para cinco populações de *Pratylenchus brachyurus*.....49
- Figura 7.** Análise multivariada utilizando componentes principais (ACP) para as variáveis, comprimento do corpo, variável (b’) (distância da extremidade anterior ao final do esôfago), variável (c) (comprimento do corpo/comprimento da cauda) e V% = distância da região labial à vulva como percentagem do comprimento total do corpo, para sete populações de *Pratylenchus zaeae*.....49
- Figura 8.** Análise multivariada utilizando componentes principais (ACP) para as variáveis, comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a)(comprimento do corpo/menor largura do corpo)e V% = distância da região labial à vulva como percentagem do comprimento total do corpo, para sete populações de *Pratylenchus zaeae* e cinco populações de *P. brachyurus*, mostrando a separação em dois grupos distintos.....49
- Figura 9.** Perfis de amplificação de DNA genômico de populações de *Pratylenchus brachyurus* (267pb) e *Pratylenchus zaeae* (250pb) obtidas de diferentes estados/localidades no Brasil. Populações: Pb1(Morrinhos - GO); Pb2 (Palotina - PR); Pb3 (Paraúna - GO); Pb4 (Rio Verde - GO); Pb5 (Sinop – MT); Pz1 (Arari – MA); Pz2 (Duerê – TO); Pz3 (Goiânia – GO); Pz4 (Igarapé – MA); Pz5 (Ipameri – GO); Pz6 (Itapecuru – MA); Pz7 (Palotina – PR); Pz8 (Paraúna – GO) e Pz9 (União do Sul – MT). M= marcador molecular 1kb Plus Invitrogen.....53

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Fitonematoides associados a cultura de arroz.....	19
<b>Tabela 2.</b> Algumas das hospedeiras conhecidas de <i>Pratylenchus</i> spp.....	23
<b>Tabela 3.</b> Números de amostras por Estado e Município em diferentes culturas.....	42
<b>Tabela 4.</b> Primers espécie-específicos para <i>Pratylenchus brachyurus</i> : 18S Forward (Boutkira, 2002) e ACM7Rreverse (Machado et al., 2007); para <i>P. zaeae</i> : rDNA Forward (Vrain et al., 1992) e Praty-R Reverse (Uehara et al., 2001); e para <i>P. parazeae</i> : PpzF e PpzR (Wang et al., 2015).....	46
<b>Tabela 5.</b> Estudo morfométrico de cinco populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> obtidas de diferentes localidades no cerrado brasileiro, em relação ao comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável “a” (comprimento do corpo/maior largura do corpo) e V% = distância da região labial à vulva como percentagem do comprimento total do corpo.....	50
<b>Tabela 6.</b> Estudo morfométrico de sete populações de <i>Pratylenchus zaeae</i> obtidas de localidades diferentes no cerrado brasileiro, em relação ao comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável “a” (comprimento do corpo/maior largura do corpo) e V% = distância da região labial à vulva como percentagem do comprimento total do corpo.....	51
<b>Tabela 7.</b> Espécies e populações de <i>Pratylenchus</i> identificadas nas 16 localidades amostradas nos estados do Maranhão, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e Paraná.....	54
<b>Tabela 8.</b> Histórico de plantio da área experimental nas safras 2010/2011 – 2017/2018.....	71
<b>Tabela 9.</b> Avaliação da hospedabilidade de linhagens e cultivares de arroz em relação a <i>Pratylenchus zaeae</i> em casa de vegetação.....	71
<b>Tabela 10.</b> Avaliação do fator de reprodução de sete populações de <i>Pratylenchus zaeae</i> oriundas do cerrado brasileiro em três genótipos de arroz e plantas testemunhas de suscetibilidade.....	74
<b>Tabela 11.</b> Altura média das plantas (cm) e número médio de perfilhos em plantas das linhagens de arroz AB 092002 e AB 092014 aos 90 dias da inoculação com cinco níveis de inóculo de <i>Pratylenchus zaeae</i> em casa de vegetação. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Ano 2018.....	77
<b>Tabela 12.</b> Variáveis agronomicas de plantas e, de reproducao de nematoides em plantas das linhagens de arroz AB 092002 e AB 092014 aos 120 dias da inoculação com cinco níveis de inóculo de <i>Pratylenchus zaeae</i> em casa de vegetação. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Ano 2018.....	78
<b>Tabela 13.</b> Avaliação de danos e perdas em genótipos de arroz causadas por <i>Pratylenchus zaeae</i> em campo. Embrapa Arroz e Feijão. Safra 2017/2018.....	79

## **Nematoide das Lesões Radiculares (*Pratylenchus* spp.) no Cerrado Brasileiro com Ênfase nos Danos Causados à Cultura do Arroz**

**Resumo**—Nos últimos anos, os nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) têm causado danos elevados e crescentes, além de perdas econômicas preocupantes em diversas culturas e em várias regiões do Brasil, especialmente no Cerrado e principalmente nas culturas da soja, feijão, milho, algodão e pastagens. As causas desse aumento da importância econômica ainda não estão esclarecidas e necessitam ser investigadas, entretanto devem estar relacionadas com a adoção de novos sistemas de produção. No sistema de arroz de terras altas, o uso de genótipos melhorados tornou o arroz uma cultura importante no cerrado, deixando de ser cultivado apenas nas áreas recém desmatadas, onde geralmente se adota baixo nível de tecnologia, para participar de sistemas de produção mais tecnificados, como os sistemas de integração lavoura-pecuária. Porém, o arroz é hospedeiro de diversos nematoides, onde vale destacar em especial, as espécies de *Pratylenchus*. Perdas estimadas de produções e rendimentos na cultura do arroz na ordem de 10% a 25% são relatadas em alguns países causadas por nematoides. Apesar desses relatos, os danos de *Pratylenchus* spp. em vários sistemas agrícolas ainda não foram bem caracterizados cientificamente, em especial no cerrado brasileiro. Mais informações quanto aos danos causados por essas espécies em relação a cultura do arroz se revestem de grande importância, por se tratar de uma cultura de valor econômico e boa opção de utilização em programas de rotação/sucessão de culturas em novos sistemas de produção, economicamente produtivos e sustentáveis, visando o controle de nematoides. Com base no exposto, se faz necessário realizar um levantamento das espécies de nematoides das lesões radiculares associadas a cultura do arroz, soja, milho e feijão em plantios do Brasil Central, avaliando a reação e os níveis populacionais de *Pratylenchus* spp. causadores de danos em cultivares de arroz comercializadas, de forma a contribuir com os programas de rotação/sucessão de culturas na aplicação do manejo integrado de nematoides no cerrado brasileiro. O estudo de levantamento detectou em todas as amostras *P. brachyurus* e *P. zae* como as espécies predominantes. Resultados a campo e em casa de vegetação confirmaram a boa hospedabilidade e os danos em genótipos de arroz causados por *P. zae* e *P. brachyurus*, em especial por *P. zae*, com perdas na produtividade em torno de 3,38% – 30,45% a depender da característica de tolerância dos genótipos.

**Palavras - chave:** *Pratylenchus* spp., danos, perdas econômicas, *Oryza sativa*.

## **Root Lesion Nematode (*Pratylenchus* spp.) in the Brazilian Cerrado with Emphasis in Damages on the Rice Crop**

**Abstract** - In recent years, root lesion nematodes (genus *Pratylenchus*) have been the cause of high and increasing damages, as well as to economic losses of great concern in several crops, in various growing regions of Brazil, especially in the Cerrado, mainly in soybean, common bean, corn, cotton and pastures. The causes for this increase in economic importance are not yet clear and need to be investigated, but can be related to the adoption of new cropping systems. In the upland rice system, the use of improved genotypes has made rice an important crop in the Cerrado, and it is no longer cultivated in newly deforested areas, where low technology is generally used, to participate in more advanced cropping systems, such as crop-livestock integrated systems. However, rice is host to several nematodes, where *Pratylenchus* species are particularly noteworthy. Estimated rice yield losses due to nematodes in the order of 10% to 25% are reported in some countries. Despite these reports, the damage by *Pratylenchus* spp. in several agricultural systems has not yet been scientifically characterized, especially in the Brazilian Cerrado. Additional information on the damage caused by these nematodes to the rice crop is of great importance because it is a cash value crop and a suitable option for use in crop rotation/succession programs in new cropping systems economically productive and sustainable, aiming the control of nematodes. Based on the above, it is necessary to perform a survey of species of root lesion nematodes associated with rice, soybean, corn and bean cultivation in Central Brazil, in a way to evaluate host reaction and the population levels of *Pratylenchus* spp. causing damage in commercial rice cultivars, to contribute to crop rotation/succession programs in order to improve the integrated nematode management in the Brazilian Cerrado. The survey study detected in all samples *P. brachyurus* and *P. zaeae* as the predominant species. Field and greenhouse results confirmed the rice plant as a good host and damage in rice genotypes caused by *P. zaeae* and *P. brachyurus*, especially *P. zaeae*, with crop losses around 3.38% - 30.45% depending on the tolerance characteristics of the genotypes.

**Key - words:** *Pratylenchus* spp., damages, economic losses, *Oryza sativa*.

## INTRODUÇÃO

O arroz (*Oriza sativa* L.) é uma gramínea anual, considerada alimento básico para 2,4 bilhões de pessoas e, segundo estimativas, até 2050 haverá demanda para atender o dobro desta população (Alonço, 2006). Os grandes países produtores não dispõem de área agriculturável que permita a expansão da cultura, buscando atender a maior demanda pelo aumento da produtividade (Freitas, 2007). O arroz tem sua origem e sua maior produção no continente asiático, seguida das Américas, África, Europa e Oceania. O consumo também está concentrado nos maiores países produtores, como também é baixo o nível de transação internacional (Embrapa, 2012). A produção mundial é de cerca de 751 milhões de toneladas (Fao, 2014) sendo a China o maior produtor com 197 milhões de toneladas, seguido pela Índia (144 milhões de toneladas) e Indonésia (66 milhões de toneladas), ocupando o Brasil a nona posição com a produção de quase 12 milhões de toneladas (Fao, 2014; Irri, 2014; Usda 2015).

No Brasil, a região Sul se destaca com os estados de maior produção, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor de arroz, seguido de Santa Catarina (Conab, 2018). O arroz no Brasil é cultivado em dois sistemas básicos de produção: arroz irrigado, predominante nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e parte do Tocantins e, o arroz de terras altas com semeadura principalmente nos Estados do Mato Grosso, Maranhão, Pará, Goiás e a outra parte do Tocantins.

No sistema de arroz de terras altas, em especial no cerrado brasileiro, o uso de genótipos melhorados tornou o arroz uma cultura importante (Wander, 2006), deixando de ser cultivado apenas nas áreas recém desmatadas, onde geralmente se adota baixo nível de tecnologia, para participar de sistemas de produção mais tecnificados, como os sistemas de integração lavoura-pecuária. Neste sistema, associa-se a produção de grãos como arroz e milho com a produção animal na mesma área, em plantio simultâneo ou rotacionado com pastagens dos gêneros *Panicum* e *Brachiaria*. Esse sistema permite o uso racional de insumos, máquinas e a diversificação da produção (Karametal., 2009; Macedo, 2009). A produtividade do arroz de terras altas pode chegar a 4.000 kg/ha quando as condições climáticas são favoráveis, as cultivares são adaptadas para o local e o manejo fitotécnico é adequado (Guimarães et al., 1996, 2003a, 2003b).

A cultura do arroz de terras altas, também chamada de sequeiro, é baseada no emprego de cultivares pouco exigentes em insumos e tolerantes a solos ácidos, que tiveram papel importante durante o processo de ocupação agrícola dos cerrados, iniciado

na década de 1960 (Ferreira e Villar, 2003). No estado de Mato Grosso, a cultura do arroz ainda é considerada desbravadora, apesar dos avanços tecnológicos alcançados nos últimos anos. O Brasil é o país que apresenta a maior área cultivada com arroz de terras altas (Crusciol et al., 1999a), e a maior parte dessa área está concentrada no cerrado. A produção oscilante de arroz no cerrado deve-se além dos solos pobres e ácidos, a outros fatores, como a baixa capacidade de retenção de água, a irregularidades na distribuição das precipitações pluviais, a utilização de materiais não adaptados e práticas culturais inadequadas (Crusciol et al., 1999b). Embora o cultivo de arroz de terras altas represente cerca de 27,32% da área total cultivada no Brasil, o mesmo contribui com apenas 10,76% da produção nacional (Conab, 2018).

A cultura é afetada por fungos e nematoides que reduzem a qualidade dos grãos e a produtividade. Mais de uma centena de espécies de nematoides têm sido relatadas em arroz de sequeiro e alagado em muitos países (Bridge et al., 2005). Algumas espécies têm sido observadas no sistema de sequeiro ou no sistema alagado, mas poucas são encontradas em ambas as situações. As pesquisas têm demonstrado que um número relativamente baixo de espécies estão adaptadas às condições permanentemente alagadas. Quando o campo é apenas temporariamente inundado, o número de espécies presentes tende a ser maior (Fortuner e Merny, 1979). Dentre elas, *Pratylenchus* spp. são reconhecidas atualmente como um dos maiores problemas nas culturas da soja, milho, feijão, algodão, sorgo e de diversas gramíneas forrageiras, além de vários genótipos de girassol e milheto. Considerando os impactos econômicos mundiais para diferentes culturas agrícolas, nematoides do gênero *Pratylenchus* ocupam o segundo lugar em importância entre todos os gêneros de fitonematoides (Goulart, 2008).

*Pratylenchus* spp. são fitonematoides polípagos e estão associados principalmente às gramíneas como a cana de açúcar, milho, sorgo e braquiárias (Motalaote et al., 1987; Inomoto et al., 2007; Barbosa et al., 2013), mas também parasitam outras plantas como por exemplo o algodão e a soja (Schmitt e Barker, 1981; Machado et al., 2012). É um endoparasita migrador que migra através ou entre as células do córtex, alimentando-se do conteúdo celular, destruindo as células e causando lesões necróticas ao longo das raízes que podem matar todo sistema radicular quando ocorre em alta infestação (Lordello, 1984).

Levantamentos realizados em áreas de plantio de algodão e soja demonstraram que *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans-Stekhoven, 1941 foi o fitonematoide mais frequente, com frequências de 94% a 98% das amostras coletadas no

estado de Mato Grosso (Silva et al., 2004; Ribeiro et al., 2010). Uma característica ainda pouco estudada em *P. brachyurus* é a diferença de agressividade dos isolados. Machado et al. (2007a) demonstraram diferença de agressividade entre dois isolados de *P. brachyurus*, pela avaliação da reprodução do nematoide em raízes de algodoeiro. Siqueira (2007), trabalhando com feijão caupi, também demonstrou diferença de agressividade entre isolados. Considerando a importância da cultura do arroz para o cerrado brasileiro e a ampla distribuição de *Pratylenchus* spp., informações sobre a reação de cultivares de arroz a seus diferentes isolados são valiosas para seu manejo.

Perdas estimadas de produções e rendimentos na cultura do arroz por nematoides na ordem de 10% a 25% são relatadas em alguns países (Sasser e Freckman, 1987). Apesar desses relatos, os danos por *Pratylenchus* spp. em vários sistemas agrícolas ainda não foram bem caracterizados cientificamente, em especial no cerrado brasileiro. Contudo, há uma lacuna muito grande de informações a respeito da reação de diferentes genótipos de arroz aos nematoides *Pratylenchus* spp., especialmente daqueles cultivados no Brasil.

Danos econômicos causados por nematoides do gênero *Pratylenchus* já foram relatados em estudos com algodão, feijão caupi, trigo, arroz, milho, feijão, soja e sorgo (Lindsey e Cairns, 1971; Gallaher et al., 1988; Plowright et al., 1990; Nicol 1999; Siqueira e Inomoto, 2008; Inomoto et al., 2011; Machado et al., 2012). A quantificação desses danos ainda é pouco estudada, e em alguns casos ocorrem outros patógenos associados que confundem os sintomas e causam danos juntamente com o nematoide como, por exemplo, fungos do gênero *Fusarium* (Hajihassani et al., 2013). A falta de informações quanto aos danos causados por essas espécies na cultura do arroz se reveste de grande importância, por se tratar de uma cultura de valor econômico e boa opção de utilização em programas de rotação/sucessão de culturas em novos sistemas de produção economicamente produtivos e sustentáveis, visando o controle de nematoides. Com base no exposto, se fez necessário realizar um levantamento das espécies de nematoides das lesões radiculares associadas à cultura do arroz, soja, milho e feijão em plantios do Brasil Central, avaliando a reação e os níveis populacionais de *Pratylenchus zae* causadores de danos em cultivares de arroz comercializadas, de forma a contribuir com os programas de rotação/sucessão de culturas na aplicação do manejo integrado de nematoides no cerrado brasileiro.

# CAPÍTULO 1

---

## A CULTURA DO ARROZ E OS NEMATOIDES DAS LESÕES RADICULARES (*Pratylenchus* spp.)

## 1.1. A cultura do arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das espécies de grande relevância cultivadas no mundo, sendo plantada em todos os continentes, fazendo parte da dieta básica da metade da população mundial (Schmidt, 2009). O gênero *Oryza* Linnaeus proporciona maior oxigenação e melhores condições de flutuação, pertence ao domínio Eukaryota, reino Plantae, divisão Magnoliophyta (angiosperma), classe Liliopsida (monocotiledônea), ordem Poales, família Poaceae (tribo das gramíneas Oryzaceae). Esse gênero possui 23 espécies, porém, apenas duas foram domesticadas: *Oryza sativa* (arroz asiático) e *Oryza glaberrima* Steud (arroz africano) (Sweeney et al., 2007). As espécies do gênero *Oryza* podem ser perenes ou anuais, presentes na Ásia, Europa, Austrália e Américas do Sul, Central e do Norte, nos tipos diplóide ( $2n=24$ ) e tetraplóide ( $4n=48$ ) (Epagri, 2002). Essa cultura demonstra grande capacidade de adaptação ecológica entre suas espécies a diferentes condições climáticas e de solo (Vaughan et al., 2003).

Em primeiro lugar tanto em cultivo quanto em consumo estão os países asiáticos (China, Índia, Indonésia, Bangladesh, Vietnã, Myanmar, Tailândia, Filipinas, Japão, Paquistão, Camboja, República da Coreia, Nepal e Sri Lanka) correspondendo a 90% de todo arroz produzido no mundo (Fao, 2014). A China é o maior produtor (197 milhões de toneladas), seguida pela Índia (144 milhões de toneladas) e Indonésia (66 milhões de toneladas) (Irri, 2014; Usda, 2015). A América Latina ocupa o segundo lugar em produção e o terceiro em consumo em termos de continente, sendo o Brasil o nono maior produtor, décimo em consumo e oitavo em exportação mundial (Fao, 2014; Usda, 2015).

Essa é a terceira maior cultura de cereais do mundo, seguindo-se ao milho e o trigo. Possui dois grandes ecossistemas principais para a cultura: de várzeas (irrigado por inundação controlada) e de terras altas (sequeiro). É uma gramínea altamente adaptada ao meio aquático devido a presença de aerênquima, um tecido com numerosos espaços intercelulares no colmo e nas raízes da planta, proporcionando mais oxigenação. Para um maior potencial produtivo a temperatura ideal fica entre 24 e 30 ° C, além de alta radiação solar no caso do solo inundado, já que a disponibilidade de água não é fator limitante. O arroz tem o ciclo de desenvolvimento dividido em três principais fases: plântula, vegetativa e reprodutiva. Cada fase tem duração dependente da cultivar, época de semeadura, região de cultivo e fertilidade do solo. Para as cultivares plantadas em solo inundado o ciclo varia de 100 a 140 dias, e para as cultivares de sequeiro o ciclo é de 110 a 155 dias (Agrolink, 2016a).

## 1.2. Importância econômica

O arroz (*Oryza sativa*) constitui a alimentação básica para cerca de 2,4 bilhões de pessoas, sendo cultivado em todos os continentes. Sua importância não é apenas econômica, mas também social (Ageitec, 2018). Em torno de 165 milhões de hectares são cultivados no mundo com produção mundial de cerca de 751 milhões de toneladas (Fao, 2014).

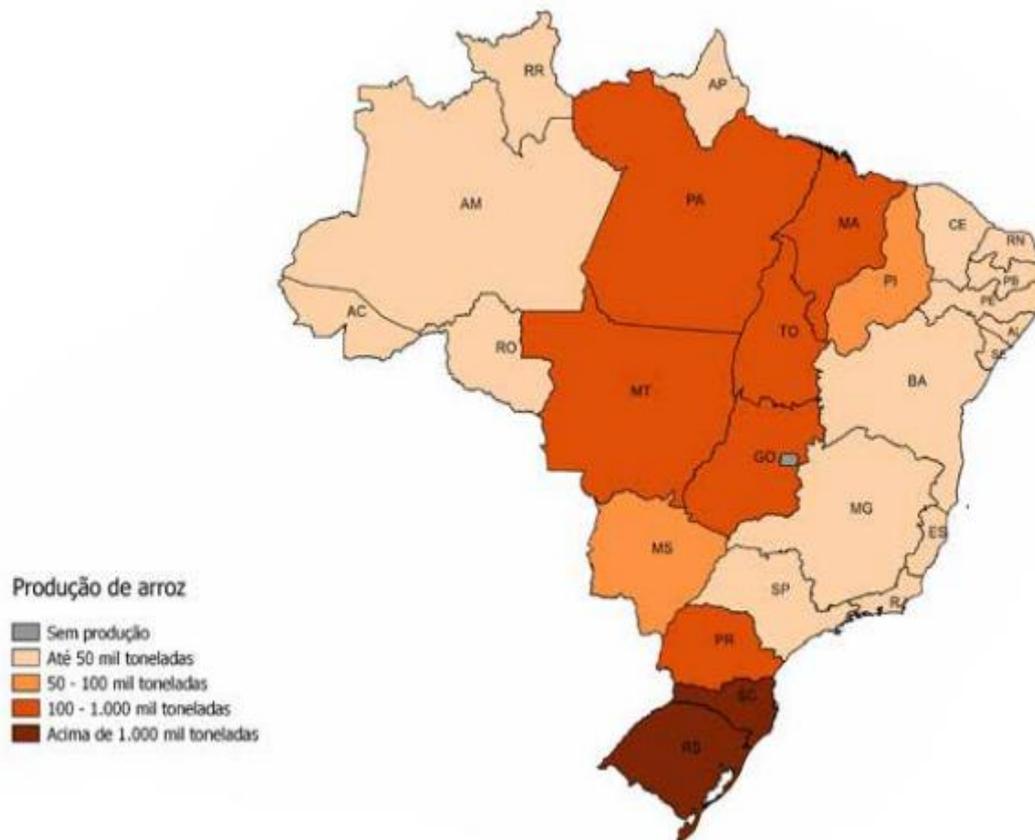
É o cultivo de maior importância para as populações de nações em desenvolvimento, como as pertencentes ao continente Asiático, em especial a China, Índia, Indonésia, Vietnã e Tailândia, responsáveis por mais de 60% da produção mundial (Instituto Cepa/SC, 2010).

O consumo mundial médio é de cerca de 60 kg/ano por pessoa. A Ásia é o maior consumidor, com consumo médio entre 100 e 150 kg/ano por pessoa, alimentando mais de 520 milhões de pessoas em situação precária nesses países (Irri, 2014). Na América Latina o consumo médio é de 30 kg/ano por pessoa. Já o Brasil se destaca com consumo médio de 45kg/ano por pessoa, atingindo a décima colocação mundial em consumo com 7,8 milhões de toneladas (arroz com casca) (Fao, 2014; Usda, 2015).

No Japão, por exemplo, o arroz além de consumido *in natura*, também é utilizado na fabricação do saquê, uma bebida alcoólica, e na fabricação de vinagre, já a palha de arroz é usada na confecção de esteiras, calçados e cestas. Em outras partes do mundo e principalmente no Ocidente, a palha de arroz tem sido usado na produção de ração animal, na fermentação de bebidas nas indústrias, e como fertilizante e cobertura em plantações na agricultura (Agrolink, 2016b).

## 1.3. O Cultivo do arroz no Brasil

O Brasil, segundo alguns estudos, foi o primeiro do continente americano a cultivar o arroz. Há relatos de amostras de espécies selvagens em áreas alagadas do Amazonas no período da descoberta do país, porém seu cultivo racional data de meados do século XVIII, sendo um grande exportador até metade do século XIX (Embrapa Arroz e Feijão, 2008). O país é o maior produtor e consumidor de arroz fora da Ásia, com 1,8% da produção mundial de arroz e 52% da produção da América do Sul (Azambuja et al., 2004). Os estados produtores são: Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais, Maranhão, Santa Catarina, Goiás, Tocantins, São Paulo e Mato Grosso do Sul (Conab, 2018) (Figura 1).



**Figura1.** Produção de arroz por Estado brasileiro (Conab, 2018)

Segundo pesquisa realizada pela Conab são previstas para a cultura do arroz, na safra 2018/19, uma área plantada no intervalo entre 1.829,9 e 1.963,3 milhões de hectares, com produtividade de 6.237 kg/ha, e produção estimada entre 11 e 11,8 milhões de toneladas. A área irrigada prevista será de 1.445,3 milhões hectares e do arroz de sequeiro, estimada em 518 milhões hectares (Conab, 2018). O Brasil ocupa a oitava posição como exportador do grão mesmo tendo grande parte da sua produção destinada ao mercado interno. Alguns dos principais importadores de arroz são a Arábia Saudita, China, Estados Unidos e Irã (Fao, 2014; Usda, 2015).

### 1.3.1. Arroz irrigado

O sistema irrigado é responsável por 89,23% da produção nacional, utilizando 72,67% da área destinada ao cultivo de arroz, com produtividade de 39,36% (em kg/ha), sendo considerado sistema de baixa rentabilidade devido ao alto custo de produção e distorções do mercado. É um sistema de cultivo que não é tão dependente das condições climáticas como o cultivo de sequeiro. O cultivo irrigado extensivo é predominante na

região Sul, com destaque nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina via inundação, adotado por médios e grandes produtores, onde praticam rotação compastagem. O cultivo de arroz que utiliza irrigação por aspersão é caracterizado pelo elevado uso de tecnologia e intenso uso de solo com rotação de cultura (Ageitec, 2018).

#### 1.3.2. Arroz de sequeiro

A maior área de cultivo de arroz de sequeiro (terras altas) está concentrado no cerrado (Crusciol et al., 1999a). O arroz de sequeiro se destacou na ocupação agrícola do cerrado justamente por ser tolerante a todas estas características mencionados dos solos do cerrado, entretanto, seu cultivo em sequeiro é considerado de alto risco, uma vez que a ocorrência de veranicos resultam em baixa produtividade. O cultivo de sequeiro é caracterizado pelo baixo custo de produção devido a baixa adoção de práticas (incluindo plantios tardios) e sua irrigação depende basicamente das chuvas. Cerca de 27,32% da área de plantio de arroz do país é cultivada como arroz de sequeiro com uma produção de 10,76% do total da área plantada e produtividade de 60,63kg/ha (Conab, 2018). A instabilidade climática no período de cultivo do arroz, as pragas e doenças fazem da cultura do arroz "uma cultura de alto risco" (Agrolink, 2016a; Conab, 2018).

#### 1.4. Sanidade na cultura do arroz

As doenças causadas por fungos são os principais problemas da oriziculturamundial (Prabhu et al., 2006). Brusone causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* Cav. Kawakami, 1901 é considerada a doença fúngica mais destrutiva na cultura do arroz e ocorre em todo território brasileiro, porém com prejuízos maiores identificados em cultivos de terras altas (na Região Centro-Oeste), podendo comprometer até 100% da produção (Santos et al., 2002). A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan, 1900) Shoemaker, 1959, tem sido considerada a segunda doença mais importante para a cultura do arroz na maioria dos países, causando 12% a 30% de danos na massa dos grãos e de 18% a 22% no número de grãos cheios por panícula (Prabhu et al., 1995). Outras doenças fúngicas relatadas em arroz são: mancha estreita de folha (*Cercospora oryzae* Miyake, 1910), a escaldadura (*Monographella albescens* Thüm, 1889) Parkinson e Booth, 1981, a mancha marrom (*Helminthosporium oryzae* Breda de Haan, 1900), a mancha de grãos [*Phoma sorghina*, *Drechslera oryzae* (Breda de Haan, 1900) Subram. & B.L. Jain, 1966, *Curvularialunata* (Wakker, 1898) Boedijn, 1933, *Nigrosporaoryzae* (Berk. & Broome, 1873) Petch, 1924, *Fusarium* Link, 1809], podridão

da bainha [*Sarocladium oryzae* (Sawada, 1922), W. Gams & D. Hawksw, 1976], mancha de alternária (*Alternaria padwickii* Ganguly, 1948) M.B. Ellis, 1971, queima das bainhas (*Rhizoctonia solani* Kühn, 1858), Carvão do grão (*Tilletia barclayana* (Bref.) Sacc. & P. Syd., 1899) (Embrapa, 2014). Dentre as doenças bacterianas, destacam-se o crestamento bacteriano foliar causado pela bactéria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) (Ishiyama, 1922) Dye 1978, Swings et al., (1990) e a estria bacteriana da folha causada pela bactéria *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc) (Fang et al., 1957) Dye 1978. São endêmicas na Ásia e parte da África Ocidental e os sintomas aparecem em qualquer fase de desenvolvimento, ocorrendo principalmente em sistema de cultivo irrigado (Goto, 1992). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* é uma das doenças bacterianas mais graves no arroz, causando perdas de 20% a 75% da produção quando as condições são favoráveis (Ou, 1985). São doenças quarentenárias ausentes no Brasil (D.O.U, 2013). Outra bacteriose que ocorre em arroz é a podridão-marrom-das-bainhas, causada por *Pseudomonas fuscovaginae* Tanii, Miyajima and Akita, 1976 (Embrapa, 2014). O vírus RSNV (*Rice stripe necrosis virus* Fauquet and Thouvenel, 1983) transmitido pelo vetos *Polymyxa graminis* Ledingham, 1939, na safra de 2001/2002 foi uma preocupação à orizicultura gaúcha. Os sintomas são plântulas mortas, retorcimento de folhas e panículas e folhas com listras cloróticas (Maciel et al., 2006).

#### 1.5. Fitonematoides associados à cultura do arroz

Mais de 35 gêneros e 130 espécies de fitonematoides já foram relatados em arroz (Gerber et al., 1987), porém cerca de 29 são suspeitos de causarem perdas na cultura (Bridge et al., 2005) (Tabela1). As espécies de *Pratylenchus* Filipjev, 1936, encontradas no arroz são *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & S. Stekhoven, 1941, e *P. zae* Graham, 1951, (África e América do Sul), *P. Indicus* Das, 1960 (Índia), e *P. vulnus* Allen & Jenssen, 1951 (extremo Oriente (Luc et al., 2005)

#### 1.6. Nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus* Filipjev, 1936)

Em 1865 foi estudado um nematoide do gênero *Tylenchus* e denominado *Tylenchus obtusus*, porém as figuras e a descrição não foram suficientes para uma identificação específica. Em 1880 na Inglaterra, pela primeira vez, foi feita a descrição de uma espécie, denominada *Tylenchus pratensis* [= *Pratylenchus pratensis* (de Man, 1880) Filipjev, 1936], foi a primeira espécie a ser reconhecida de fato pela ciência e identificada por de Man (1880) (Lordello, 1984).

**Tabela 1.** Fitonematoides associados a cultura de arroz (Bridge et. al., 2005; Geraert, 2010; Villanueva et al., 1992; Prot et al., 1994).

<b>FITONEMATOIDES</b>	<b>AUTORIDADE</b>	<b>ECOSSISTEMA</b>
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	Christie, 1942	Terra altas, irrigado, terras baixas e águas profundas
<i>Ditylenchus angustus</i>	(Buther, 1913) Filipjev, 1936	Terras baixas e águas profundas
<i>Criconemoides</i>	Taylor, 1936	Terra altas, irrigado e terras baixas
<i>Hemicycliophora</i>	De Man, 1921	Terra altas
<i>Hemicriconemoides</i>	Chitwood & Birchfield, 1957	Terra altas
<i>Helicotylenchus</i>	Steiner, 1945	Terra altas / irrigado
<i>Heterodera</i> spp.	Rao & Jayaprakash, 1978	Terra altas e irrigado
<i>Hirschmanniella</i> spp.	Luc & Goodey, 1964	Irrigado, terras baixas e águas profundas
<i>Hoplolaimus indicus</i>	Daday, 1905	Terra altas / irrigado
<i>Meloidogyne</i> spp.	Goeldi, 1892	Terra altas, irrigado, terras baixas e águas profundas
<i>Pratylenchus</i> spp.	Filipjev, 1936	Terra altas
<i>Rotylenchulus</i>	Linford & Oliveira, 1940	Terra altas
<i>Rotylenchus</i>	Filipjev, 1936	Terra altas
<i>Tylenchorhynchus</i>	Cobb, 1913	Terra altas / irrigado
<i>Xiphinema</i>	Cobb, 1913	Terra altas

Após alguns anos, outra espécie *Tylenchus coffeae* [= *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898)] veio ao conhecimento por parasitar cafeeiro na ilha de Java, sendo demonstrada experimentalmente pela primeira vez sua patogenicidade. Em 1917, Cobb obteve *Tylenchus penetrans* [= *Pratylenchus penetrans* (Cobb, 1917) Filipjev & S. Stekhoven, 1941] de tubérculo de batata e raízes de algodoeiro e violetas nos Estados Unidos, e em 1919 encontrou *T. musicola* (= *P. coffeae*) de bananeira em Barbados, América Central (Cobb, 1917, 1919). No Hawaii foi descrita *T. brachyurus* Godfrey, 1929, como agente causal de uma doença grave e destrutiva em abacaxizeiro (Godfrey, 1929), mostrando pela primeira vez de forma detalhada os danos causados pelo parasitismo nas raízes. Os primeiros relatos a respeito do gênero no Brasil foi em 1928 com o artigo "Nematoides parasitas e semi-parasitas de diversas plantas do Brasil" (Rahm, 1928, 1929), no entanto o artigo menciona *Tylenchus coffeae*, *T. coffeae* var. *brevicauda* e *T. musicola* (= *Pratylenchus coffeae*) e *T. Penetrans* (= *P. penetrans*), encontrados em São Paulo em plantações de café, banana e laranja, no entanto, não encontraram espécimes machos e os que relataram foram em quantidade de um a três, o que não foi o suficiente para determinar e validar uma nova identificação, logo o trabalho tem importância meramente histórica (Loof, 1960; Café Filho e Huang, 1989). As espécies hoje conhecidas como pertencentes ao gênero *Pratylenchus*, em um primeiro momento foram incluídas no gênero *Tylenchus* Bastian, 1865, situação que mudou após publicação taxonômica (Baylis e Daubney, 1926), posteriormente foi estabelecido o gênero *Pratylenchus* para incluir tais espécies (Filipjev, 1936), que teve grande aceitação entre os nematologistas, porém ainda com algumas confusões. Portanto, com publicações de estudos mais detalhados na década de 1950 (Sher e Allen, 1953), a definição do gênero tornou-se mais segura e precisa (Thorne, 1961). Lordello em 1953, após o gênero *Pratylenchus* já estar proposto e consolidado, observou a presença desse nematoide enquanto realizava um estudo de levantamento de nematoides do solo em diversas regiões do estado de São Paulo em produções de abacaxi, arroz, batata e soja, e em algodão em uma amostra de algodão proveniente de Santa Cruz do Sul (RS). Logo após, uma nova espécie, *Pratylenchus steineri* parasita de batata, foi descrita (Lordello, Zamith e Boock, 1954), no entanto, hoje esta espécie é considerada sinonímia de *Pratylenchus brachyurus*.

Os nematoides do gênero *Pratylenchus* é conhecido popularmente como "nematoides das lesões radiculares" (Godfrey, 1929) devido ao sintoma de necrose que causa nas raízes de suas hospedeiras. Ele inclui 104 espécies (Gonzaga et al., 2016), das quais 12 espécies são de ampla distribuição geográfica, tanto em países de clima

temperado quanto de clima tropical (Luc, 1987) e estão associadas a danos econômicos maiores na agricultura, onde destacam-se: *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. penetrans*, *P. vulnus*, *P. zae* (presentes no Brasil) e *P. crenatus* Loof, 1960, *P. goodeyi* Sher & Allen, 1953, *P. scribneri* Steiner, 1943, *P. thornei* Sher & Allen, 1953 (quarentenários no Brasil) e ainda *P. neglectus* Rensch, 1924, *P. pratensis* de Man, 1880 e *P. loosi* Loof, 1960. Sua natureza polífaga faz com que parasitem uma vasta gama de hospedeiras de importância econômica, tais como: algodão, amendoim, arroz, batata, café, cana-de-açúcar, cereais, milho, soja, trigo, diversas ornamentais, fruteiras e forrageiras. Segundo Lordello (1981), o gênero *Pratylenchus* é o segundo de maior importância agrônômica no mundo e no Brasil, perdendo apenas para *Meloidogyne* (Lordello, 1981) e isso não está associado apenas a sua alta polifagia, mas também a sua fácil adaptação a diversos tipos de ambientes.

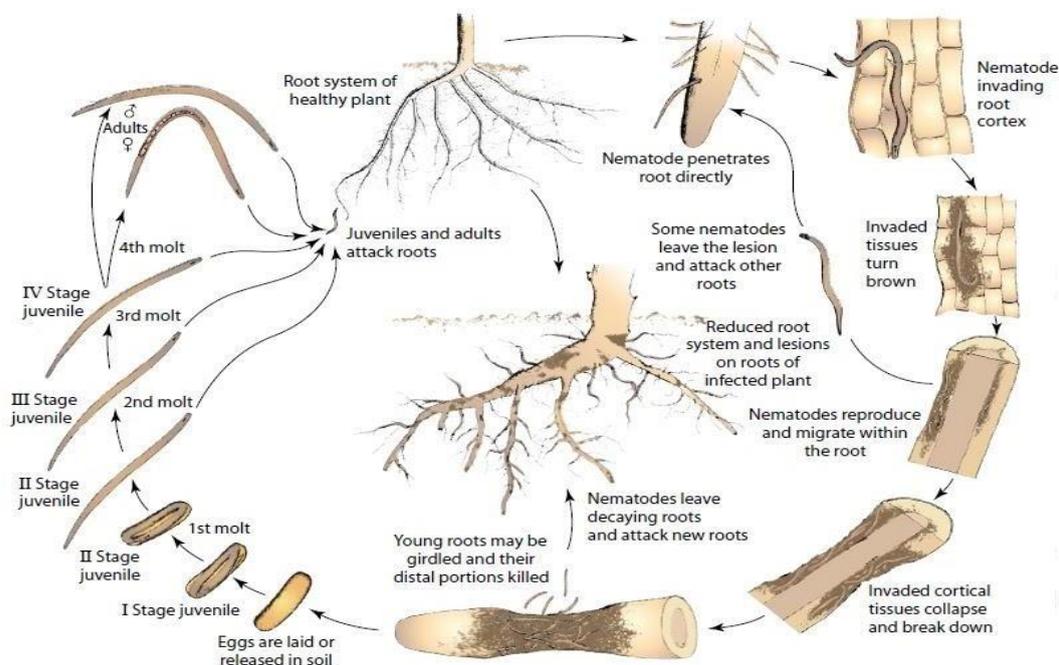
As espécies de *Pratylenchus* são parasitas obrigatórios, endoparasitas migratórios, que podem tanto se movimentar no solo, migrando de uma planta para outra, em órgãos vegetais subterrâneos como raízes, rizomas, túberas, tubérculos ou fruto hipógeo, mas também podem parasitar parte aérea, como estacas e folhas. São infectantes em qualquer estágio de desenvolvimento, movimentando-se inter ou intracelularmente. São organismos microscópicos com corpo filiforme, raramente excedem 0,9mm de comprimento, região labial baixa, no geral 4 linhas no campo lateral, glândulas esofagianas com sobreposição ventral sobre o intestino, e as fêmeas de todas as espécies possuem a vulva situada no terço posterior do corpo e são monodélficas e prodelfas. São encontrados isolados ou associados a microorganismos como fungos e bactérias, podendo causar redução no volume das raízes parasitadas por conta das necroses e sintomas reflexos na parte aérea.

#### 1.7. Ciclo de vida de *Pratylenchus* spp.

A reprodução dos *Pratylenchus* spp. pode ser por anfimixia quando os machos são abundantes na espécie, partenogênese mitótica ou partenogênese meiótica quando os machos são raros (Luc, 1987; Román e Triantaphyllou, 1969). O ciclo de vida tem duração entre 3 a 6 semanas do período de ovo a ovo, a depender de fatores ambientais como temperatura e umidade. O ciclo compreende o ovo, quatro estádios juvenis de (J1 a J4) e a fase adulta. As fêmeas podem depositar seus ovos no solo, porém é mais comum depositarem no interior dos tecidos vegetais. O juvenil de 1º estágio (J1) ocorre apenas no interior do ovo, onde passa por sua primeira ecdise seguindo ao estágio de J2, o qual

eclode do ovo. Após eclodir, os juvenis de J2 a J4 (que passam por ecdise entre um estágio e outro) e os adultos. Podem infectar a planta em qualquer momento do cultivo da cultura e migrar constantemente no tecido radicular ao parasitar uma raiz, entrando e saindo dela, no entanto, os adultos parecem ser mais eficazes no estabelecimento da infecção (Southards, 1968; Loof, 1990; Ferraz, 2006) (Figura 2).

Os nematoides penetram através da epiderme nos tecidos da planta e através do tecido subepidérmico parenquimático ou do córtex se movendo de uma célula para outra, adentrando nas paredes celulares. Também, penetram os tecidos corticais de raízes, produzindo cavidades ou túneis, resultando em lesões (Agris, 2005; Lindsey e Cairns, 1971).



**Figura 2.** Ciclo de vida de *Pratylenchus* spp. (Agris, 2005)

### 1.8. Classificação taxonômica de *Pratylenchus* spp.

Nos sistemas de classificação anteriores, Maggenti (1983 e 1991) e Lorenzen (1994), utilizaram relações filogenéticas entre nematoides com base em caracteres morfológicos. O sistema atual de classificação de nematoides segundo (De Ley e Blaxter, 2002) se baseia na junção de ferramentas da taxonomia tradicional (caracteres morfológicos) com a sistemática molecular para a construção de árvore filogenética conforme as relações filogenéticas entre nematoides com base em sequências do SSUrDNA. A posição taxonômica desse grupo segundo (De Ley e Blaxter, 2002):

Reino: Animalia.  
 Filo: Nematoda Potts, 1932.  
 Classe: Chromadorea Inglis, 1983  
 Subclasse: Chromadoria Pearce, 1942.  
 Ordem: Rhabditida Chitwood, 1933  
 Subordem: Tylenchina Thorne, 1949  
 Infraordem: Tylenchomorpha De Ley & Blaxter, 2002.  
 Superfamília: Tylenchoidea Orley, 1880.  
 Família: Pratylenchidae Thorne, 1949.  
 Subfamília: Pratylenchinae Thorne, 1949.  
 Gênero: *Pratylenchus* Filipjev, 1936.

#### 1.9. Plantas Hospedeiras de *Pratylenchus* spp.

O gênero *Pratylenchus*. possuem alto grau de polifagia atacando culturas de grande interesse agrônômico, sendo observado dentro do gênero, notória preferência por determinadas hospedeiras entre as espécies ( Tabela 2).

**Tabela 2.** Algumas das hospedeiras conhecidas de *Pratylenchus* spp.

Nome popular	Nome científico	Autoridade
Abacate	<i>Persea americana</i>	Miller
Abacaxi	<i>Ananas comosus</i>	(Linnaeus) Merrill
Algodão	<i>Gossypium</i> sp.	Linnaeus
Amendoim	<i>Arachis hypogaea</i>	Linnaeus
Arroz	<i>Oryza sativa</i>	Linnaeus
Aveia	<i>Avena sativa</i>	Linnaeus
Batata	<i>Solanum tuberosum</i>	Linnaeus
Batata-doce	<i>Ipomoea batatas</i>	(Linnaeus) Lamarck
Cacao	<i>Theobroma cacao</i>	Linnaeus
Café	<i>Coffea</i> sp.	Linnaeus
Cajú	<i>Anacardium occidentale</i>	Linnaeus
Cana-de-açúcar	<i>Saccharum officinarum</i>	Linnaeus
Cebola	<i>Allium cepa</i>	Linnaeus
Centeio	<i>Secale cereale</i>	Linnaeus
Cevada	<i>Hordeum vulgare</i>	Linnaeus
Citrus	Citrus sp.	Linnaeus
Coco	<i>Cocos nucifera</i>	Linnaeus
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> sp.	Charles Brutelle
Feijão	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Linnaeus
Girassol	<i>Helianthus annuus</i>	Linnaeus
Mandioca	<i>Manihot esculenta</i>	Linnaeus
Milho	<i>Zea mays</i>	Linnaeus
Morango	<i>Fragaria</i> sp.	Linnaeus
Soja	<i>Glycine max</i>	(Linnaeus) Merrill
Sorgo	<i>Sorghumbicolor</i>	Linnaeus
Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>	Linnaeus
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	Linnaeus
Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	Linnaeus

#### 1.10. Danos causados por *Pratylenchus* spp. e sua associação com microorganismos de solo.

Os danos por *Pratylenchus* spp. às raízes das plantas hospedeiras são causados por três tipos de ações: mecânicas - (devido à migração típica do nematoide no interior do córtex radicular); tóxicas - (devido a injeção no citoplasma de secreções esofagianas nas células parasitadas); e espoliativas - (retirada do conteúdo citoplasmático modificado pelo nematoide das células atacadas (Ferraz, 2006).

Os sintomas causados estão associados a podridões e necroses do sistema radicular das plantas parasitadas, tendo como resultado a redução das radículas chegando até a perda das raízes pivotantes. Na parte aérea podem ser observadas nas estações secas, clorose e murchamento, seguidos de perda na produção. Em casos de infecção mais severa pode ocorrer a desfolha total (Campos, 1999).

O fato da planta ser acometida por mais de um tipo de doença acarreta em grandes implicações na quantificação e diagnóstico dos danos, e na escolha da estratégia de controle que estará diretamente ligada ao nível das doenças na cultura (Johnson et al., 1986). A interação entre os patógenos, depende do inóculo inicial dos patógenos, das culturas e das cultivares em questão (Tu e Ford, 1971; Sikora e Carter, 1987; Weischer, 1993), mas também depende da combinação planta-patógeno e das condições climáticas (Campbell, 1990), e principalmente da temperatura (Reyes e Chadha, 1972). A presença de dois ou mais patógenos em uma mesma hospedeira é comum em muitos sistemas de produção (Kranz e Jörg, 1989). A interação destes patógenos podem ocorrer pelo fato dos nematoides provocarem feridas em suas hospedeiras que se tornam porta de entrada para parasitas oportunistas como fungos e bactérias, ou ao modificar a rizosfera facilitando o crescimento de outros patógenos, ou até mesmo por induzir alterações fisiológicas na hospedeira provocando uma "quebra da resistência" a certos patógenos (Bergeson, 1971).

#### 1.11. Manejo de *Pratylenchus* spp.

Para o manejo de fitonematoides é importante utilizar a associação de diferentes métodos de controle, desenvolvendo estratégias de manejo integrado afim de obter níveis populacionais em proporções que não causem danos (Tihohod, 1993).

Práticas integradas de manejo devem ser rigorosamente adotadas em áreas onde se explora a agricultura, sendo fundamental a aplicação de medidas que visem impedir a entrada e a consequente disseminação de nematoides (práticas fitossanitárias, leis e

quarentena, escolha de áreas livres de nematoides), adoção de estratégias e métodos para reduzir a população de nematoides de importância econômica, tais como: Métodos culturais (erradicação de plantas daninhas ou cultivadas atacadas por nematoides; plantas de cobertura, plantas antagonistas, plantas armadilhas e resíduos orgânicos; rotação ou sucessão de culturas etc.); Métodos genéticos (variedades resistentes ou tolerantes); Métodos químicos e/ou biológicos – aplicação de produtos formulados para redução do inóculo.

O controle de *Pratylenchus* spp. é uma tarefa muito difícil no campo. Medidas que visem impedir sua entrada são ineficazes para a maioria das espécies, uma vez que esses nematoides têm uma disseminação ampla em solos agricultáveis, mesmo em áreas nativas, sendo superados apenas pelos nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.).

Uma das práticas mais utilizadas é a rotação ou sucessão com culturas não hospedeiras, que apesar de se tratar de fitonematoides altamente polífagos, é um método que ainda assim apresenta bons resultados (Brown, 1987). Uma opção são plantas antagonistas como algumas espécies de crotalaria, que são eficientes, em produzir substâncias com ação nematicidas ou por impedirem o desenvolvimento no interior das plantas de *Pratylenchus* spp. quebrando o seu ciclo de vida reduzindo sua reprodução e multiplicação (Silva et al., 1989; Inomoto et al., 2008).

Estudos realizados por Debiasi et al. (2016) e Mendes et al. (2013) no Estado do Mato Grosso demonstraram que o alqueive mecânico (duas gradagens mais herbicida) e o cultivo de *Crotalaria spectabilis* Roth, *C. Ochroleuca* Linnaeus, *C. Juncea* Linnaeus, ou do consórcio *C. spectabilis* + milho 'ADR 300', durante a entressafra da soja, resultaram em redução da densidade populacional de *Pratylenchus brachyurus* no solo, porém durante o ciclo da soja, a população se multiplica ocorrendo aumento da população dos nematoides, de modo que após a colheita, as diferenças entre os manejos na entressafra tornam-se pequenas e os pesquisadores observaram que o cultivo da *C. spectabilis* na entressafra, solteira ou consorciada com o milho 'ADR 300', reduziram a população e os danos causados por *P. brachyurus* à soja.

O controle biológico nos últimos tempos vem sendo uma prática bastante utilizada no controle de nematoides. Há fungos inimigos naturais que ocorrem no solo que são estudados e isolados a partir de nematoides que são atacados, por exemplo fungos do gênero *Arthrobotrys* Corda, *Dactylaria* Saccardo, *Dactylella* Grove e *Monacrosporium* Oudemans (Mankau, 1980). Eles desenvolvem mecanismo de formação de armadilha, onde a hifa se adere a cutícula do nematoide para em seguida penetrar em seu corpo

(Dijksterhuis, 1990). Vários fungos podem controlar tanto juvenis quanto ovos e cistos, porém, são necessárias alternativas viáveis de aplicação e sobrevivência desses agentes no campo. Alguns desafios precisam ser vencidos, tais como detecção e isolamento de agentes que sejam eficientes para o controle biológico, testes *in vitro*, campo e casa de vegetação, condições de produção em massa para escala comercial (formulação), tempo de prateleira (validade), registro e patente, comercialização e entrega. Apesar de todas as dificuldades, no mercado há produtos com eficácia constatada, não apenas formulações com fungos, mas também com bactérias. O sucesso desses agentes microbianos depende de aspectos bióticos (interação com predadores naturais, danos a organismos não-alvos, competição com outros microrganismos, etc.) e abióticos (temperatura, incidência de raios solares, níveis da chuva e composição física e química da rizosfera (Stirling, 1991; Sikora e Hoffmann-Hergarten, 1993; Pierson e Weller, 1994; Duffy et al., 1996; Kerry e Bourne, 1996; Kerry, 1998; Davies e Spiegel, 2011).

A aplicação de nematicidas ou a combinação de nematicida mais matéria orgânica (Lordello et al., 1983; Novaretti, 1997; Orsi et al., 1998) é uma prática eficiente de controle, porém possui um custo relativamente elevado e alta toxicidade, atingindo não só os nematoides mas também os microrganismos com funções específicas na biota do solo, sendo ambientalmente incorreto (Freitas et al., 2001; Vilas Boas et al., 2002).

A resistência genética é considerada uma das melhores opções para o controle por ser uma alternativa compatível com outros métodos e não causar prejuízo ao meio ambiente. Entretanto, às vezes as plantas resistentes não possuem as características agrônomicas desejáveis e dificilmente a resistência contempla todos os tipos de patógenos. A resistência da planta é definida pela habilidade dela em inibir ou suprimir a reprodução do fitonematoide, resultando na dificuldade dos nematoides em penetrar nas raízes, pela incapacidade das fêmeas de alcançarem a maturidade e o alongamento do ciclo de vida (Ritzinger e Fancelli, 2006). São escassos os relatos de resistência em plantas a espécies *Pratylenchus*, porém alguns genótipos de plantas hospedeiras tem mostrado fatores de reprodução baixos, a exemplos na cultura do milho. O uso de resistência genética no controle de *Pratylenchus* por meio de melhoramento genético das cultivares é considerada desafiadora, uma vez que se trata de um nematoide altamente polífago e pouco especializado, de hábito endoparasita migrador, sendo a interação planta-patógeno pouco elucidada e de difícil observação, pois não se fixam na hospedeira e nem formam sítio de alimentação, movimentando-se inter e intracelularmente e das raízes para o solo e vice-versa (Goulart, 2008).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGEITEC - Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2018. Sistema de cultivo. <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000g1wcnzza02wx5ok0ha2lipwbeel46.html> . Consultado em 08/11/2018.
- AGROLINK. 2016a. Características do arroz. [https://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/informacoes/caracteristicas\\_361559.html](https://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/informacoes/caracteristicas_361559.html) Consultado em 27/09/2018.
- AGROLINK. 2016b. Importância econômica do arroz. [https://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/informacoes/importancia\\_361560.html](https://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/informacoes/importancia_361560.html) Consultado em 18/09/2018.
- ALONÇO. 2006. Importância Econômica, Agrícola e Alimentar. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/ArrozIrigadorasil/cap01.htm> Consultado em: 05/11/2018.
- AZAMBUJA, I. H. V.; VERNETII JR, F. J.; MAGALHAES JR, A. M. 2004. Aspectos socioeconômicos da produção do arroz. *In*: Gomes, A. S.; Magalhães Jr, A. M. (eds). Arroz irrigado no Sul do Brasil. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, Brasil. p. 23-44.
- BARBOSA, B. F. F.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, J. C.; SOARES, P. L. M.; RUAS, A. R.; CARVALHO, R. B. 2013. Aggressiveness of *Pratylenchus brachyurus* to sugar cane, compared with key nematode *P. zae*. *Nematropica*, v. 43, n. 1, p.119-130.
- BAYLIS, H. A., & DAUBNEY, R., 1926. A Synopsis of the Families and Genera of Nematoda. London
- BERGESON, G.B. 1971. Concepts of nematode-fungus associations in plant diseases complexes: a review. *Experimental Parasitology*, 32: 301-314.
- BRIDGE, J.; PLOWRIGHT, R. A.; PENG, D. 2005. Nematode parasites of rice. *In*: Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture – Second Edition (Luc, M., Sikora, R. A. and Bridge, J., eds). CABI Publishing, Wallingford, UK. CAB International. Pp. 87-130.
- BROWN, R.H. 1987. Control strategies in low-value crops. *In*: Brown, R.H. & Kerry, B.R. (Eds.). Principles and practice of nematode control in crops. Marrickville, Australia, Academic Press, p.351-82.
- CAFÉ FILHO, A. C.; HUANG, C. S. 1988. Nematoides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 13: 232-235.

- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. New York: John Wiley & Sons, 532p.
- CAMPOS, V. P. 1999. Manejo de doenças causadas por fitonematoides. Lavras: UFLA/FAEPE.
- COBB, N.A. 1917. A new parasitic nema found infesting cotton and potatoes. Journal of Agricultural Research, 11:27-33.
- COBB, N.A. 1919. A new nematode, *Tylenchu smusicolan*. sp. Said to cause a serious affection on the Bluggoe banana in Grenada. British West Indies Bull.17:179-82.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2017.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2018.
- CRUSCIOL, C. A. C.; MACHADO, J. R.; ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F. 1999a. Componentes de produção e produtividade de grãos de arroz de sequeiro em função do espaçamento e da densidade de semeadura. Scientia Agricola, 56 (1): 53-62.
- CRUSCIOL, C. A. C.; MACHADO, J. R.; ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F. 1999b. Matéria seca e absorção de nutrientes em função do espaçamento e da densidade de semeadura em arroz de terra alta. Scientia Agricola, 56 (1): 63-70.
- DAVIES, K.; SPIEGEL, Y. (Eds.) 2011. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms. New York: Springer Science + Business Media B.V., p. 311.
- DE LEY, P.; BLAXTER, M. 2002. Systematic Position and Phylogeny. In: LEE, D. L. (Ed) The Biology of Nematodes. Taylor & Francis, London and New York, 1–30.
- DE LEY, P.; BLAXTER, M. 2002. Systematic Position and Phylogeny. In: LEE, D. L. (Ed) The Biology of Nematodes. Taylor & Francis, London and New York, 1–30.
- DE MAN, J. G. 1884. Die frei in der reinen Erde und im süßen Wasser lebenden Nematoden der landischen Fauna. Leiden, E. J. Brill.
- DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; JUNIOR, E. U. R.; JUNIOR, A. A. B. 2016. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 51 (10): 1720-1728.
- DIJKSTERHIUS, J. 1990. Ultra structural study of adhesion and initial stages of infection of nematodes by conidia of *Drechmeria coniospora*. Mycological Research, 94: 1-8.
- DUFFY, B.K.; SIMON, A.; WELLER, D.M. 1996. Combination of *Trichoderma koningii* with fluorescent pseudomonads for control of take-all of wheat. Phytopathology, 86: 188– 194.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA ARROZ E FEIJÃO. 2008 [www.cnpaf.embrapa.br/arroz/historia.htm](http://www.cnpaf.embrapa.br/arroz/historia.htm) . Consultado em 06/10/2018.

- EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUARIA E EXTENSAO RURAL DE SANTA CATARINA. 2002. Arroz irrigado: sistema pré-germinado. Florianopolis, SC: EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão de Tecnologia de SC, p. 273.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. 2012. Sistemas de Produção. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. 2014. Doenças em arroz irrigado - Processo de produção integrada. p.14-32.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. Data base. <http://www.fao.org/faostat/>. Consultado em 12/11/2018.
- FERRAZ, L. C. C. B. 2006. O nematoide *Pratylenchus brachyurus* e a soja sob plantio direto. Revista Plantio Direto, 96: 23-27.
- FERREIRA, C. M.; VILLAR, P. M. 2003. Cultivo de Arroz de Terras Altas: Importância Econômica. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás (GO). <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/2003>. Consultado em 12/09/2018.
- FILIPJEV, I. N. 1936. On the classification of the Tylenchinae. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 3:80-2.
- FORTUNER, R.; MERNY, G. 1979. Root-parasitic nematodes of rice. Revue Nématologie, 2:79-102.
- FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. 2001. Introdução à Nematologia. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 84 p.
- FREITAS, T. F. S. 2007. Densidade de semeadura e adubação nitrogenada em cobertura na época de semeadura tardia de arroz irrigado. 68 f. Dissertação (mestrado em fitotecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Curso de Pós Graduação em Fitotecnia.
- GALLAHER, R.N.; DICKSON, D.W.; CORELLA, J. F.; HEWLETT, T.E. 1988. Tillage and multiple cropping systems and population dynamics of phytoparasitic nematodes. Journal of Nematology, 2 (1): 90-94.
- GERAERT, E. 2010. *Criconematidae of the world: identification of the family Criconematidae* (Nematoda). Gent: Academia Press.
- GERBER, K.; SMART, G. C. JR; ESSER, R. P. 1987. A comprehensive catalogue of plant parasitic nematodes associated with aquatic and wetland plants. Technical Bulletin 871. Agricultural Experiment Station, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville.

- GODFREY, G. H. 1929. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus* n. sp. *Phytopathology*, 19: 611-629.
- GONZAGA, V.; SANTOS, J. M. dos; MENDONÇA, R. S.; SANTOS, M. A. Gênero *Pratylenchus*. 2016. In: Claudio Marcelo Gonçalves de Oliveira; Maria Amélia dos Santos; Leonardo Humberto Silva e Castro. (Org.). *Diagnose de Fitonematoides*. 01 ed. Campinas: Millenium Editora Ltda, p. 71-99.
- GOTO, M. 1992. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. San Diego: Academic Press, 364p.
- GOULART, A. M. C. 2008. Aspectos gerais sobre nematoides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*). Planaltina: Embrapa Cerrados, 30 p. (Documentos 219).
- GUIMARÃES, E.P.; BORRERO, J.; OSPINA-REY, Y. 1996. Genetic diversity of upland rice germplasm distributed in Latin America. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31, n. 3:187-194.
- GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; BRESEGHELLO, F.; PEREIRA, J. A.; CASTRO, E. M. 2003a. Arroz de terras altas: espaçamento e densidade de semeadura. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, p. 6. Circular Técnica, 61.
- GUIMARÃES, G.L.; BUZETTI, S.; SILVA, E.C.; LAZARINI, E.; EUSTÁQUIO DE SÁ, M. 2003b. Culturas de inverno e pousio na sucessão da cultura da soja em plantio direto. *Acta Scientiarum Agronomy*, 25 (2): 339-344.
- HAJIHASSANI, A.; SMILEY, R. W.; AFSHAR, F. J. 2013. Effects of co-inoculation with *Pratylenchus thornei* and *Fusarium culmorum* on growth and yield of winter wheat. *Plant Disease*, 97 (11):1470-1477.
- INOMOTO, M. M.; MOTTA L. C. C.; MACHADO, A. C. Z.; SAZAKI, C. S. S. 2006. Reação de dez coberturas vegetais a *Pratylenchus brachyurus*. *Nematologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 2, p. 151-157.
- INOMOTO, M.M.; MACHADO, A.C.Z.; ANTEDOMÊNICO, S.R. 2007. Reação de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* a *Pratylenchus brachyurus*. *Fitopatologia Brasileira*, 32 (1): 341-344.
- INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, G. C. 2008. Avaliação em casa de vegetação do uso de sorgo, milho e crotalária no manejo de *Meloidogyne javanica*. *Tropical Plant Pathology*, 33 (2):125-129.
- INOMOTO, M. M.; SIQUEIRA, K. M. S.; MACHADO, A. C. Z. 2011. Sucessão de culturas sob pivô central para controle de fitonematoides: variação populacional, patogenicidade e estimativa de perdas. *Tropical Plant Pathology*, 36 (3): 178-185.

- INSTITUTO CEPA/EPAGRI. 2010. Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina. Florianópolis, 31: 82-97.
- IRRI: International Rice Research Institute (IRRI). 2014. World Rice Statistics Online <http://ricestat.irri.org>. Consultado em 20/03/2017.
- JOHNSON, K.B.; RADCLIFFE, E.B.; TENG, P.S. 1986. Effect of fructifying populations of *Alternaria solani*, *Verticillium dahliae*, and the potato leafhopper (*Empoasca fabae*) on potato yield. *Phytopathology*, 76:1046-1052.
- KARAM, D.; SILVA, J. A. A.; MAGALHÃES, P. C.; OLIVEIRA, M. F.; MOURÃO, S. A. 2009. Manejo das forrageiras dos gêneros *Brachiariae Panicum* consorciadas com o milho em sistemas de Integração Lavoura-Pecuária. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 7. (Circular Técnica, 130).
- KERRY, B. R.; BOURNE, J. M. 1996. The importance of rhizosphere interactions in the biological control of plant-parasitic nematodes a case study using *Verticillium chlamydosporium*. *Pesticide Science*, 47: 69-75.
- KERRY, B. R. 1998. Progress towards biological control strategies for plant-parasitic nematodes. *In: The 1998 Brighton Crop Protection Conference*, 3, 1998, Alton, Pests and Diseases, Llandilo, 3:739-746.
- KRANZ, J.; JÖRG, E. 1989. The synecological approach a plant disease epidemiology. *Tropical Plant Pathology*, 6: 27-38.
- LINDSEY, D. W.; CAIRNS, E. J. 1971. Pathogenicity of the lesion nematode, *Pratylenchus brachyurus*, on six soybean cultivars. *Journal of Nematology*, 3:220-226.
- LOOF, P. A. A. 1960. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus* (Nematoda). *Tijdschrift Over Plantenziekten*, 66: 29-90.
- LOOF, P. A. A. 1990. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *In: Nicle, W. R. (Ed.)*.
- LORDELLO, L. G. E.; ZAMITH, A. P. L.; BOOCK, O. J. 1954. Novo nematódeo parasito da batatinha. *Bragantia*, Campinas, v. 13, p. 141-149.
- LORDELLO, L. G. E. 1981. Nematoides das plantas cultivadas. São Paulo, Nobel.
- LORDELLO, L. G. E. 1984. Nematoides das plantas cultivadas. São Paulo, Nobel. 314.p.
- LORDELLO, R. R. A.; SAWAZAKI, E.; LORDELLO, A. I. L.; ALOISIO SOBRINHO, J. 1983. Controle de *Pratylenchus* spp. em milho com nematicidas sistêmicos e com torta de mamona. *Revista da Sociedade Brasileira de Nematologia*, 7: 241-250.
- LORENZEN S. 1994. The phylogenetic systematics of freeliving nematodes. London, The Ray Society.

- LUC, M. 1987. A reappraisal of Tylenchina (Nemata): 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *Revue de nématologie*, 10: 203-218.
- LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. 2005. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 2. ed. Cambridge: CABI Publications, 877p.
- MACEDO, M. C. M. 2009. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38 (1): 133-146.
- MACHADO, A. C. Z; FERRAZ, L. C. C. B; INOMOTO, M. M. 2007. Response of cotton cultivars to two Brazilian populations of *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Sch. Stekh. *Journal Cotton Science*, 11: 177-181.
- MACHADO, A. C. Z.; FERRAZ, L. C. C. B.; INOMOTO, M. M. 2012. Pathogenicity of *Pratylenchus brachyurus* on cotton plants. *Journal of Cotton Science*, 16 (4).
- MACIEL, J. L. N.; MORAES, M. G.; ALMANÇA, M. A. K.; MATSUMURA, A. T. S.; FALCADE, J. H. 2006. Ocorrência do vírus *Rice stripe necrosis virus* em lavouras de arroz do Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira*, 31(2).
- MAGGENTI, A. R. 1983. Nematode higher classification as influenced by species and family concepts, p. 25-40. *In: Concepts in nematode systematics*. STONE, A. R.; PLATT, H. M., KALIL, L. F. (eds). Academic Press, London.
- MAGGENTI, A. R. 1991. *Nemata*: higher classification, p. 147-90. *In: Manual of Agricultural Nematology*. NICKLE, W. R. (ed). Maecel Dekker, INC., New York.
- MENDES, F. L.; ARAÚJO, K.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; SILVA, J. F. V. 2013. Alternativas culturais para o manejo do nematoide das lesões radiculares durante a entressafra da soja no Mato Grosso. Londrina: Embrapa Soja, p. 95-101. (Documento 339).
- MOTALAOTE, B.; STARR, J. L.; FREDERIKSEN, R. A.; MILLER, F. R. 1987. Host status and susceptibility of sorghum to *Pratylenchus* species. *Revue Nématologie*, 10 (1): 81-86.
- NICOL, J. M.; DAVIES, K. A.; HANCOCK, T. W.; FISHER, J. M. 1999. Yield loss caused by *Pratylenchus thornei* on wheat in south Australia. *Journal of Nematology*, 31(4): 367-376.
- NOVARETTI, W. R. T. 1997. Controle de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* (Nematoda: Heteroderidae) em cana de açúcar associados ou não à matéria orgânica (Tese de Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 112 p.

- ORSI, F.; NOVARETTI, W. R. T.; BORGES, A.; PAPA, G. 1998. Efeito do nematicida Carbofuran 350SC no controle de *Pratylenchus zae* associado a diferentes doses de fertilizantes na cultura da cana de açúcar. STAB: açúcar, álcool e subprodutos, Piracicaba, 16:22-24.
- OU, S.H. 1985. Rice diseases. Kew, Surrey: Commonwealth Agricultural Bureau. 380 p.
- PIERSON, E. A.; WELLER, D. M. 1994. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathology*, 84:940–947.
- PLOWRIGHT, R.A.; MATIAS, D.; AUNG, T.; MEW, T.W. 1990. The effect of *Pratylenchus zae* on the growth and yield of upland rice. *Revue Nématologie*, 13 (3):283-292.
- PRABHU, A. S. 1995. Situação atual do arroz de sequeiro e estratégias de controle. *Fitopatologia Brasileira*, 20: 277.
- PRABHU, A. S.; FILLIPI, M. C. C.; RIBEIRO, A. S. 2006. Doenças e seu controle. *In*: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Ed.). A cultura do arroz no Brasil. 2.ed. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA/CNPAF, p. 561-590.
- PROT, J.C.; SORIANO, I.; MATIAS, D. 1994. Major root parasitic nematodes associated with irrigated rice in the Philippines. *Fundamental and Applied Nematology*, 17:75-78.
- RAHM, G. 1928. Alguns nematodes parasitas e semi-parasitas das plantas culturais do Brasil. *Archivos/ Instituto de Biologia Andina, Lima*, 1: 239-252.
- RAHM, G. 1929. Alguns nematodes parasitas e semi-parasitas de diversas plantas culturais do Brasil. *Archivos/ Instituto de Biologia Andina, Lima*, 2: 67-136.
- REYES, A. A.; CHADHA, K. C. 1972. Interaction between *Fusarium oxysporum* sp. *conglutinans* and turnip mosaic virus in *Brassica campestris* var. *chinensis* seedlings. *Phytopathology*, 62: 1424-8.
- RIBEIRO, N. R.; DIAS, W. P.; SANTOS, J. M. 2010. Distribuição de fitonematoides em regiões produtora de soja do Estado de Mato Grosso. *In*: Boletim de Pesquisa de Soja 2010. (ed). HINOMOTO, D.M.; CAJU, J.; CAMACHO, S.A. Fundação MT, Rondonópolis (MT), p. 289-296.
- RITZINGER C. H. S. P.; FANCELLI, M. 2006. Manejo Integrado de nematoides na cultura da bananeira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28 (2): 331-338.
- ROMÁN, J.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. 1969. Gamete genesis and reproduction of seven species of *Pratylenchus*. *Journal of Nematology*, 1: 357-62.
- SANTOS, G. R.; SABOYA, L. M. F.; RANGEL, P. H. N.; OLIVEIRA-FILHO, J. C. 2002. Resistência de genótipos de arroz a doenças no sul do Estado do Tocantins. *Bioscience Journal*, 18: 3-12.

- SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. *In: Vistas on Nematology* (eds). (Veech, J. A.; Dickson, D. W.). Hyattsville: Society of Nematologists, p. 7-14.
- SCHMIDT, A. B. 2009. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Desenvolvimento de painéis multiplex de marcadores microssatélites e mapeamento de QTLs de tolerância à seca e ao frio em linhagens puras recombinantes de arroz (*Oryza sativa* L.). 1v. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis.
- SCHMITT, D.P.; BARKER, K.R. 1981. Damage and reproductive potentials of *Pratylenchus brachyurus* and *P. penetrans* on soybean. *Journal of Nematology*, 13 (3):327-332.
- SHER, S. A.; ALLEN, M. W. 1953. Revision of the genus *Pratylenchus* (Nematoda; Tylenhidae). *University of California Pubs, Zoology*, 57:441-470.
- SIKORA, R. A.; CARTER, W. W. 1987. Nematode Interaction with Fungal and Bacterial Plant Pathogens - Fact or Fantasy. *In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Ed.). Vistas on Nematology*. Maryland: Society of Nematologists, p. 307-312.
- SIKORA, R.A.; HOFFMANN-HERGARTEN, S. 1993. Biological control of plant-parasitic nematodes with plant-health promoting rhizobacteria. *In: LUMSDEN, R. D.; VAUGHN, J. L. (Ed.) Pest management: Biologically based technologies*, 18, 1993, Washington, Proceedings of Beltsville Symposium. Washington: American Chemical Society. p.166-172.
- SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. 1989. Resistência de espécies de *Crotalaria* a *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*. *Nematologia Brasileira*, 13: 81-86.
- SILVA, R. A.; SERRANO, M. A. S.; GOMES, A. C.; BORGES, D. C.; SOUZA, A. A.; ASMUS, G. L.; INOMOTO, M. M. 2004. Ocorrência de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita* na cultura do algodoeiro no Estado do Mato Grosso. *Fitopatologia Brasileira*, 29:337.
- SIQUEIRA, K. M. S. 2007. Importância de *Pratylenchus brachyurus* na cultura do caupie estudos morfológicos e morfométricos sobre populações de *P. brachyurus* no Brasil. (Tese de Doutorado). ESALQ – Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba(SP).
- SIQUEIRA, K. M. S.; INOMOTO, M. M. 2008. Pathogenicity and reproductive fitness of *Pratylenchus brachyurus* on cowpea. *Nematology*, 10 (4): 495-500.
- SOUTHARDS, C. J. 1968. The influence of the stage of development of lesion nematodes on population dynamics and subsequent host response. *Nematologica*, 14: 15-16.

- STIRLING, G. R. 1991. Biological control of plant-parasitic nematodes. Wallingford, CAB International, 282 p.
- SWEENEY, M. & MCCOUCH, S. 2007. The complex history of the domestication of rice. *Annals of Botany*, 100 (5): 951-957.
- THORNE, G. 1961. Principles of Nematology. New York, McGraw-Hill.
- TIHOHOD, D. 1993. Nematologia Agricola Aplicada. Jaboticabal: Funep., 372 p.
- TU, J. C.; FORD, R. E. 1971. Maize dwarf mosaic virus predisposes corn to root rot infection. *Phytopathology*, 61: 800-803.
- USDA U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 2015. USDA Data base <https://apps.fas.usda.gov/>. Consultado em 12/11/2018.
- VAUGHAN, D. A., MORISHIMA, H. & KADOWAKI, K. 2003. Diversity in the *Oryza* genus. *Current Opinion in Plant Molecular Biology* 6:139–146.
- VILAS BOAS, L. C.; TENENTE, R. C. V.; GONZAGA, V.; SILVA NETO, S. P.; ROCHA, H. S. 2002. Reação de clones de bananeira (*Musa* spp.) ao nematoide *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, raça 2. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24 (3):690-693.
- VILLANUEVA, L. M.; PROT, J. C.; MATIAS, D. M. 1992. Plant-parasitic nematodes associated with upland rice in the Philippines. *Journal of Plant Protection in the Tropics*, 9:143-149.
- WANDER, A. E. 2006. A competitividade do agronegócio brasileiro de arroz. *Custos e Agronegócio online*, Piracicaba, 2 (1): 1.
- WEISCHER, B. 1993. Nematode-virus Interactions. *In*: KHAN, M. W. (Ed). *Nematode Interactions*. London: Chapman e Hall, p. 217-231.

## **CAPÍTULO 2**

---

**LEVANTAMENTO DAS ESPÉCIES DE NEMATOIDES  
DAS LESÕES RADICULARES (*Pratylenchus* spp.)  
ASSOCIADAS À CULTURA DO ARROZ, SOJA, MILHO E  
FEIJÃO EM PLANTIOS DO BRASIL CENTRAL**

## **Levantamento das espécies de nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) associadas à cultura do arroz, soja, milho e feijão em plantios do Brasil Central**

### **RESUMO**

Atualmente, o gênero *Pratylenchus* Filipjev, 1936 inclui 104 espécies que se encontram mundialmente distribuídas em uma ampla gama de espécies vegetais de diferentes famílias botânicas. A rotação soja-arroz, recentemente estimulada nas regiões do Cerrado, inclusive no Distrito Federal, pode ser um sistema agrícola, que permite o aumento de populações dos nematoides das lesões radiculares, por falta de informações quanto às espécies do gênero associadas à cultura de arroz. Diante do exposto o trabalho teve por objetivo realizar um levantamento de espécies de *Pratylenchus* em áreas de cultivo de arroz nos estados do Maranhão, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e Paraná. Foram coletadas 1.098 amostras de raízes e solo de plantas de arroz, feijão, milho e soja nos respectivos estados em 16 municípios. Para a extração dos nematoides das amostras de raízes e solo foi utilizado a combinação dos métodos de decantação, trituração, peneiramento e centrifugação em sacarose. A identificação inicial das espécies foi baseada em caracteres morfológicos básicos das espécies: região labial, estilete, forma da cauda, posição da vulva (V%) e espermateca funcional ou não funcional. A morfometria foi realizada em lâminas sob microscópio óptico, onde foram medidos os seguintes caracteres: comprimento do corpo, distância da região labial à vulva, comprimento da cauda, maior largura do corpo, largura do corpo na região anal, comprimento do esôfago, comprimento do estilete, variável (a), variável (b'), variável (c), variável (c') e V%. Os caracteres que mais variaram e puderam separar as populações em dois grupos distintos em *P. brachyurus* e *P. zaeae* foram: comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a) e V%. Primers específicos para as espécies *P. brachyurus*, *P. zaeae* e *P. parazeae*, já desenvolvidos e validados foram utilizados para a caracterização molecular. O tamanho dos produtos da amplificação obtidos para *P. brachyurus* (267 pb) e *P. zaeae* (250 pb) foram semelhantes aos gerados pelos primers utilizados. Os resultados confirmaram via análise morfológica, morfometria e molecular a identificação de nove populações de *P. brachyurus* e doze populações de *P. zaeae* nas amostras analisadas.

**Palavras-chave:** morfologia, morfometria, primers específicos, *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus zaeae*, *Pratylenchus parazeae*.

## **Survey of species of the root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) associated with rice, soybean, corn and bean in plantations in Central Brazil**

### **ABSTRACT**

Currently, the genus *Pratylenchus* Filipjev 1936 contains 104 species spread worldwide in a wide range of plant species belonging to different botanical families. The soybean – rice rotation, recently stimulated in the Cerrado region, including the Federal District, may be an agricultural system, which allows the root lesion nematodes to increase populations due to the lack of information regarding the species of *Pratylenchus* associated with rice cultivation. In view of the above, the objective of this work was to survey the *Pratylenchus* species in rice growing areas in the states of Maranhão, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais and Paraná. A total of 1,098 soil and root samples of rice, bean, maize and soybean plants were collected in the respective states in 16 municipalities. For the extraction of the nematodes from the roots and soil samples the combination of grinding, decantation, sieving and sugar flotation methods was used. Initial species identification was based on basic morphological characters from: lip region, stylet, tail shape, vulva position (V%) and functional or non functional spermatheca. Morphometry was performed on slides under an optical microscope, where the following characters were measured: body length, distance from lips to the vulva, tail length, body width, body width at anal region, length of esophagus, stylet length, variable (a), variable (b'), variable (c), variable (c') and V%. The characters that varied more and could separate the populations into two distinct groups in *P. brachyurus* and *P. zae* were: body length, stylet length, variable (a) and V%. Specific primers for *P. brachyurus*, *P. zae* and *P. parazae*, previously developed and validated were used for molecular characterization. The size of the amplification products obtained for *P. brachyurus* (267 bp) and *P. zae* (250 bp) were similar to those generated by the primers used. The results confirmed, through morphological, morphometric and molecular analysis, the identification of nine populations of *P. brachyurus* and twelve populations of *P. zae* from rice cultivations.

**Key words:** morphology, morphometry, specific primers, *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus zae*, *Pratylenchus parazae*.

## 2.1. INTRODUÇÃO

A cultura do arroz é afetada por doenças e pragas que reduzem a qualidade dos grãos e a produtividade. Mais de uma centena de espécies de nematoides já foram relatadas em arroz de sequeiro e alagado em muitos países (Bridge et al., 2005). Algumas espécies são observadas no sistema de sequeiro, outras no sistema alagado, mas poucas são encontradas em ambas as situações. As pesquisas demonstraram que um número relativamente baixo de espécies estão adaptadas às condições permanentemente alagadas. Quando o campo é apenas temporariamente inundado, o número de espécies presentes tende a ser maior (Fortuner e Merny, 1979). Dentre elas, os nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) são reconhecidas atualmente como um dos maiores nas culturas da soja, milho, feijão, algodão, sorgo e de diversas gramíneas forrageiras, além de vários genótipos de girassol e milheto. Entretanto no Brasil na cultura do arroz existe pouco relato. Considerando os impactos econômicos mundiais para diferentes culturas agrícolas, nematoides do gênero *Pratylenchus* ocupam o segundo lugar em importância entre todos os fitonematoides (Goulart, 2008).

A rotação soja - arroz, recentemente estimulada nas regiões do Cerrado, inclusive no Distrito Federal, tornou-se um sistema agrícola que permite o aumento de populações dos nematoides das lesões radiculares, porém faltam informações quanto às espécies do gênero associadas à cultura de arroz. Logo, informações quanto as espécies de *Pratylenchus* associadas à cultura do arroz se revestem de grande importância, por se tratar de uma cultura de valor econômico e uma opção viável aos programas de rotação/sucessão de cultura sem novos sistemas de produção economicamente produtivos e sustentáveis, visando o controle desses nematoides.

Atualmente, o gênero *Pratylenchus* Filipjev 1936 inclui 104 espécies que se encontram mundialmente distribuídas em uma ampla gama de espécies vegetais de diferentes famílias botânicas (Gonzaga et al., 2016). Para auxiliar na identificação das espécies, chaves baseadas em características morfológicas foram publicadas (Ryss, 1988; Café Filho e Huang, 1989; Frederick e Tarjan, 1989; Handoo e Golden, 1989; Loof, 1990) levando em conta as variações no número de espécies válidas e no conjunto de caracteres que as diferenciam. No entanto, a identificação de espécies de *Pratylenchus* pode ser desafiadora, uma vez que as diferenças morfológicas inter-específicas são poucas, e a variabilidade intra-específica de caracteres é comum (Loof, 1990).

As características morfológicas que apresentam maior variação inter e/ou intra-específica são as de maior interesse na diagnose. Entre elas, citam-se o comprimento do corpo, a região labial, a forma dos bulbos basais do estilete, o comprimento do estilete, a posição relativa da vulva, a forma da espermateca, o comprimento do saco pós-uterino e a forma do término caudal (De Grisse, 1961; Román e Hirschmann, 1969; Corbette Clark, 1983; Olowee Corbett, 1984; Frederick e Tarjan, 1989; Loof, 1990).

O uso de técnicas moleculares permite a identificação de indivíduos independentemente do estágio do ciclo de vida. Mesmos com suporte da biologia molecular, a taxonomia de *Pratylenchus* baseada na morfologia e morfometria continuam sendo importantes, principalmente nas diagnoses de rotina. No entanto, combinar as técnicas já conhecidas auxilia no entendimento das relações filogenéticas intra e intergenéticas de *Pratylenchus*.

Diante do exposto, o trabalho teve por objetivos a detecção e identificação de espécies de *Pratylenchus* na região do cerrado brasileiro associadas à cultura do arroz, soja, milho e feijão utilizadas em sistemas de rotação ou sucessão de culturas, via análises morfológicas, morfométricas e moleculares.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Coleta de amostras de solo e raízes de plantas de arroz, soja, milho e feijão

Um total de 1.098 amostras de solo e raízes de arroz, soja, milho e feijão oriundas de seis estados brasileiros (Mato Grosso, Maranhão, Tocantins, Goiás, Minas Gerais e Paraná) foram coletadas em áreas de 16 municípios (Tabela 3).

#### *Extração de nematoides das amostras de raízes e solo*

Amostras de 200 cm<sup>3</sup> de solo foram processadas pelas metodologias de decantação, peneiramento e flutuação centrífuga em solução de sacarose para a extração dos nematoides presentes no solo (Jenkins, 1964). As raízes foram lavadas em água corrente em balde de plástico e colocadas para secar em papel toalha sobre bancadas. As raízes em sua totalidade foram cortadas em pedaços de 2cm e trituradas em liquidificador contendo água por 45 segundos e vertido o triturado sobre peneiras de 270 e 500 mesh, sendo a suspensão retida na peneira de 500 mesh recolhida em béquer e levada para a centrifuga em solução de sacarose (Coolen e D'Herde, 1972 modificado). Os nematoides de todas

as amostras de raízes e solo foram examinados sob microscópio estereoscópio e microscópio óptico em câmara de contagem de Peter.

Tabela 3. Números de amostras por Estado e Município em diferentes culturas.

Estado	Município	Cultura	Data	Nº de amostras
<b>Mato Grosso</b>	Sinop	Arroz/Soja	19/05/2016	12
	União do Sul	Arroz	03/06/2016	20
	Lucas de Rio Verde	Arroz	28/09/2016	10
<b>Maranhão</b>	Arari	Arroz	28/09/2016	20
	Itapecuru Mirim	Arroz	28/09/2016	20
	Igarapé	Arroz	28/09/2016	20
<b>Tocantins</b>	Dueré	Arroz	28/09/2016	20
<b>Goiás</b>	Paraúna	Soja/Feijão	13/05/2016	20
	Ipameri	Soja	13/05/2016	24
	Rio Verde	Soja/Milho	29/07/2016	18
	Morrinhos	Soja/Milho	29/07/2016	12
	Goiânia	Soja	09/01/2017	376
	Cristalina	Soja/Feijão	10/10/2016	160
<b>Minas Gerais</b>	Buritis	Soja/Milho	10/10/2016	30
	Formoso	Soja/Milho	10/10/2016	160
<b>Paraná</b>	Palotina	Soja/Feijão	10/10/2016	176
<b>Total</b>				1.098

### 2.2.2. Identificação morfológica e morfométrica de *Pratylenchus* spp.

Os nematoides extraídos, em especial as fêmeas de *Pratylenchus* spp., foram capturadas e colocadas em lâminas para observação sob microscópio óptico. A identificação inicial das espécies foi baseada nos caracteres morfológicos básicos das espécies: região labial, estilete, forma da cauda, visualmente a posição da vulva, espermateca funcional ou não-funcional.

Amostras de solo das 16 localidades foram colocadas em vasos de 500 cm<sup>3</sup> de capacidade e semeadas com milho BRS4103 para aumentar a quantidade dos nematoides a identificar, uma vez que as fêmeas coletadas foram em número reduzido. Decorrido o período de 90 dias, as plantas de milho foram colhidas e seus sistemas radiculares lavados

em água para a extração dos nematoides de acordo com Coolen e D'Herde (1972) modificado.

Vinte fêmeas de cada espécie de *Pratylenchus* por localidade foram capturadas e colocadas em tubos eppendorf de 1,5 ml e procedida a metodologia de axenização dos nematoides segundo Fallas et al. (1994): a) centrifugação em água destilada esterilizada a 3.000rpm por 10 minutos; b) centrifugação em solução de bicloreto de mercúrio a 0,01%, então centrifugada a 3.000 rpm por 10 minutos; e c) centrifugação em água destilada esterilizada a 3.000 rpm por 10 minutos. Após o tratamento, os nematoides foram depositados em cilindros de cenoura no interior de frascos de vidro e mantidos em estufa BOD a 25°C para multiplicação [técnicas de Moody et al. (1973) e Gonzaga (2006) com modificações]. Os nematoides multiplicados em cilindros de cenoura foram mantidos em BOD a 25°C para serem utilizados para as análises posteriores de identificação morfométrica emolecular.

Os nematoides multiplicados em cilindros de cenouras mantidos em BOD a 25°C foram extraídos para a captura das fêmeas a serem utilizadas para as análises morfométricas. Dez fêmeas de cada população de *P. zae* e cinco fêmeas de cada população de *P. brachyurus* foram capturadas observando-se a posição da vulva em microscópio estereoscópio, analisadas em microscópio óptico e depositadas em tubos eppendorf, mortas (banho-maria a 60°C por 1 minuto), logo após as fêmeas, uma por uma, foram capturadas e colocadas em gota de formalina sobre lâminas e vedadas com esmalte para serem examinadas sob microscópio óptico e medidas.

A medição foi realizada em microscópio óptico Olympus modelo BX-51, onde foram fotografados com câmera digital acoplada Olympus U-CMAD3 JAPAN utilizando o programa ProGres Capture Pro 2.1. Foram medidos as seguintes estruturas para cada fêmea: comprimento do corpo, distância da região labial à vulva, comprimento da cauda, maior largura do corpo, largura do corpo da região anal, distância da extremidade anterior ao final do esôfago e comprimento do estilete. Baseado nessas medidas, foram calculadas as proporções das medidas (a) (comprimento do corpo/maior largura do corpo), (b') (comprimento do corpo/distância da extremidade anterior ao final do esôfago), (c) (comprimento do corpo/comprimento da cauda), (c') (comprimento da cauda/largura do corpo na região anal) e V% (distância da região labial à vulva, como percentagem do comprimento total do corpo).

Uma análise multivariada de componentes principais (ACP) foi utilizada para avaliar a variabilidade das medições dos caracteres morfométricos referente às

populações de *P. brachyurus* e *P. zaeae*. Foram construídos também, com significância estatística de 5%, intervalos de confiança (IC) para estimar a média populacional referente às variáveis selecionadas que melhor explicaram a variabilidade entre as populações de *P. brachyurus* e *P. zaeae*. Todas as análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa R, versão 3.4.3. Valores de referência das variáveis selecionadas foram comparados na literatura para *P. brachyurus* (Loof, 1960; Machado et al., 2015) e *P. zaeae* (Sher e Allen, 1953; Taylor e Jenkins, 1957; Merny, 1970).

### 2.2.3. Identificação molecular das populações/espécies de *Pratylenchus*

Após a análise morfométrica das populações/espécies, a identificação foi concluída no aspecto molecular. Para essa atividade de identificação foram utilizados primers específicos estabelecidos para as espécies *P. brachyurus*, *P. zaeae* e *P. parazeae* (Wang et al., 2015), já validados em trabalho técnico-científico (Peetz e Zasada, 2016).

O protocolo utilizado para extração, purificação e precipitação do DNA foi adaptado do original descrito para *Meloidogyne* por Randig et al. (2002). Para este protocolo, 70 nematoides de cada população/espécie foram capturados individualmente e colocados em microtubos de eppendorf de 1,5ml devidamente esterilizados, em seguida, centrifugados por 12 minutos à 6.500 rpm, e o volume reduzido para 0,1ml.

#### ***Extração de DNA***

Aos microtubos de eppendorf foi adicionado nitrogênio líquido e procedida a maceração das amostras com auxílio de pistilos de plástico devidamente autoclavados, sendo repetida esta maceração por 2 a 3 vezes. Após a maceração foi adicionado um volume de 50 µl aos microtubos de eppendorf da solução de NIB [1 ml de NaCl 5M; 1,5 ml de Tris 1MPh8; 1ml de EDTA 0,5M; 0,035 ml de βME; 0,280 ml de Triton (NPH) para 50ml de água qsp] e realizada a homogeneização com auxílio de pipeta. As amostras foram levadas para centrifugação por 2 minutos a 14.000 rpm e descartado o sobrenadante. Essa operação foi repetida por mais uma vez na mesma rotação. Realizadas as centrifugações, foram adicionados 80 µl do tampão de homogeneização [1ml de NaCl 5M; 3,42g de sacarose; 1ml de EDTA 0,5M para 50ml de água qsp] e 20 µl do tampão de lise (12,5ml de EDTA 0,5M; 12,5 ml Tris 2MPh9,2; 11,5 ml de SDS 10% para 50ml de água qsp) sendo procedida a homogeneização com auxílio da pipeta. As amostras foram mantidas por 30 minutos a 55°C em banho seco.

### ***Purificação do DNA***

Uma solução de fenol+clorofórmio+álcool isoamílico na proporção de (25:24:1) foi preparada, sendo adicionados 100 µl dessa solução em cada amostra para a homogeneização em vortex por 15 segundos na velocidade 6. Seguindo-se o protocolo, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 14.000rpm e o sobrenadante recuperado e transferido para novo microtubo de eppendorf de 1,5 ml previamente identificado. Esta etapa foi realizada em capela de fluxo laminar.

### ***Precipitação do DNA***

Ainda na capela de fluxo laminar, foram adicionados às amostras 200µl de etanol (100%) resfriado e depois levadas à geladeira por 2 horas. Decorrido esse período as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 14.000 rpm, sendo descartado o sobrenadante vertendo-se os microtubos de eppendorf e adicionando 1ml de etanol (70%) resfriado e novamente centrifugadas por 5 minutos a 14.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e deixados os microtubos de eppendorf invertidos sobre papel toalha para secar por 10 minutos. O DNA foi ressuspensão adicionando-se de 10 - 20 µl de água Mili-Q autoclavada e os microtubos armazenados em freezer a -20°C.

### ***Reação de PCR***

A quantificação do DNA das populações dos nematoides foi realizada em espectrofotômetro NanoDrop®2000, e posteriormente, o conteúdo dos microtubos diluído para 3ng/µl em água Mili-Q. As populações de *Pratylenchus* spp. foram testadas com um par de primers espécie-específicos descritos para a identificação de cada uma das espécies: *P. brachyurus*, *P. zae* e *P. parazeae* (**Tabela 4**): *Pratylenchus brachyurus*: 18S Forward (Boutsika, 2002) e ACM7R Reverse (Machado et al., 2007); para *P. zae*: rDNAForward (Vrain et al., 1992) e Praty-R Reverse (Uehara et al., 2001); e para *P. parazeae*: PpzF e PpzR (Wangetal., 2015). As reações de PCR foram realizadas em volume final de 25 µl, contendo 9 ng de DNA, 2,5 µl 10X PCR tampão (Invitrogen), 1 µl de MgCl<sub>2</sub> [50mM], 4 µM de cada primer, 2,5 mM dNTPs (Invitrogen), 1 U.µl<sup>-1</sup> Taq DNA polymerase (Invitrogen). Para as amplificações foi utilizado um termociclador T100 Thermalcycler (BIO-RAD) programado de acordo com as condições descritas no trabalho de Peetz e Zasada (2016): para desnaturação inicial do DNA por 2 min a 94°C, 30 ciclos

de 45 seg. a 94°C, 90 seg. a 56°C, 90 seg. a 65°C e extensão final de 10 min a 72°C. Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% e visualizados sob luz UV.

**Tabela 4.** Primers espécie-específicos para *Pratylenchus brachyurus*: 18S Forward (Boutkira, 2002) e ACM7R reverse (Machado et al., 2007); para *P. zaeae*: rDNA Forward (Vrain et al., 1992) e Praty-R Reverse (Uehara et al., 2001); e para *P. parazeae*: PpzF e PpzR (Wang et al., 2015).

Espécie	Região-alvo	Código do Primer	Sequência (5' → 3')	Fragmento amplificado (pb)
<i>P. brachyurus</i>	18S rDNA	18S	TTGATTACGTCCCTGCCCTTT	267
<i>P. brachyurus</i>	ITS rDNA	ACM7R	GCWCCATCCAAACAAYGAG	
<i>P. zaeae</i>	18S rDNA	rDNA	TTGATTACGTCCCTGCCCTTT	250
<i>P. zaeae</i>	ITS rDNA	Praty-R	CTGCATTGGAAGCGCGCTTG	
<i>P. parazeae</i>	ITS rDNA	PpzF	CTGCTGCTGGATCATTACATT	570
<i>P. parazeae</i>	ITS rDNA	PpzR	TCAAATAGACATGCCCAAT	

#### Manutenção *in vitro* e *in vivo* das populações de *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*

Para estudos posteriores sobre a patogenicidade e nível de danos das populações de *P. brachyurus* e *P. zaeae*, esses nematoides foram mantidos em cilindros de cenouras (*in vitro*) em estufa BOD a 25°C, com repicagem a cada 70 dias e em casa de vegetação em plantas de cana de açúcar (**Figura 3**).



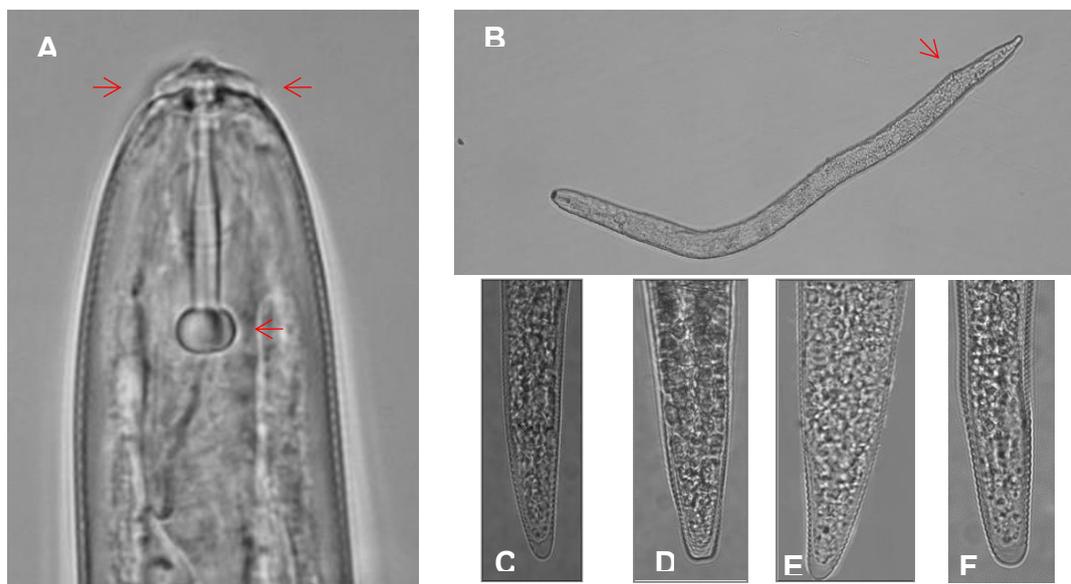
**Figura 3.** (A – B) Cilindros de cenoura preparados em capela de fluxo e mantidos em BODs. (C) Manutenção das populações de *Pratylenchus* em plantas de cana de açúcar em casa de vegetação.

## 2.3. RESULTADOS

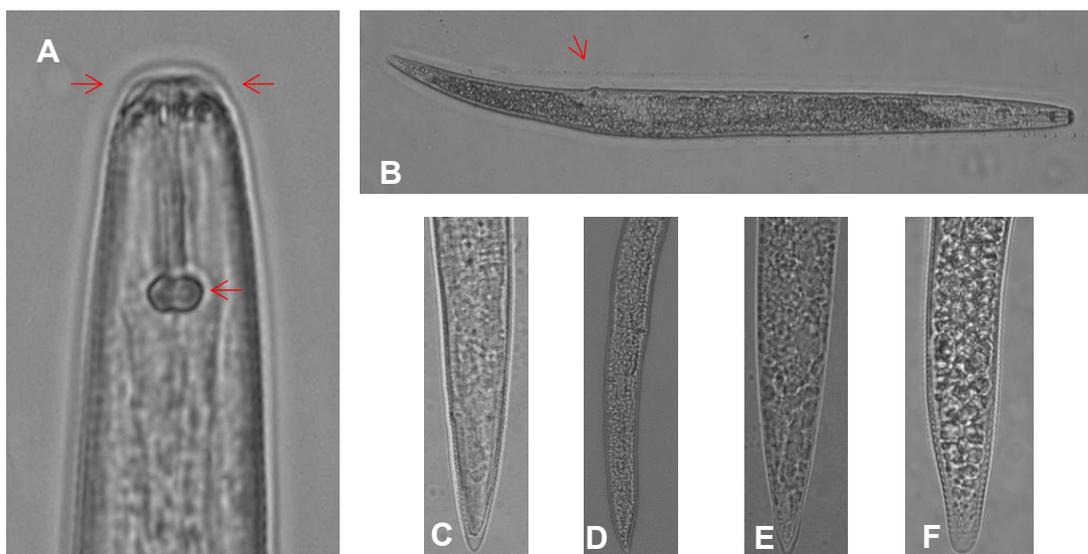
### 2.3.1. Identificação morfológica e morfométrica de *Pratylenchus* spp.

As populações de *Pratylenchus* spp. oriundas de diferentes municípios não eram anfimíticas, apresentando ausência de machos. Foram identificadas inicialmente todas as populações como *P. brachyurus* e *P. zaeae*. Os principais caracteres morfológicos para a identificação de *P. brachyurus* foram a região labial angulosa, sendo a região labial mais estreita que o diâmetro do corpo, estilete com nódulos basais esféricos, posição da vulva mais próxima ao final do corpo, a cauda hemisférica com término liso e com algumas variações (**Figura 4**). Os principais caracteres morfológicos para identificação de *P. zaeae* foram a região labial contínua com a linha do corpo, estilete com nódulos basais mais achatados, posição da vulva mais próximo da região central do corpo, a cauda subaguda, apresentando variações (**Figura 5**).

A análise de componentes principais auxiliou na identificação de quais variáveis contribuíram com maior peso na combinação linear das duas primeiras componentes principais. Os eixos x e y, denominados componentes principais, puderam ser vistos como "supervariáveis", construídas pela combinação da correlação entre as variáveis. Estes eixos foram extraídos em ordem decrescente de importância de acordo com sua contribuição para a variação total dos dados.

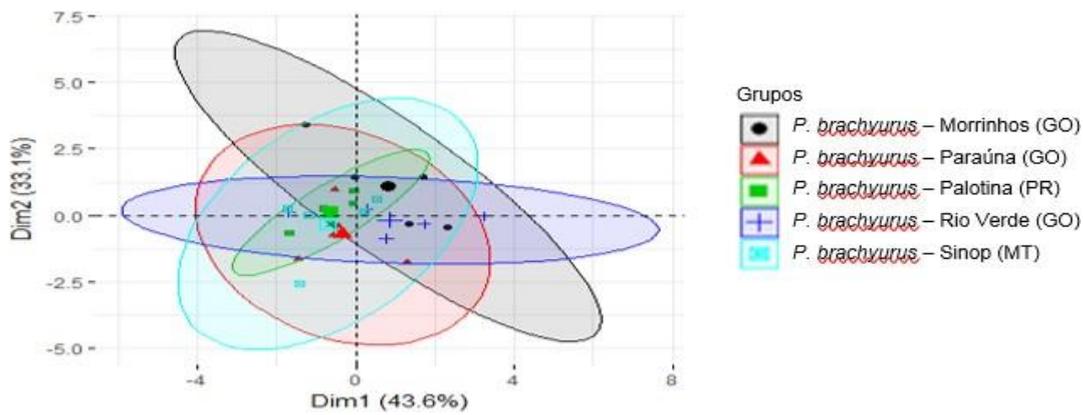


**Figura 4.** Principais caracteres morfológicos para identificação de *Pratylenchus brachyurus*. A) Fotomicrografia da região labial com os anéis da região labial, mais estreita que o diâmetro do corpo, exibindo o estilete com nódulos basais esféricos (seta). B) Fotomicrografia da fêmea, exibindo a posição da vulva mais na porção terminal do corpo (seta). (C - F) Cauda hemisférica com término liso, característica da espécie e suas variações na forma do término da cauda.

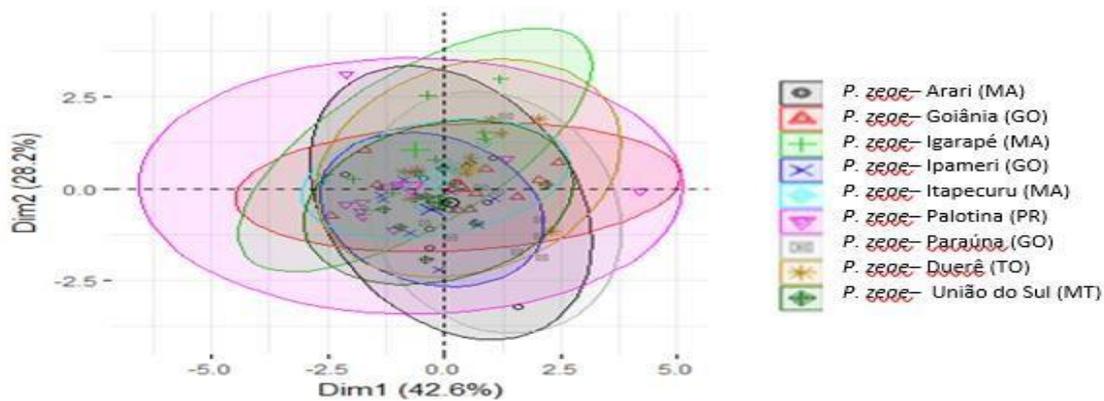


**Figura 5.** Principais caracteres morfológicos para identificação de *Pratylenchus zae*. A) Fotomicrografia da região labial contínua com o contorno do corpo e nódulos do estilete achatados (setas), B) Fotomicrografia da fêmea, indicando a posição da vulva mais ao meio do corpo (seta). (C - F) Cauda subaguda com término liso predominante na espécie e suas variações na forma do término da cauda.

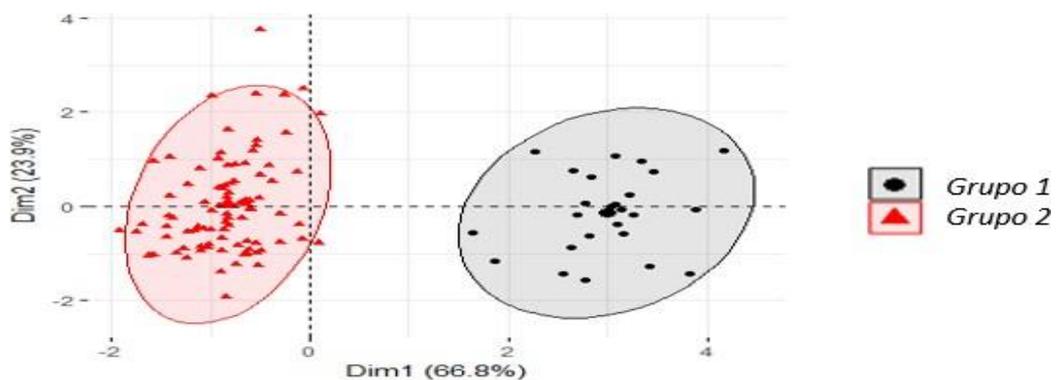
Os componentes principais, dispostos num espaço de duas dimensões, representaram a variabilidade suficiente que pudesse indicar algum padrão a ser interpretado. A análise morfométrica das populações de *P. brachyurus* e *P. zae* realizada com base nos caracteres de comprimento do corpo, distância da região labial à vulva, comprimento da cauda, maior largura do corpo, largura do corpo na região anal, comprimento do esôfago e comprimento do estilete, evidenciou a pureza das populações classificadas inicialmente com base nos caracteres morfológicos principais das espécies. Uma análise multivariada utilizando componentes principais (ACP) para as variáveis, comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a) (comprimento do corpo/menor largura do corpo) e variável (b') (comprimento do corpo/distância da extremidade anterior ao final do esôfago) foi possível explicar em torno de 76,68% a variabilidade entre as populações de *P. brachyurus* (**Figura 6**). Porém, as variáveis comprimento do corpo, variável (b'), variável (c) e V% explicaram em torno de 70,8% a variabilidade entre as populações de *P. zae* (**Figura 7**). Entretanto, as variáveis comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a) e V% explicaram em torno de 90,76% a variabilidade entre todos os indivíduos medidos de *P. brachyurus* e *P. zae* separando todos os indivíduos medidos em dois grupos distintos (**Figura 8**).



**Figura 6.** Análise multivariada utilizando componentes principais (ACP) para as variáveis, comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável “a” (comprimento do corpo/maior largura do corpo) e variável (b’) (distância da extremidade anterior ao final do esôfago), para cinco populações de *Pratylenchus brachyurus*.



**Figura 7.** Análise multivariada utilizando componentes principais (ACP) para as variáveis, comprimento do corpo, variável (b’) (distância da extremidade anterior ao final do esôfago), variável (c) (comprimento do corpo/comprimento da cauda) e V% = distância da região labial à vulva como porcentagem do comprimento total do corpo, para sete populações de *Pratylenchus zaeae*.



**Figura 8.** Análise multivariada utilizando componentes principais (ACP) para as variáveis, comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a) (comprimento do corpo/maior largura do corpo) e V% = distância da região labial à vulva como porcentagem do comprimento total do corpo, para sete populações de *Pratylenchus zaeae* e cinco populações de *P. brachyurus*, mostrando a separação em dois grupos distintos.

Com a aplicação do intervalo de confiança de 95% aos parâmetros que foram mais eficientes em separar os dois grupos, podemos afirmar com segurança que as médias obtidas de comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a) e V% são representativas para as espécies *P. brachyurus* e *P. zae* e estão dentro dos limites inferiores e superiores estimados (Tabelas 5 e 6).

**Tabela 5.** Estudo morfométrico de cinco populações de *Pratylenchus brachyurus* obtidas de diferentes localidades no cerrado brasileiro, em relação ao comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável “a” (comprimento do corpo/maior largura do corpo) e V% = distância da região labial à vulva como percentagem do comprimento total do corpo.

Populações	Comprimento do Corpo $\mu\text{m}$	Comprimento do Estilete $\mu\text{m}$	Variável “a”	V%
	Intervalo de confiança 95%	Intervalo de confiança 95%	Intervalo de confiança 95%	Intervalo de confiança 95%
	<i>L. inf.</i> – <i>L. sup.</i>	<i>L. inf.</i> – <i>L. sup.</i>	<i>L. inf.</i> – <i>L. sup.</i>	<i>L. inf.</i> – <i>L. sup.</i>
<sup>a</sup> <i>Pb Mo</i>	* 653,62 - 747,25 ** 700,43 $\pm$ 37,70	20,88 - 25,32 23,10 $\pm$ 1,78	20,42 - 27,94 24,17 $\pm$ 3,02	85,33 - 87,1 86,21 $\pm$ 0,71
CV%	5,38	7,73	12,51	0,82
<sup>a</sup> <i>Pb Pa</i>	601,29 - 698,21 649,75 $\pm$ 39,03	20,63 - 22,69 21,66 $\pm$ 0,82	16,19 - 25,58 20,88 $\pm$ 3,78	83,68 - 87,04 85,15 $\pm$ 1,35
CV%	6,0	3,82	18,11	1,58
<sup>a</sup> <i>Pb Pr</i>	638,03 - 684,46 661,24 $\pm$ 18,69	20,97 - 22,26 21,61 $\pm$ 0,52	22,34 - 26,31 24,32 $\pm$ 1,59	86,43 - 87,72 87,07 $\pm$ 0,52
CV%	2,82	2,41	6,57	0,59
<sup>a</sup> <i>Pb Rv</i>	607,47 - 759,85 683,66 $\pm$ 61,35	20,93 - 22,75 21,84 $\pm$ 0,73	19,37 - 25,23 22,30 $\pm$ 2,35	84,97 - 88,18 86,57 $\pm$ 1,29
CV%	8,97	3,36	10,57	1,49
<sup>a</sup> <i>Pb Sin</i>	613,58 - 682,62 648,10 $\pm$ 27,80	19,26 - 22,97 21,11 $\pm$ 1,49	21,14 - 26,98 24,06 $\pm$ 2,35	82,65 - 87,28 84,96 $\pm$ 1,86
CV%	4,28	7,0	9,76	2,19
<b>Valor referência</b>	<sup>1</sup> 570,0	<sup>1</sup> 19,50	<sup>1</sup> 22,0	<sup>1</sup> 85,5
	<sup>2</sup> 575,22	<sup>2</sup> 19,89	<sup>2</sup> 25,39	<sup>2</sup> 86,06

Todas as medições são valores médios em  $\mu\text{m}$  de cinco fêmeas. \**L. inf.* – *L. sup.* (Intervalo de confiança 95%). \*\*Média  $\pm$  desvio padrão. CV%= Coeficiente de variação. <sup>a</sup>População de *P. brachyurus*: *Pb Mo* = Morrinhos (GO); *Pb Pa* = Paraúna (GO); *Pb Pr* = Palotina (PR), *Pb Rv* = Rio Verde (GO) e *Pb Sin* = Sinop (MT). Valor referência: <sup>1</sup>Loof (1960) <sup>2</sup>Machado et al. (2015).

**Tabela 6.** Estudo morfométrico de sete populações de *Pratylenchus zae* obtidas de localidades diferentes no cerrado brasileiro, em relação ao comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável “a” (comprimento do corpo/maior largura do corpo) e V% = distância da região labial à vulva como percentagem do comprimento total do corpo.

Populações	Comprimento do Corpo $\mu\text{m}$	Comprimento do estilete $\mu\text{m}$	Variável “a”	V%
	Intervalo de confiança 95%	Intervalo de confiança 95%	Intervalo de confiança 95%	Intervalo de confiança 95%
	<i>L. inf.</i> – <i>L. sup.</i>	<i>L. inf.</i> – <i>L. sup.</i>	<i>L. inf.</i> – <i>L. sup.</i>	<i>L. inf.</i> – <i>L. sup.</i>
<sup>a</sup> <i>Pz Ara</i>	*475,86 - 531,92 **503,88 ± 39,18 CV% 7,77	16,8 - 17,74 17,27 ± 0,65 3,80	18,30 - 20,77 19,53 ± 1,72 8,83	66,04 - 71,06 68,55 ± 3,50 5,11
<sup>a</sup> <i>Pz Go</i>	471,5 - 565,71 518,60 ± 65,84 CV% 12,69	16,79 - 17,36 17,07 ± 0,39 2,34	19,18 - 26,96 23,07 ± 5,43 23,54	69,52 - 71,43 70,47 ± 1,33 1,88
<sup>a</sup> <i>Pz Iga</i>	441,64 - 500,26 470,95 ± 40,97 CV% 8,70	16,17 - 17,21 16,69 ± 0,72 4,36	18,08 - 21,54 19,81 ± 2,42 12,23	70,0 - 72,39 71,19 ± 1,67 2,34
<sup>a</sup> <i>Pz Ipa</i>	485,97 - 532,42 509,19 ± 32,46 CV% 6,37	16,04 - 16,98 16,50 ± 0,65 3,99	19,20 - 23,64 21,41 ± 3,10 14,49	68,51 - 70,51 69,50 ± 1,39 2,01
<sup>a</sup> <i>Pz Ita</i>	473,81 - 522,71 500,76 ± 37,66 CV% 7,52	16,98 - 17,33 16,81 ± 0,72 4,32	21,73 - 25,67 23,70 ± 2,75 11,60	69,91 - 71,98 70,94 ± 1,44 2,03
<sup>a</sup> <i>Pz Pr</i>	456,22 - 537,98 497,09 ± 57,15 CV% 11,49	17,09 - 17,91 17,50 ± 0,57 3,28	18,83 - 24,78 21,80 ± 4,15 19,06	69,12 - 73,98 71,55 ± 3,39 4,74
<sup>a</sup> <i>Pz Pa</i>	517,74 - 567,71 545,72 ± 34,92 CV% 6,43	15,89 - 16,77 16,33 ± 0,61 3,75	20,68 - 24,02 22,35 ± 2,33 10,45	67,63 - 70,63 69,13 ± 2,09 3,02
<sup>A</sup> <i>Pz To</i>	497,75 - 558,05 527,9 ± 42,14 CV% 7,98	17,33 - 17,76 17,54 ± 0,29 1,69	20,77 - 24,59 22,67 ± 2,66 11,76	68,17 - 71,59 69,87 ± 2,38 3,41
<sup>a</sup> <i>Pz Us</i>	494,12 - 540,3 517,21 ± 32,27 CV% 6,24	16,81 - 17,33 17,0 ± 0,36 2,11	18,27 - 19,65 18,96 ± 0,96 5,10	67,95 - 70,03 68,99 ± 1,45 2,10
<b>Valor Referência</b>	<sup>1</sup> /499,5	<sup>1</sup> /16,5	<sup>1</sup> /25,0	<sup>1</sup> /70,35

Todas as medições são valores médios em  $\mu\text{m}$  de cinco fêmeas. \**L. inf.* – *L. sup.* (Intervalo de confiança 95%). \*\*Média ± desvio padrão. CV% = Coeficiente de variação. <sup>a</sup>População de *Pratylenchus zae*: *Pz Ara* = Arari (MA), *Pz Go* = Goiânia (GO), *Pz Iga* = Igarapé (MA), *Pz Ipa* = Ipameri (GO), *Pz Ita* = Itapecuru (MA), *Pz Pr* = Palotina (PR), *Pz Pa* = Paraúna (GO), *Pz To* = Dueré *Pz Us* = União do Sul (MT). Valor referência: <sup>1</sup>Média dos valores mínimos e máximos (Sher e Allen, 1953; Taylor e Jenkins, 1957; Merny, 1970).

### 2.3.2. Identificação molecular das populações/espécies de *Pratylenchus*.

O gênero *Pratylenchus* apresenta certas dificuldades na identificação de espécies devido ao fato de muitas características morfométricas e morfológicas serem comuns entre as mesmas. Porém, a identificação de espécies de *Pratylenchus* é tarefa importante porque as populações encontradas em amostras de solo são tipicamente uma mistura de mais de uma espécie que podem variar em agressividade (Dickerson et al., 1964; Griffin, 1991; France e Brodie, 1996).

O uso de técnicas moleculares para a identificação de espécies de *Pratylenchus* é cada vez mais comum e oferece a facilidade de identificar indivíduos independentemente do estágio do ciclo de vida, utilizando-se primers específicos (pontos de iniciação para a reação de polimerização). Vários métodos publicados baseados em PCR para a identificação de espécies de *Pratylenchus* estão disponíveis (Al-Banna et al., 1997, 2004; Yan et al., 2008; Peetz e Zasada, 2016).

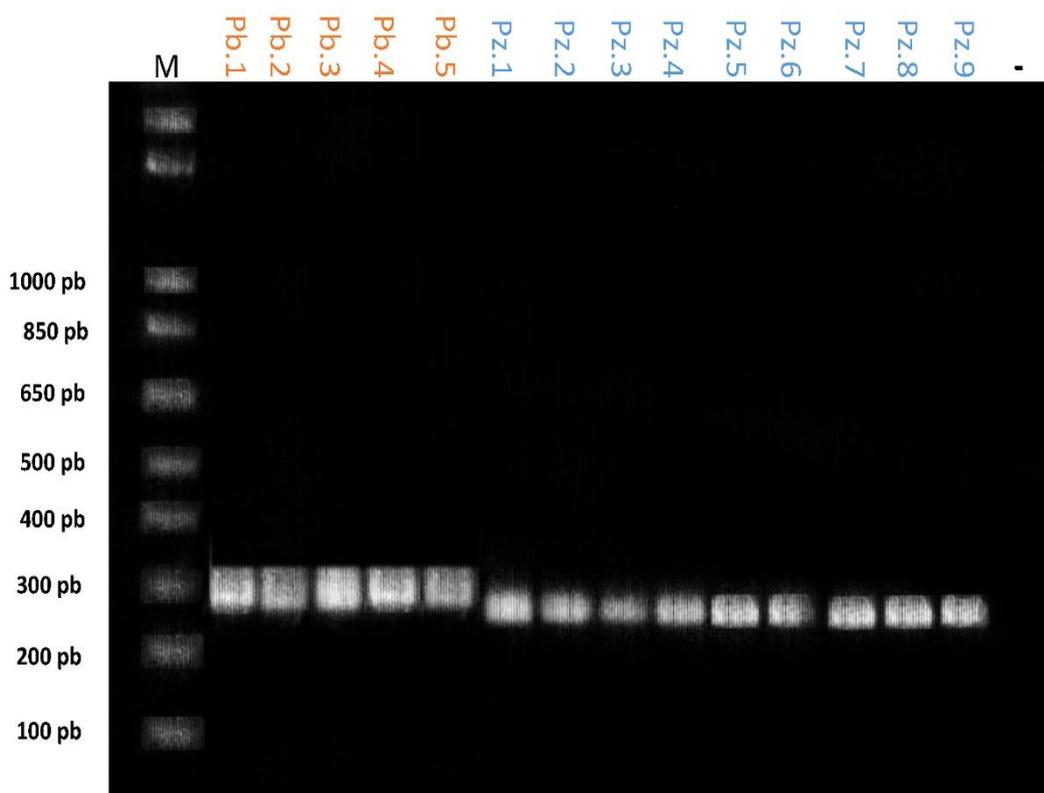
A técnica aqui utilizada não requer nematoides adultos para identificação das espécies. Além disso, o ensaio foi útil para confirmar rapidamente a pureza das populações de *Pratylenchus* obtidas neste estudo de levantamento através da morfologia e morfometria. Embora alguns trabalhos suportam que uma heterogeneidade ocorra no gene da  $\beta$ -1,4-endoglucanase, entre populações de *Pratylenchus* coletadas em locais geograficamente distintos, e conseqüentemente não permita amplificar com qualquer primer descritos, o tamanho dos produtos da amplificação aqui obtidos para *P. brachyurus* (267 pb) e *P. zae* (250 pb) foram semelhantes aos gerados pelos primers utilizados (**Figura 9**). O primer específico para *P. parazeae* não amplificou nenhuma população de *P. brachyurus* e *P. zae*.

Na **Tabela 7** foram listadas todas as espécies detectadas e identificadas via caracteres morfológicos, morfométricos e moleculares. Todas as populações obtidas nesse levantamento estão sendo mantidas em nitrogênio líquido, cultura de tecido em cilindros de cenoura e em plantas de cana-de-açúcar em casca de vegetação para estudos de patogenicidade, agressividade, danos e seleção de fontes de resistência em genótipos de arroz.

## 2.3. DISCUSSÃO

Os resultados encontrados nesse estudo são coerentes aos levantamentos realizados por vários autores que destacaram *P. zae* e *P. brachyurus* como as espécies de maior

frequência associadas à cultura do arroz no mundo (Sancho e Salazar, 1985; Coyne et al., 2000; Carvajal, 2006; Medina et al. 2009; Guzmán-Hernández et al., 2011; Pascual et al., 2014; Gilces et al., 2016). Para o nematoide *P. brachyurus* parasitando a cultura do arroz, são poucos os relatos no Brasil, sendo o nematoide detectado e identificado associado a cultura do arroz por Café Filho e Huang (1988). Dez espécies de nematoides das lesões radiculares são relatadas sobre o arroz em todo o mundo, sendo as mais comuns *P. zae*, encontrada na África, América do Sul, Central e do Norte, Austrália, Sul e Sudeste Asiático e no Egito; *P. brachyurus* foi observada em relatos da África, América do Sul, Paquistão e Filipinas, *P. indicus* na Índia e *P. vulnus* no Extremo Oriente (Bridge et al., 2005). Na Índia e Paquistão em arroz de terras altas *P. zae*, *P. indicus* e *P. thornei* são consideradas as espécies causadoras de danos econômicos (Prasad e Rao, 1988; Plowright et al., 1990; Pankaj et al., 2012).



**Figura 9.** Perfis de amplificação de DNA genômico de populações de *Pratylenchus brachyurus* (267pb) e *Pratylenchus zae* (250pb) obtidas de diferentes estados/localidades no Brasil. Populações: Pb1(Morrinhos - GO); Pb2 (Palotina - PR); Pb3 (Paraúna - GO); Pb4 (Rio Verde - GO); Pb5 (Sinop – MT); Pz1 (Arari – MA); Pz2 (Duerê – TO); Pz3 (Goiânia – GO); Pz4 (Igarapé – MA); Pz5 (Ipameri – GO); Pz6 (Itapecuru – MA); Pz7 (Palotina – PR); Pz8 (Paraúna – GO) e Pz9 (União do Sul – MT). M= marcador molecular 1kb Plus Invitrogen.

**Tabela 7.** Espécies e populações de *Pratylenchus* identificadas nas 16 localidades amostradas nos estados do Maranhão, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e Paraná.

Estado	Município	Cultura	Espécies
<b>Mato Grosso</b>	Sinop	Arroz/Soja	<i>P. brachyurus</i> e <i>P. zae</i>
	União do Sul	Arroz	<i>P. brachyurus</i> e <i>P. zae</i>
	Lucas de Rio Verde	Arroz	<i>P. brachyurus</i> e <i>P. zae</i>
<b>Maranhão</b>	Arari	Arroz	<i>P. zae</i>
	Itapecuru Mirim	Arroz	<i>P. zae</i>
	Igarapé	Arroz	<i>P. zae</i>
<b>Tocantins</b>	Dueré	Arroz	<i>P. zae</i>
<b>Goiás</b>	Paraúna	Soja/Feijão	<i>P. brachyurus</i> e <i>P. zae</i>
	Ipameri	Soja	<i>P. zae</i>
	Rio Verde	Soja/Milho	<i>P. brachyurus</i>
	Morrinhos	Soja/Milho	<i>P. brachyurus</i>
	Goiânia	Soja	<i>P. brachyurus</i> e <i>P. zae</i>
<b>Minas Gerais</b>	Cristalina	Soja/Feijão	<i>P. brachyurus</i> e <i>P. zae</i>
	Buritis	Soja/Milho	<i>P. brachyurus</i>
	Formoso	Soja/Milho	<i>P. brachyurus</i> e <i>P. zae</i>
<b>Paraná</b>	Palotina	Soja/Feijão	<i>P. brachyurus</i> e <i>P. zae</i>

Espécies de *Pratylenchus* são difíceis de serem separadas, devido à sua similaridade e variabilidade na morfologia dentro da espécie, embora o gênero seja facilmente reconhecível (Loof, 1978). A identificação adequada de espécies de *Pratylenchus* podem ser ainda mais confundida quando se tem uma população composta por juvenis, que possuem poucos recursos diagnósticos. Vários estudos demonstraram a grande variabilidade de caracteres morfológicos de espécies de *Pratylenchus* (Godfrey, 1929; Loof, 1960; López e Salazar, 1988; Gonzaga, 2006; Castillo e Vovlas, 2007; Machado et al., 2015). Por exemplo, as variações observadas em nosso estudo para o término da cauda de *P. brachyurus*, também foram observadas na descrição original desta espécie, então denominada *Tylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929).

Cinco tipos de formas de cauda foram diferenciadas posteriormente em oito fêmeas examinadas por Román e Hirschmann (1969) e Tarjan e Frederick (1978). É relatado que variações morfológicas e morfométricas podem ser causadas por mudanças nas condições ambientais. Olowe e Corbett (1984) relataram que fatores ambientais podem afetar alguns caracteres de *P. brachyurus*, como os oriundos do comprimento do corpo e do

comprimento do estilete (por exemplo, variável 'a', variável 'b' e variável 'c'), considerando ser estes caracteres não confiáveis para fins de diagnóstico desta espécie. Este fato foi neste estudo também observado para esses caracteres, que apresentaram grande variabilidade entre as populações de *P. brachyurus* e *P. zaeae*. Entretanto, López e Salazar (1988) estudando as características morfológicas e morfométricas de populações de *P. zaeae* na Costa Rica selecionaram o comprimento do estilete e a posição da vulva (V%) como as características mais estáveis entre as populações. Os caracteres número de anéis labiais, comprimento do estilete e a posição da vulva foram selecionados como os mais estáveis na identificação de espécies de *Pratylenchus* (Loof, 1978; Café Filho e Huang, 1988). Essas observações foram semelhantes ao estudo realizado quando comprimento do estilete e V% permitiu a separação entre *P. brachyurus* e *P. zaeae*. Entretanto, entre as populações brasileiras de *P. zaeae* em nosso estudo, apenas a característica comprimento do estilete se mostrou mais estável, sendo observada grande variabilidade na posição da vulva (V%). Enquanto, entre as populações de *P. brachyurus* a característica mais estável foi a posição da vulva, sendo verificado grande variabilidade no comprimento do corpo e comprimento do estilete.

Segundo Fortuner e Quénéhervé (1980), diferentes hospedeiros ou cultivares podem influenciar os valores morfométricos das populações de nematoides. Estudos realizados por Machado et al. (2015) sobre morfometria entre populações de *P. brachyurus* obtidas de diferentes hospedeiros e localidades do Brasil e da Bolívia, com base em análise de seis caracteres morfométricos (valores médios de 575,22  $\mu\text{m}$  (comprimento do corpo), 19,89  $\mu\text{m}$  (comprimento do estilete), 25,39 (variável "a"), 7,08 (variável "b"), 18,88 (variável "c") e 86,06 (V%), indicaram variações entre as populações brasileiras e também entre estas populações e aquelas de áreas geográficas distantes. Os autores através de uma análise multivariada de agrupamento e similaridade separaram cinco grupos de *P. brachyurus*: **Grupo 1** (população oriunda de campo de milho na Bolívia); **Grupo 2** (população oriunda de campo de Leucena na Bolívia); **Grupo 3** (Pb20, Pb24, Pb42, Pb43, Pb45, Pb46, Pb48 do Brasil), coletados de quiabo, abacaxi, algodão, soja e plantas daninhas; **Grupo 4** (duas populações oriundas de campo de algodão em Mato Grosso: Pb 22 e Pb26) e o **Grupo 5** (duas populações (Pb21 e Pb23) oriundas de campos de algodão da Bahia e Mato Grosso, respectivamente).

Em nosso estudo as populações de *P. brachyurus* e *P. zaeae* foram obtidas de plantas de arroz, soja, milho e feijão, entretanto com base na análise de componentes principais (ACP), as variáveis comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a) e V%,

embora selecionadas como as características de maior variabilidade entre as populações de ambas espécies, puderam explicar em torno de 90,76% a variabilidade dos indivíduos medidos como *P. brachyurus* e *P. zae* separando estes em dois grupos distintos (**Figura 8**). Estes resultados corroboram com os encontrados por Olowe e Corbett (1984), Fortuner e Quéné hervé (1980) e Machado et al., (2015), em afirmar que existe grande variabilidade nos caracteres morfológicos e morfométricos dentro da mesma espécie do gênero *Pratylenchus*, o que justifica em casos mais complexos, a identificação mais apurada através de técnicas moleculares com primers específicos da espécie a confirmar.

## 2.4. CONCLUSÕES

1. Foram detectadas em todas as amostras analisadas espécimes do gênero *Pratylenchus* associados às culturas do arroz, soja, feijão e milho.
2. Pelos caracteres morfológicos básicos foram identificadas duas espécies do gênero: *P. zae* e *P. brachyurus*, com maior frequência *P. zae*, em especial para a cultura do arroz.
3. As análises morfométricas permitiram observar que houve variação nos valores medidos entre populações dentro da mesma espécie. Para *P. brachyurus* as variáveis, comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a) (comprimento do corpo/menor largura do corpo) e variável (b') (comprimento do corpo/distância da extremidade anterior ao término do esôfago) foram as que apresentaram maior variação, entretanto, estas variações foram explicadas estatisticamente pela análise de componentes principais em torno de 76,68%, considerando ser todas as populações pertencentes à mesma espécie *P. brachyurus*.
4. Para *P. zae*, as variáveis comprimento do corpo, variável (b'), variável (c) (comprimento do corpo/comprimento da cauda) e  $V\% = (\text{distância da região labial à vulva como percentagem do comprimento total do corpo})$ , foram as de maior variabilidade, porém sendo explicadas em torno de 70,8% essa variação e não diferenciando todas as populações caracterizadas como *P. zae*.
5. As características morfométricas que melhor separaram as populações de *P. brachyurus* de *P. zae* foram: comprimento do corpo, comprimento do estilete, variável (a) e  $V\%$ .
6. Os primers específicos das espécies de *P. brachyurus*, *P. zae* e *P. parazae*, permitiram confirmar a caracterização morfológica e morfométrica de que todas as populações identificadas pertencem às espécies *P. brachyurus* e *P. zae*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-BANNA, L.; PLOEG, A.T.; WILLIAMSON, V.M.; KALOSHIAN, I.L. 2004. Discrimination of six *Pratylenchus* species using PCR and species-specific primers. *Journal of Nematology*, 36:142- 146.
- AL-BANNA, L.; WILLIAMSON, V.; GARDNER, S. L. 1997. Phylogenetic analysis of nematodes of the genus *Pratylenchus* using nuclear 26S rDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 7:94-102.
- ALLEN, M. W.; JENSEN, H. J. 1951. *Pratylenchus vulnus*, new species (Nematoda: Pratylenchinae) a parasite of trees and vines in Califórnia. *Proceedings of the Society Helminthological Washington*, 18 (1): 47 -50.
- BOUTSIKA, K. 2002. Molecular identification and phylogenies of virus and non- virus vector trichodorid nematodes. Ph.D. Thesis, University of Dundee, UK.
- BRIDGE, J.; PLOWRIGHT, R. A.; PENG, D. 2005. Nematode parasites of rice. Pp. 87 130. *In: Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture – Second Edition* (Luc M., Sikora R.A. and Bridge J., eds). CABI Publishing, Wallingford, UK. CAB International.
- CAFÉ FILHO, A. C.; HUANG, C. S. 1989. Description of *Pratylenchus pseudofallax* n. sp. with a key of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936. *Revue Nématologie*, 12:7-16.
- CAFÉ FILHO, A. C.; HUANG, C. S. 1988. Nematoides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 13(3): 232 – 235.
- CARVAJAL, S. A. 2006. Determinación preliminar de géneros y densidades poblacionales de nematodos asociados al cultivo de arroz (*Oryza sativa*) em la región Huetar Atlántica de Costa Rica. 48f. (monografía de graduação) Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Regional de San Carlos.
- CASTILLO, P.; VOVLAS, N. 2007. Diagnosis and descriptions of *Pratylenchus* species. *In: Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. First edition. Córdoba v. 6, cap. 4, p. 51-280.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE D. J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *State of Nematology and Entomology Research Station, Ghent*. 372p.

- CORBETT, D. C. M.; CLARK, S. A. 1983. Surface features in the taxonomy of *Pratylenchus* species. *Revista Nematology*, 6:85-98.
- COYNE, D.; HUNT, D.; PLOWRIGHT, R.; DARBOE, M. 2000. Further observations on nematodes associated with rice in Côte d'Ivoire. *International Journal of Nematology*, 10: 123-130.
- DE GRISSE, A. T. 1961. *Meloidogyne kikuyensis* n. sp., a parasite of kikuyu grass in Kenia. *Nematologica*, 5:303-12.
- DICKERSON, O. J.; DARLING, H. M.; GRIFFIN, G. D. 1964. Pathogenicity and population trends of *Pratylenchus penetrans* on potato and corn. *Phytopathology*, 54:317-322.
- FALLAS, G. A.; SARAH, J. L. 1994. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la reproducción in vitro de *Radopholus similis*. *Nematropica*, 24:175-177.
- FORTUNER, R.; MERNY, G. 1979. Root-parasitic nematodes of rice. *Revue Nématologie*, 2:79-102.
- FORTUNER, R.; QUÉNÉHERVÉ, P. 1980. Morphometrical variability in *Helicotylenchus* Steiner, 1945: influence of the host on *H. dihystra* (Cobb, 1893) Sher, 1961. *Revue Nématologie*, 3:291-296.
- FRANCE, R.A.; BRODIE, B.B. 1996. Characterization of *Pratylenchus penetrans* from ten geographically isolated populations based on their reaction on potato. *Journal of Nematology*, 4:520-526.
- FREDERICK, J. J. & TARJAN, A. C. 1989. A compendium of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936. *Nematology*, 12:243-56.
- GILCES, C. T.; SANTILLÁN, D. N.; VELASCO, L. V. 2016. Research Investigación plant parasitic nematodes associated with rice in Ecuador. *Nematropica*, 46 (1): 45-53.
- GODFREY, G. H. 1929. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus*, n.sp. *Phytopathology*, 7: 611-630.
- GONZAGA, V. 2006. Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação *in vitro* das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus* Filipjev, 1936 que ocorrem no Brasil. 79f. (tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

- GONZAGA, V.; SANTOS, J. M. dos; MENDONÇA, R. S.; SANTOS, M. A. 2016. Gênero *Pratylenchus*. In: Claudio Marcelo Gonçalves de Oliveira; Maria Amélia dos Santos; Leonardo Humberto Silva e Castro. (Org.). Diagnóstico de Fitonematoides. 01 ed. Campinas: Millenium Editora Ltda, p.71-99.
- GOULART, A. M. C. 2008. Aspectos gerais sobre nematoides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*). Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 30 (Documentos 219).
- GRIFFIN, G. D. 1991. Differential pathogenicity of four *Pratylenchus neglectus* populations on alfalfa. *Journal of Nematology*, 4:380-385.
- GUZMÁN-HERNÁNDEZ, T. J.; VILLALOBOS, S. H.; VARELA-BENAVIDES, I.; DURÁN-MORA, J.; MONTERO-CARMONA, W. 2011. Nematodos fitoparásitos asociados al arroz em las regiones huertar norte y huertar atlántica de Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 22 (1): 21-28.
- HANDOO, Z. A. & GOLDEN, A. M. 1989. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev. *Journal of Nematology*, 21:202-18.
- JENKINS, W.R. 1964. Rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48 (9): 692.
- LOOF, P. A. A. 1960. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus* (Nematoda). *Tijdschrift Over Plantenziekten*, 66:29–90.
- LOOF, P. P. A. The genus *Pratylenchus* Filipjev 1936 (Nematoda: Pratylenchidae). A review of its anatomy, morphology, distribution, systematics and identification. Swedish University of agricultural Sciences. Uppsala, Suécia. 1978.
- LOOF, P. A. A. 1990. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. In: Nicle, W. R. (Ed.). *Manual of Agricultural Nematology*. New York, p. 363-421.
- LÓPEZ, R.; SALAZAR, L. 1988. Nematodos asociados al arroz (*Oryza sativa* L.) en Costa Rica. VII. *Pratylenchus* zae. *Agronomía Costarricense*, 12:183-190.
- MACHADO, A. C. Z.; FERRAZ, L. C. C. B; OLIVEIRA, C. M. G. 2007. Development of a species-specific reverse primer for the molecular diagnostic of *Pratylenchus brachyurus*. *Nematropica*, 37:249–257.
- MACHADO, A.C.Z.; SIQUEIRA, K.M.S.; FERRAZ, L.C.C.B.; INOMOTO, M.M.; BESSI, R.; HAKAKAVA, R.; OLIVEIRA, C.M.G. 2015. Characterization of Brazilian populations of *Pratylenchus brachyurus* using morphological and molecular analyses. *Tropical Plant Pathology*, 40:102-110.

- MEDINA, A.; CROZZOLI, R.; PERICHI, G. 2009. Nematodos fitoparásitos asociados a los arrozales en Venezuela. *Nematología Mediterranea*, 37:59-66.
- MERNY, G. 1970. Les nematodes phytoparasites des rizière résineuses en Côte d'Ivoire. I Les espèces observées. *Cahiers de l'ORSTOM, Serie Biologie*, 11:3-43.
- MOODY, E. H.; LOWNSBERY, B. F.; AHMED, J. M. 1973. Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. *Journal of Nematology*, 5 (3): 225-226.
- OLOWE, T. & CORBETT, D. M. C. 1984. Morphology and morphometrics of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zae* II. Influence of environmental factors. *Indian Journal Nematology*, 14:6-17.
- PANKAJ; GANGULY, A.K.; PANDEY, R.N. 2012. Severe damage caused by the root-lesion nematode, *Pratylenchus thornei*, in aerobic rice in India. *Nematologia Mediterranea*, 40 (1):79-81.
- PASCUAL, M.L.D.; DECRAEMER, W.; TANDINGANDELEY, I.; VIERSTRAETE, A.; STEEL, H.; BERT, W. 2014. Prevalence and characterization of plant-parasitic nematodes in lowland and upland rice agro-ecosystems in Luzon, Philippines. *Nematropica*, 44:166-180.
- PEETZ, A. B.; ZASADA, I. 2016. A species-specific diagnostics using a  $\beta$ -1,4-endoglucanase gene for *Pratylenchus* spp. occurring in the Pacific Northwest of North America. *Nematology*, p. 1-11.
- PLOWRIGHT, R. A.; MATIAS, D.; AUNG, T.; MEW, T. W. 1990. The effect of *Pratylenchus zae* on the growth and yield of upland rice. *Revue Nématologie*, 13 (3): 283-292.
- PRASAD, J. S.; RAO, S. Y. 1988. Effect of different inoculum levels of *Pratylenchus indicus* on the growth and yield of rice. *Nematologia Mediterranea*, 16:123-124.
- RANDIG, O.; BONGIOVANNI, M.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P. 2002. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. *Genome*, 45: 862-870.
- ROMÁN, J.; HIRSCHMANN, H. 1969. Morphology and morphometrics of six species of *Pratylenchus*. *Journal of Nematology*, 1: 363-386.
- RYSS, A. Y. 1988. Parasitic root nematodes of the family Pratylenchidae (Tylenchida) of the world fauna. (In Russian) Nauka, Leningrad.

- SANCHO, C.; SALAZAR, L. 1985. Nematodos parasitos del arroz (*Oryza sativa*) en el Sureste de Costa Rica. *Agronomia Costarricense*, 9 (2): 161-163.
- SHER, S. A.; ALLEN, M. W. 1953. Revision of the genus *Pratylenchus* (Nematoda; Tylenchidae). University of California Pubs, Zoology, 57:441-470.
- TARJAN, A. C.; FREDERICK, J. J. 1978. Intraspecific morphological variation among populations of *Pratylenchus brachyurus* and *P. coffeae*. *Journal of Nematology*, v.10, n. 2, p. 152-160.
- TAYLOR, D. P.; JENKINS, W.R. 1957. Variation within the nematode genus *Pratylenchus*, with the descriptions of *P.hexincisus*n.sp.and *P. subpenetrans* n.sp. *Nematologica*, 2:159-174.
- UEHARA, T.; KUSHIDA, A.; MOMOTA, Y. 2001. PCR-based cloning of two $\beta$ -1,4-endoglucanases from the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans*. *Nematology*, 3:335-341.
- VRAIN, T C.; WAKARCHUK, D. A.; LEVESQUE, A. C.; HAMILTON, R. I. 1992. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental and Applied Nematology*, 15:563-573.
- WANG, H.; ZHUO, K.; YE, W.; LIAO, J. 2015. Morphological and molecular characterisation of *Pratylenchus parazeae* n. sp. (Nematoda: Pratylenchidae) parasitizing sugarcane in China. *European Journal of Plant Pathology*, 143: 173- 191.
- YAN, G.; SMILEY, R. W.; OKUBARA, P. A.; SKANTAR, A.; EASLEY, S. A.; SHEEDY, J. G.; THOMPSON, A. L. 2008. Detection and discrimination of *Pratylenchus neglectus* and *P. thornei* in DNA extracts from soil. *Plant Disease*, 92:1.480-1.487.

# **CAPÍTULO 3**

---

## **PATOGENICIDADE E NÍVEL DE DANO E PERDA POR *Pratylenchus zae* NA CULTURA DO ARROZ**

## Patogenicidade e nível de dano e perda por *Pratylenchus zae* na cultura do arroz

### RESUMO

Perdas de produção e rendimento na cultura do arroz por nematoides são estimadas na ordem de 10% a 25% em alguns países. Nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) são reconhecidos atualmente como um dos maiores problemas na cultura da soja, milho, feijão, algodão, sorgo e de diversas gramíneas forrageiras, além de vários genótipos de girassol e milheto. Considerando os impactos econômicos mundiais para diferentes culturas agrícolas, o gênero *Pratylenchus* ocupa o segundo lugar em importância entre todos os fitonematoides. Apesar desses relatos, os danos por *Pratylenchus* spp. em vários sistemas agrícolas ainda não foram bem caracterizados cientificamente, em especial no cerrado brasileiro. Contudo, há uma lacuna muito grande de informações a respeito da reação de diferentes genótipos de arroz às espécies de *Pratylenchus*, especialmente daqueles cultivados no Brasil. No sistema arroz de terras altas, o uso de genótipos melhorados tornou o arroz uma cultura importante no Cerrado, com a inclusão da cultura em sistemas de produção mais tecnificados, como os sistemas de integração lavoura-pecuária. Com base no exposto, se fez necessário avaliar a reação e os níveis de danos e perdas causadas por *Pratylenchus zae* em cultivares de arroz comercializadas, de forma a contribuir com os programas de rotação/sucessão de culturas na aplicação do manejo integrado do nematoide no cerrado brasileiro. Quatro cultivares e quatro linhagens de arroz mostraram ser boas hospedeiras de *P. zae* em condições de casa de vegetação. Foi verificado que a depender da população existem diferenças de agressividade, como também as cultivares e linhagens de arroz, embora multipliquem o *P. zae*, elas diferem quanto a tolerância e aos danos causados nas raízes e na perda de rendimentos em produtividade (kg/ha) quando foram submetidas a uma mistura de populações agressivas de *P. zae*.

**Palavras-chave:** resistência, perdas econômicas, nematoide das lesões radiculares, *Oryza sativa*.

## **Pathogenicity and level of damage and loss by *Pratylenchus zae* in rice crop**

### **ABSTRACT**

Yield and crop production losses due to plant-parasitic nematodes are estimated ranging in the order of 10% to 25% are reported in some countries. Root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) are currently recognized as major concern in crops as soybeans, corn, beans, cotton, sorghum and several grasses forage, as well as several sunflower and millet genotypes. Considering the global economic impacts for different agricultural crops, nematodes of the genus *Pratylenchus* rank second in importance among all nematodes. Despite these reports, damage by *Pratylenchus* spp. in several agricultural systems have not yet been well characterized scientifically, especially in the Brazilian Cerrado. However, there is a very large gap in information on the reaction of different rice genotypes to *Pratylenchus* species, especially those grown in Brazil. In the upland rice system, the use of improved genotypes made rice an important crop in the Cerrado, with the inclusion of the crop in more technical production systems, such as crop-livestock integration systems. Based on the above, it was necessary to evaluate the reaction and levels of damage and losses caused by *Pratylenchus zae* in commercial rice cultivars, in order to contribute to crop rotation/succession programs, and in the implementation of integrated nematode management in the Brazilian Cerrado. Four cultivars and four rice lines proved to be suitable hosts for *P. zae* under greenhouse conditions. It was verified that depending on the nematode population there are differences of aggressiveness. Some rice cultivars and rice lines, although they multiplied *P. zae*, they differed in tolerance and root damage and yield losses, when challenged to a mixture of aggressive populations of *P. zae*.

**Key words:** resistance, economic losses, root lesion nematode, *Oryza sativa*.

### 3.1. INTRODUÇÃO

Existem várias cultivares recomendadas para o sistema de cultivo de sequeiro, porém a base genética entre elas é estreita (Guimarães et al., 1996; Montalván et al., 1998), o que segundo o melhoramento genético expõe a cultura à vulnerabilidade em relação a novas pragas e patógenos, além de dificultar a obtenção de materiais com alta produtividade (Silva et al., 1999). Desta forma, considerando a importância da cultura do Arroz para o mundo e em especial ao Brasil, a Embrapa Arroz e Feijão vem desenvolvendo ao longo dos anos um grande número de cultivares com resistência e tolerância às doenças de maior importância econômica de origem fúngica, bacteriana e virótica.

Segundo Goulart (2008) nematoides do gênero *Pratylenchus* tem sido responsáveis por grandes perdas econômicas devido aos elevados danos causados em diversas culturas em diferentes regiões do Brasil. Entre as espécies, *P. brachyurus* e *P. zae* são consideradas as mais importantes economicamente em regiões de clima tropical e subtropical (McSorley, 1992; Ferraz, 1999; Goulart, 2008). Esses nematoides são reconhecidos atualmente como um dos maiores problemas no cerrado brasileiro nas culturas da soja, milho, feijão, algodão, sorgo e de diversas gramíneas forrageiras, além de vários genótipos de girassol e milheto. Considerando os impactos econômicos mundiais para diferentes culturas agrícolas, nematoides do gênero *Pratylenchus* ocupam o segundo lugar em importância entre todos os fitonematoides (Goulart, 2008). O arroz está entre as culturas suscetíveis a *Pratylenchus* spp., sendo parasitado por *P. zae*, *P. indicus*, *P. thornei* e *P. vulnus* (Fortuner e Merny, 1979; Bridge et al., 2005). No Brasil, *P. brachyurus* e *P. zae* foram registrados em arroz (Café Filho e Huang, 1988).

A utilização do cultivo de arroz vem se tornando uma prática comum, em especial, sob condições de sequeiro, na região do cerrado brasileiro (Crusciol et al., 1999a). Assim, é preciso estar em alerta para que a população dos nematoides das lesões radiculares não atinjam níveis que causem danos econômicos a outras culturas, uma vez que o cultivo de milho e arroz favorece o rápido aumento da população de *P. zae* (Aung et al., 1988; 1990).

O controle de *Pratylenchus* spp. é uma tarefa difícil, e a falta de nematicidas adequados ao controle desses nematoides no mercado, tem atraído a atenção de pesquisadores para métodos alternativos de controle, onde o uso de cultivares resistentes ou tolerantes, se constitui ainda como a mais eficaz e econômica forma de reduzir populações sem risco de danos econômico (Ferraz, 1999; Castillo e Vovlas, 2007). Porém

não existem ainda cultivares resistentes a espécies de *Pratylenchus* para as principais culturas utilizadas no sistema agrícola do cerrado. No caso de altas infestações de *P. zaeae* e *P. brachyurus*, alguns cuidados de manejo precisam ser adotados, principalmente na escolha de espécies vegetais resistentes ou não hospedeiras, que possam reduzir a população inicial dos nematoides no solo. A depender dos níveis altos de infestação, práticas de manejo mais drásticas precisam ser adotadas, como por exemplo, a opção de inserir o arroz alagado no sistema de rotação de culturas, permitindo a redução populacional dos nematoides devido à anaerobiose, possibilitando, inclusive, o plantio de cultivares suscetíveis em solos infestados com *P. zaeae* (Matute e Anders, 2012).

Estudos sobre patogenicidade de *P. brachyurus* e *P. zaeae* em plantas de arroz são escassos no Brasil. Rack et al. (2012) observaram diferenças entre duas populações de *P. brachyurus* oriundas de Rio Verde (Goiás) e Lucas de Rio Verde (Mato Grosso) quanto à patogenicidade a vários genótipos de arroz, constatando que as cultivares BRS Cambará, BRS Cirad, BRS MG Curinga, BRS Ipê, BRS Monarca, BRS Pepita, BRS Primavera, BRS Sertaneja e o híbrido Ecco CL foram suscetíveis ao isolado de Lucas de Rio Verde, com fator de reprodução variando de 1,22 a 2,94. Em contrapartida, as cultivares BRS MG Curinga, BRS Ipê e BRS Sertaneja apresentaram  $FR < 1$  para o isolado de Rio Verde, enquanto o híbrido Ecco foi resistente a ambos os isolados, com fator de reprodução variando de 0,13 a 0,54.

No sistema de arroz de terras altas, o uso de genótipos melhorados tornou o arroz uma cultura importante no Cerrado, com a inclusão da cultura em sistemas de produção mais tecnificados, como os sistemas de integração lavoura-pecuária. Neste sistema, associa-se à produção de grãos como soja, arroz e milho com a produção animal na mesma área, em plantio simultâneo ou rotacionado com pastagens (Crusciol, et al., 1999; Guimarães e Stone, 2004). Essas culturas são hospedeiras em comum para nematoides, principalmente os dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus*.

A resistência genética é compatível com outras práticas de manejo e não prejudica o meio ambiente. A obtenção de resistência ampla é difícil, e às vezes, as plantas resistentes não possuem características agrônomicas desejáveis. Observa-se, portanto, que apesar do interesse crescente por estudos com o nematoide *Pratylenchus*, no Brasil, informações sobre a resistência da cultura do arroz a este nematoide são escassas, porém desejáveis ao manejo de nematoides em áreas infestadas.

Pouco se sabe a respeito da reação de diferentes genótipos de arroz a *Pratylenchus* spp., principalmente das cultivares plantados no Brasil. Perdas estimadas de produção e

rendimentos na cultura do arroz na ordem de 10% a 25% causadas por nematoides são relatadas em alguns países (Bridge et al., 2005). Apesar desses relatos, os danos de *Pratylenchus* spp. em vários sistemas agrícolas ainda não foram bem caracterizados cientificamente, em especial no cerrado brasileiro. Mais informações quanto aos danos causados por essas espécies em relação a cultura do arroz se revestem de grande importância, por se tratar de uma cultura de valor econômico e boa opção de utilização em programas de rotação/sucessão de culturas em novos sistemas de produções, economicamente produtivos e sustentáveis, visando o controle de nematoides.

Diante do contexto acima, o trabalho teve por objetivos: avaliar a reação de cinco cultivares e três linhagens de arroz em relação a *P. zae*; avaliar a patogenicidade de diferentes populações de *P. zae* sobre plantas de arroz; e avaliar os níveis de dano e perdas na produção do arroz causadas por *P. zae*.

### **3.2. MATERIAL E MÉTODOS**

3.2.1. Reação de linhagens e cultivares de arroz a *Pratylenchus zae* em casa de vegetação.

Este experimento foi instalado em casa de vegetação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia durante os meses de outubro/2016 a janeiro/2017. Mudanças dos genótipos de arroz AN Cambará (A); BRS Esmeralda (B); CMG 1590 (C); BRS A 501 CL (D); BRS Sertaneja (E); AB 092002 (F); AB 092014 (G) e AB 112335(H) e das testemunhas Sorgo cultivar BRS 655 e Milho cultivar BRS 4103 foram produzidas em sacos plásticos contendo solo esterilizado e transplantadas uma planta para cada saco de 2 kg de solo estéril e inoculadas com 200 *P. zae* (juvenis e adultos) obtidos de cultura de tecido em cilindros de cenoura. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições.

As avaliações com coleta e extração de nematoides das amostras de raízes e solo foram realizadas após 90 dias da inoculação de acordo com as metodologias de Coolen e D'Herde (1972) modificado e Jenkins (1964). Análise multivariada para agrupamento usando o método de similaridade de Ward e a distância Euclidiana/construção de cluster (Everitt, 1993) foi aplicada aos parâmetros: população inicial de *P. zae*; peso fresco das raízes; população de *P. zae* em 200 cm<sup>3</sup> de solo; população total de *P. zae* nas raízes; população final de *P. zae* (solo + raízes) e fator de reprodução ( $FR = Pf/Pi$ ).

### 3.2.2. Avaliação da patogenicidade de diferentes populações de *Pratylenchus zae* em linhagens e cultivares de arroz em casa de vegetação.

O experimento foi instalado no período de fevereiro/2017 a abril/2017 em condições de casa de vegetação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial (6x7) com cinco repetições. Foram utilizadas como testemunhas de suscetibilidade plantas de sorgo cultivar BRS 511 e BRS 655 e plantas de milho cultivar BRS 4103. Os genótipos de arroz utilizados foram pré-selecionados nos experimentos I: as linhagens AB 092002, AB 092014 e a cultivar BRS Sertaneja. As populações avaliadas foram oriundas dos estados do Maranhão (Itapecuru Mirim, Arari e Igarapé), Goiás (Ipameri e Paraúna), Mato Grosso (União do Sul) e Paraná (Palotina).

As mudas foram produzidas em solo estéril e transplantadas para sementeiras do tipo Plantágil contendo uma mistura de solo + substrato estéril. Após o transplante as plantas foram inoculadas com 200 nematoides de *P. zae* (juvenis + adultos) obtidos de cultura de tecido em cilindros de cenoura. Decorrido o período de 70 dias da inoculação as plantas foram colhidas e avaliadas. As raízes foram lavadas em água corrente de torneira e colocadas para secar em papel toalha sobre bancada para posterior mensuração do peso fresco das raízes e extração dos nematoides de acordo com Coolen e D'Herde (1972) modificado. Todo o solo aproximadamente 200cm<sup>3</sup> foi processado para a extração e contagem dos nematoides (Jenkins, 1964). A população final foi constituída de nematoides no solo + raízes, e o fator de reprodução calculado dividindo a população final pela população inicial ( $FR = Pf/Pi$ ).

Para análise de variância (ANOVA) foi usado o programa SISVAR 5.0 (Ferreira, 2011) sendo os dados transformados em log x e aplicado as médias o teste de Scott Knott a 5%.

### 3.2.3. Avaliação do nível de dano causado por *Pratylenchus zae* em plantas de arroz em casa de vegetação.

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, no período de março/2018 a julho/2018. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado com 4 repetições e arranjo fatorial (2x5), onde foram avaliados dois genótipos de arroz mais suscetíveis, selecionados nos experimentos I e II (AB092002 e AB092014) e cinco níveis de inóculo de *Pratylenchus zae* (0, 1.000, 3.000, 6.000 e

9.000). O inóculo de *P. zae* foi uma mistura de todas as populações de maior capacidade reprodutiva selecionadas no experimento II.

Mudas dos genótipos de arroz foram produzidas em sacos plásticos contendo solo estéril e transplantadas para novos sacos de 2 kg contendo solo estéril no momento da inoculação com os diferentes níveis de inóculo de *P. zae*. As plantas permaneceram em casa de vegetação durante 120 dias. Ao longo desse período foram avaliados os seguintes parâmetros: altura das plantas e número de perfilhos em sete épocas após a inoculação (48, 55, 62, 69, 76, 83 e 90 dias), período de floração, número de panículas, número de espiguetas, peso fresco e seco da parte aérea, peso fresco das raízes, número de nematoides por grama de raiz e em 100 cm<sup>3</sup> de solo e fator de reprodução.

Para as análises das variáveis peso de raízes, população de *P. zae* nas raízes e no solo os dados foram transformados em  $\sqrt{x}$  e as demais variáveis não foram transformadas, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5%, usando o programa SISVAR 5.0 (Ferreira, 2011).

#### 3.2.4. Avaliação do nível de dano e perda na produção de arroz causadas por *Pratylenchus zae* em campo.

O ensaio foi realizado em campo na área experimental da Embrapa Arroz e Feijão no período de novembro ano agrícola 2017/2018. O histórico da área experimental é ilustrado na **Tabela 8**.

O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso com 4 repetições. Cada bloco foi constituído de 24 parcelas de 7 m<sup>2</sup>, constituídas de quatro linhas de 5 metros lineares, com espaçamento de 0,35 metros entre linhas, em solo do tipo Latossolo Vermelho. As populações iniciais de *Pratylenchus zae* foram quantificadas em 100cm<sup>3</sup> de solo, através de uma amostra composta obtida de cinco pontos aleatórios dentro de cada parcela. As populações iniciais revelaram *P. zae* como a espécie predominante em quase todas as parcelas e apenas em duas parcelas, uma no Bloco I e outra no Bloco III foi detectado *P. brachyurus* (1 e 3 indivíduos/100cm<sup>3</sup> de solo respectivamente) e apenas no Bloco IV em uma parcela foi detectado *Meloidogyne* sp. (4 indivíduos/100 cm<sup>3</sup> de solo).

**Tabela 8.** Histórico de plantio da área experimental nas safras 2010/2011 – 2017/2018.

Safra	Experimento safra 2017/18
2010/11	<i>Urochloa brizantha</i>
Inverno 2011	<i>U. brizantha</i>
2011/12	<i>U. brizantha</i>
Inverno 2012	<i>U. brizantha</i>
2012/13	Soja
Inverno 2013	<i>U. brizantha</i> + Milheto
2013/14	Arroz
Inverno 2014	<i>U. brizantha</i>
2014/15	Milho + <i>U. brizantha</i>
Inverno 2015	<i>U. brizantha</i>
2015/16	Soja
Inverno 2016	Pousio Restos culturais soja
2016/17	Soja
Inverno 2017	Pousio Restos culturais soja
2017/18	Arroz ( <b>Experimento 3.2.4</b> )

O delineamento estatístico foi organizado em arranjo fatorial (8x3), onde os tratamentos foram constituídos de oito genótipos de arroz (AN Cambará (A); BRS Esmeralda (B); CMG1590 (C); BRS A501 CL (D); BRSSertaneja (E); AB092002 (F); AB 092014 (G) e AB 112335 (H) e três tratamentos controle (sem controle; nematicida Rugby no sulco e nematicida Cropstar via semente). As populações médias iniciais de *P. zea* (juvenis e adultos) em 100cm<sup>3</sup> de solo nas parcelas por bloco variaram: **Bloco I** (0 – 38); **Bloco II** (0 – 60); **Bloco III** (0 – 330) e **Bloco IV** (0 – 84). Os genótipos de arroz não tratados (testemunha) foram sorteados nas parcelas onde *P. zea* foi detectado em níveis mais elevados. Nas parcelas onde os níveis populacionais foram baixos ou zero de *P. zea* os genótipos foram sorteados para aplicação dos nematicidas. As avaliações de quantificação de *P. zea* no solo e raízes foram realizadas na época do florescimento, quando amostras de solo e raízes de dez plantas de cada parcela foram processadas de acordo com as metodologias de Jenkins (1964) e Coolen e D’Herde (1972) modificado e a contagem realizada em câmara de Peterson no microscópio óptico. Os dados de produtividade (kg/ha) foram coletados no final do ciclo das linhagens e cultivares de arroz. Para as análises estatísticas os dados das variáveis peso de raízes (g) e produtividade (kg/ha) foram submetidos a ANOVA e a distribuição normal, sendo

aplicado o teste de Scott Knott à 5%, para comparação das médias, porém para as demais variáveis foi considerado a distribuição de Poisson (Modelos Lineares Generalizados).

### 3.3. RESULTADOS

3.3.1. Reação de linhagens e cultivares de arroz a *Pratylenchus zae* em casa de vegetação.

As raízes das plantas colhidas mostraram-se necrosadas, apodrecidas, pouco desenvolvidas. Os resultados obtidos em casa de vegetação confirmaram a boa hospedabilidade dos genótipos de arroz a *P. zae* (**Tabela 9**). A análise multivariada de agrupamento e similaridade classificou os genótipos em dois grupos. No **Grupo 2** a cultivar de sorgo BRS 655 (testemunha suscetível) foi semelhante às linhagens e cultivares de arroz (AN Cambará, BRS Esmeralda, BRS Sertaneja, AB 092002 e AB 112335) comportando-se como as melhores multiplicadoras de *P. zae*. Entretanto, no **Grupo 1** a cultivar BRS A 501 CL e às linhagens CMG 1590 e AB 092014 foram boas multiplicadoras também à semelhança do milho BRS 4103 (testemunha suscetível). Portanto, todos os genótipos de arroz foram excelentes hospedeiros de *P. zae*.

**Tabela 9.** Avaliação da hospedabilidade de linhagens e cultivares de arroz em relação a *Pratylenchus zae* em casa de vegetação.

Genótipos	1/Peso Raiz	1/ <i>P. zae</i> 200 cm <sup>3</sup> solo	1/ <i>P. zae</i> Raiz	1/ <i>P. zae</i> Solo Total	1/População Total	1/Fator de Reprodução	2/CLUSTER
MILHO BRS 4103	38,42	0,00	5.507,95	0,00	5.507,95	27,54	1
Arroz CGM.1590	25,42	20,00	4.649,10	200,00	4.849,10	24,24	1
Arroz AB.092014	23,05	72,75	3.881,83	727,50	4.609,33	23,04	1
Arroz BRS A501.CL	16,65	28,25	3.553,75	282,50	3.836,25	19,18	1
SORGO BRS 655	26,94	129,50	8.043,12	1.295,00	9.338,12	46,69	2
Arroz AN Cambará	26,00	51,00	8.542,35	510,00	9.052,35	45,26	2
Arroz BRS Esmeralda	35,34	118,50	7.074,78	1.185,00	8.259,78	41,30	2
Arroz AB. 092002	33,86	33,00	7.350,18	330,00	7.680,18	38,40	2
Arroz AB. 112335	36,90	15,00	7.528,95	150,00	7.678,95	38,39	2
Arroz BRS Sertaneja	29,63	52,50	7.092,90	525,00	7.617,90	38,09	2

<sup>1</sup>Os dados originais são médias de cinco repetições. <sup>2</sup>Médias seguidas da mesma numeração foram agrupadas em um único cluster pela análise multivariada de agrupamento e similaridade de Ward.

Baseando-se nos valores do fator de reprodução ( $FR > 1$  – suscetíveis); ( $FR < 1$  resistentes) e ( $FR = 0$  – imunes), podemos afirmar que a maioria das populações de *P. zea* foram patogênicas aos genótipos testados, a exceção da população *Pz Pr* que se mostrou patogênica, apenas no milho BRS 4103 e na linhagem de arroz AB 092014, e sendo imune a cultivar BRS Sertaneja. Considerando os valores de fator de reprodução de cada população entre os genótipos avaliados, podemos classificar de acordo com o teste de Scott Knott a 5%, as populações com alta agressividade as de União do Sul – MT, Itapecuru – MA, Ipameri – GO, e Paraúna- GO, com moderada agressividade as de Arari – MA e Igarapé – MA e com baixa agressividade a de Palotina – PR.

### 3.3.2. Avaliação da patogenicidade de diferentes populações de *Pratylenchus zea* em linhagens e cultivares de arroz em casa de vegetação

Através da análise de variância ANOVA ( $P \leq 0,05$ ) foi verificado o efeito significativo entre os genótipos e as populações de *P. zea*. Com base nos valores do fator de reprodução observou-se que houve diferença na capacidade reprodutiva das populações mesmo dentro das plantas utilizadas como testemunha de suscetibilidade (**Tabela 10**). A cultivar de milho BRS 4103 destacou-se entre as testemunhas com maiores valores de fator de reprodução para a maioria das populações de *P. zea* avaliadas, assim como a cultivar de sorgo BRS 655 foi melhor multiplicadora das populações do que a cultivar de Sorgo BRS 511. Quanto às linhagens AB 092002 e AB 092014 e a cultivar BRS Sertaneja de arroz, os fatores de reprodução foram elevados semelhantes aos da cultivar de milho BRS 4103, utilizada como padrão de suscetibilidade, o que demonstra ser a cultura do arroz suscetível a *P. zea*.

### 3.3.3. Avaliação do nível de dano causado por *Pratylenchus zea* em plantas de arroz em casa de vegetação.

Através da análise de variância ANOVA ( $P \leq 0,05$ ) foi verificado efeito significativo entre genótipos e inóculo inicial ( $P_i$ ). Com a aplicação do teste de Scott-Knott a 5% houve diferença entre as médias das variáveis avaliadas (Tabelas 11 e 12). A comparação do desenvolvimento das plantas de arroz durante os primeiros 90 dias entre as linhagens AB 092002 e AB 092014, ambas suscetíveis a *P. zea*, submetidas a diferentes níveis de inóculo inicial ( $P_i$ ) evidenciou que a linhagem AB 092002 foi mais

**Tabela 10.** Avaliação do fator de reprodução de sete populações de *Pratylenchus zeae* oriundas do cerrado brasileiro em três genótipos de arroz e plantas testemunhas de suscetibilidade.

<b>Populações</b>	<b><i>Pz Us</i></b>	<b><i>Pz Ara</i></b>	<b><i>Pz Ita</i></b>	<b><i>Pz Ipa</i></b>	<b><i>Pz Iga</i></b>	<b><i>Pz Pa</i></b>	<b><i>Pz Pr</i></b>
<b>Genótipos</b>							
Milho BRS 4103	<sup>1/</sup> 18,09 Aa	23,80 Aa	17,60 Aa	23,48 Aa	6,35 Bb	10,86 Ab	1,69 Bc
Sorgo BRS 511	1,79 Ba	1,15 Ca	0,86 Cb	1,73 Ba	2,25 Ba	2,08 Ba	0,08 Bb
Sorgo BRS 655	6,28 Ba	2,13 Cb	4,56 Ba	7,75 Ba	1,86 Bb	5,49 Ba	0,13 Bc
Arroz AB 092002	16,01 Aa	0,97 Cc	7,71Bb	35,73 Aa	15,94 Aa	24,24 Aa	0,86 Bc
Arroz AB 092014	16,00 Aa	7,35 Bb	11,30 Aa	13,21 Aa	11,33 Aa	18,35 Aa	3,31 Ab
Arroz BRS Sertaneja	16,36 Aa	8,55 Bb	6,59 Bb	19,36 Aa	6,15 Bb	7,63 Bb	0,00 Cc
<b>CV%</b>	12,89						

<sup>1/</sup>Os dados são médias de cinco repetições. Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e mesma letra maiúscula na vertical não diferem pelo teste Scott Knott a 5%.<sup>a</sup>População de *Pratylenchus zeae*: ***Pz Ara*** = Arari (MA), ***Pz Iga*** = Igarapé (MA), ***Pz Ipa*** = Ipameri (GO), ***Pz Ita*** = Itapecuru (MA), ***Pz Pr*** = Palotina (PR), ***Pz Pa*** = Paraúna (GO) e ***Pz Us*** = União do Sul (MT).

sensível ao parasitismo por *P. zea* do que a linhagem AB 092014, em especial ao nível populacional  $P_i$  9.000 (**Tabela 11**). As diferenças entre as alturas de plantas e os números de perfilhos entre genótipos foram inerentes a cada linhagem, entretanto, ao compararmos os níveis de inóculo ( $P_i$ ), dentro de cada linhagem (**Tabela 11**), a maior densidade populacional ( $P_i = 9.000$ ), afetou a altura das plantas e o número de perfilhos em todas as épocas de avaliação após a inoculação em plantas da linhagem AB 092002 (dados não mostrados), porém não foram verificadas diferenças em altura das plantas na linhagem AB 092014 em todos os níveis de  $P_i$ . (**Tabela 11**). O número de perfilhos na linhagem AB 092014 somente foram afetados aos 90 dias da inoculação nos níveis  $P_i = 6.000$  e 9.000.

Ao final de 120 dias da inoculação, as plantas colhidas foram avaliadas, sendo observado também para a linhagem AB 092002 que os parâmetros de peso fresco e seco da parte aérea, peso de raízes foram bastante afetados em comparação à linhagem AB 092014 (**Tabela 12**), que não evidenciou nenhum dano nas variáveis peso fresco e seco da parte aérea, a exceção do peso de raízes em plantas inoculadas com nível  $P_i = 9.000$ . As variáveis que mostraram efeito negativo pelo ataque de *P. zea* em comparação com as plantas não inoculadas com o nematoide foram reduzidas em: AB 092002 (altura de plantas – 7,01% ( $P_i$  9.000); número de perfilhos – 36,81% ( $P_i$  9.000); peso fresco da parte aérea – 19,54% ( $P_i$  9.000); peso seco da parte aérea – 16,93% ( $P_i$  9.000); e peso de raízes – 18,86% ( $P_i$  1.000), 29,02% ( $P_i$  3.000), 24,09% ( $P_i$  6.000) e 42,79% ( $P_i$  9.000). Para a linhagem AB 092014, somente o número de perfilhos – 29,65% ( $P_i$  6.000) e 31,02% ( $P_i$  9.000); peso de raízes – 38,59% ( $P_i$  9.000) (**Tabelas 11 e 12**). Em relação à multiplicação de *P. zea*, esta foi maior na linhagem AB 092002 do que na linhagem AB 092014, com fatores de reprodução entre (250,02 e 935,76) e (67,32 e 246,89), respectivamente (**Tabela 12**).

Os dados mostraram que na linhagem AB 092002 a população média de 44.905,55 de *P. zea* nas raízes foi associadas a danos nas raízes quando plantas foram submetidas a populações de  $P_i = 1.000$ . Fato este também observado na linhagem AB 092014, onde população semelhante de 46.338,50 somente foram detectadas causando danos nas raízes quando plantas foram submetidas a  $P_i = 9.000$ .

#### 3.3.4. Avaliação do nível de dano e perda causadas por *Pratylenchus zeae* em plantas de arroz em campo.

Para as variáveis peso de raízes e produtividade foi considerada a ANOVA e a distribuição normal, e para as demais variáveis foi considerada a distribuição de Poisson (Tabela 13). Os resultados evidenciaram que o tratamento químico apresentou menores populações de *P. zeae* por grama de raízes e 100 cm<sup>3</sup> de solo em todas as cultivares e linhagens de arroz avaliadas, quando comparadas às populações onde não foram aplicados nematicidas (Testemunha), sendo observado diferenças na densidade da população de *P. zeae* entre os tratamentos com nematicidas. Os tratamentos sem nematicidas (Testemunha) evidenciaram que *P. zeae* pode causar danos às raízes (g) e perda de rendimento em produtividade do arroz (kg/ha) entre 3,38% e 30,45% a depender do genótipo utilizado ( $P \leq 0,05$ ). O uso de nematicidas melhorou de 3,55% a 43,79% os rendimentos em produtividade nos genótipos com maior porcentagem de perda, porém não influenciaram em aumentos de rendimentos nos genótipos onde não foram observadas perdas de rendimento ( $P \leq 0,05$ ).

Foi observado que níveis populacionais de *P. zeae* no sistema radicular em genótipos de arroz não pode ser indicativo de perda nos rendimentos (kg/ha). Perdas foram quantificadas em níveis variados de populações nos diferentes genótipos a seguir: Na linhagem AB 092002 (10.727,99 *P. zeae*/perda de 30,35%), na cultivar BRS Esmeralda (11.299,96 *P. zeae*/perda de 15,78%), na linhagem CMG 1590 (11.146,93 *P. zeae*/perda de 15,98%), na cultivar BRS Sertaneja (14.109,98 *P. zeae*/perda de 10,78%), ao contrário de genótipos onde não foram verificadas perdas nos rendimentos entre não tratados (Testemunha) e tratados com nematicidas, tais como na cultivar AN Cambará (8.372,47 *P.zeae*), na cultivar BRS A501CL (8.869,14 *P.zeae*), na linhagem AB092014 (8.131,44 *P. zeae*) e na linhagem AB 112335 (19.440,37 *P. zeae*), com destaque a esta última, onde populações mais elevadas do nematoide não causaram queda na produtividade.

**Tabela 11.** Altura média das plantas (cm) e número médio de perfilhos em plantas das linhagens de arroz AB 092002 e AB 092014 aos 90 dias da inoculação com cinco níveis de inóculo de *Pratylenchus zaeae* em casa de vegetação. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Ano 2018.

<b>Linhagem</b>	<b>Pi (<i>P. zaeae</i>)</b>	<b><sup>1/</sup>Altura média das plantas (cm)</b>	<b><sup>1/</sup>Número médio de perfilhos</b>
AB092002	0	80,23 A	8,53 A
	1.000	80,49 A	7,17 A
	3.000	81,22 A	7,89 A
	6.000	82,63 A	7,67 A
	9.000	74,60 B (7,01%)	5,39 B (36,81%)
AB 092014	0	69,55 A	7,35 A
	1.000	68,57 A	7,03 A
	3.000	68,31 A	6,42 A
	6.000	69,07 A	5,17 B (29,65%)
	9.000	71,91 A	5,07 B (31,02%)
CV%		10,35	8,46

<sup>1/</sup>Os dados são médias de quatro repetições. Valores entre parênteses (percentagem de redução). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical dentro de cada linhagem não diferem estatisticamente pelo teste de Scott knott a 5%.

**Tabela 12.** Variáveis agrônomicas de plantas e, de reprodução de nematoides em plantas das linhagens de arroz AB 092002 e AB 092014 aos 120 dias da inoculação com cinco níveis de inóculo de *Pratylenchus zae* em casa de vegetação. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Ano 2018.

<b>Linhagem</b>	<b>Pi (<i>P. zae</i>)</b>	<b><sup>1/</sup>Peso Fresco Médio Parte Aérea (g)</b>	<b><sup>1/</sup>Peso Seco Médio Parte Aérea (g)</b>	<b><sup>1,2/</sup>Peso Médio Total Raiz</b>	<b><sup>1,2/</sup>Número médio de <i>P. zae</i> Raiz</b>	<b><sup>1,2/</sup>Número médio de <i>P. zae</i> Solo</b>	<b><sup>1/</sup>FR</b>
AB 092002	0	61,28 A	20,85 A	103,56 A	0,00 D	0,00 C	-
	1000	61,48 A	20,81 A	84,02 B (18,86%)	44.905,77 C	100,00 B	45,00
	3000	63,60 A	22,17 A	73,50 C (29,02%)	101.779,80B	470,00 A	34,08
	6000	57,31 A	20,28 A	78,61 C (24,09%)	100.688,45B	410,00 A	16,84
	9000	49,30 B (19,54%)	17,32 B (16,93%)	59,24 D (42,79%)	194.157,88A	915,00 A	21,67
AB 092014	0	46,42 A	19,62 A	32,44 A	0,00 C	0,00 C	-
	1000	52,00 A	19,71 A	31,45 A	12.594,60 B	870,00 B	13,46
	3000	46,43 A	19,51 A	28,21 A	30.770,00 A	890,00 B	10,55
	6000	54,66 A	20,73 A	29,25 A	21.496,65 B	1.150,00 B	3,77
	9000	51,08 A	20,73 A	19,92 B (38,59%)	46.338,50 A	3.040,00 A	5,4
<b>CV %</b>		9,51	8,94	7,45	16,42	57,33	

<sup>1/</sup> Os dados são médias de quatro repetições. Valores entre parênteses (percentagem de redução). <sup>2/</sup> Para análise e comparação de médias, os dados foram transformados em  $\sqrt{x}$ . Médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical dentro de cada linhagem não diferem estatisticamente pelo teste de Scott knott a 5%.

**Tabela 13.** Avaliação de danos e perdas em genótipos de arroz causadas por *Pratylenchus zae* em campo. Embrapa Arroz e Feijão. Safra 2017/2018.

Genótipos	Tratamentos	<sup>1</sup> Peso raiz (g)	<i>P. zae</i>	<i>P. zae</i>	<i>P. zae</i>	<sup>1</sup> Produtividade kg/ha	Potencial Produtivo Kg/ha	% Perda	% Aumento
			Total/Raiz	<sup>1</sup> Gramas/Raiz	<sup>1</sup> 100 cm <sup>3</sup> Solo				
AN Cambará	Testemunha	33,82 a	8.372,47	247,56 a	1.301,25 a	3.359,50 a	5.500	-	-
	Cropstar	31,82 a	2.734,99	85,95 b	822,00 b	2.854,25 a		-	-
	Rugby	32,57 a	1.168,74	35,88 c	400,00 c	3.376,00 a		-	-
BRS Esmeralda	Testemunha	32,65 b	11.299,96	346,09 a	893,75 a	4.310,25 b	9.206	-	-
	Cropstar	45,05 a	6.817,46	151,33 b	787,50 b	4.463,50 b		3,38	3,55
	Rugby	51,71a	8.132,48	157,27 b	540,25 c	5.118,25 a		15,78	18,74
CMG 1590	Testemunha	37,89 b	11.146,93	294,19 a	772,00 a	3.794,00 b	9.685	-	-
	Cropstar	42,40 a	5.416,09	127,73 c	700,00 a	4.516,50 a		15,98	19,02
	Rugby	53,12 a	8.132,45	153,09 b	290,00 b	4.155,75 a		8,7	9,53
BRS A 501 CL	Testemunha	48,46 a	8.869,14	183,02 a	1.244,50 a	4.844,75 a	8.158	-	-
	Cropstar	54,42 a	5.915,99	108,71 c	430,25 b	4.682,75 a		-	-
	Rugby	54,99 a	8.079,95	146,93 b	1.095,75 a	5.165,50 a		-	-
BRS Sertaneja	Testemunha	38,51 b	14.109,98	366,39 a	2.524,25 a	5.217,75 b	7.898	-	-
	Cropstar	58,36 a	11.639,96	199,45 b	1.725,00 b	5.848,50 a		10,78	12,00
	Rugby	57,99 a	10.950,77	188,83 b	628,00 c	5.128,50 b		-	-
AB 092002	Testemunha	38,72 b	10.727,99	277,06 a	1.378,50 a	3.302,00 c	7.892	-	-
	Cropstar	50,20 a	9.252,96	184,32 b	323,02 c	3.863,50 b		14,53	17,00
	Rugby	51,97 a	8.940,24	172,02 b	767,75 b	4.748,25 a		30,45	43,79
AB 092014	Testemunha	39,86 a	8.131,44	204,00 a	689,00 b	4.857,00 a	8.566	-	-
	Cropstar	40,96 a	6.517,06	159,10 b	549,00 c	4.631,75 a		-	-
	Rugby	43,01 a	5.751,46	133,72 a	887,00 a	4.089,50 a		-	-
AB 112335	Testemunha	47,92 a	19.440,37	405,68 a	1.095,50 a	4.917,50 a	7.708	-	-
	Cropstar	55,31 a	7.087,97	128,15 c	353,75 c	4.962,25 a		-	-
	Rugby	44,35 a	14.527,46	327,56 b	684,25 b	4.621,75 a		-	-

Para as variáveis peso de raiz (g) e produtividade (kg/ha) foi considerada a ANOVA e a distribuição Normal, e para as demais foi considerada a distribuição de Poisson (Modelos lineares generalizados). Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical dentro de cada genótipo não diferiram estatisticamente pelo teste de Scott Knott a 5%.

### 3.4. DISCUSSÃO

Apesar da escassez de trabalhos abordando reação do arroz aos nematoides das lesões radiculares, diversos autores citam a cultura como suscetível a este parasita (Fortuner e Merny, 1979; Ferraz, 1999; Warda, 2004; Castillo e Vovlas, 2007; Goulart, 2008). Em trabalho com arroz, Plowright et al. (1990) classificaram a cultivar Upl Ri-5 como suscetível a *P. zaeae*, porém, as variedades Kinandang e IR36 foram caracterizadas como relativamente resistentes em comparação com a reprodução média do nematoide nas demais cultivares estudadas. Em outro trabalho, Plowright et al. (1999) verificaram a alta suscetibilidade da cultura do arroz a *P.zaeae*, quando avaliaram a reação de cultivares de *Oryza glaberrima* Steud e *O. sativa*, bem como a progênie, e observaram que todos os materiais foram suscetíveis ao nematoide. Prasad e Rao (1982) selecionaram vários genótipos de arroz de terras altas em relação a *P. indicus* adotando quatro níveis populacionais por planta como parâmetro de resistência (abaixo de 100, 200, 300 e 400 nematodes/planta).

Contudo, há poucas informações a respeito da reação dos diferentes genótipos de arroz em relação aos nematoides das lesões radiculares, especialmente daqueles cultivados no Brasil, assim como, pouco é conhecido sobre a patogenidade e o nível de danos na cultura do arroz. Entre as cultivares de arroz, hoje plantadas em larga escala pelas boas qualidades de adaptação e produtividade no cerrado brasileiro, as cultivares BRS Esmeralda, BRS Sertaneja geradas pela Embrapa e a cultivar AN Cambará gerada pela Agronorte, estas confirmaram ser boas multiplicadoras de *P. zaeae*. Estudos em casa de vegetação e a campo realizados por Biela (2013) e Rios (2014) para a avaliação de genótipos de arroz a *P.brachyurus* e *P.zaeae* relataram a boa hospedabilidade de todos os materiais avaliados a esses nematoides, com fatores de reprodução superiores às testemunhas de milho e milheto, variando entre 1,39 a 8,99. Nos experimentos de campo e de casa de vegetação, em nosso estudo foi confirmada a suscetibilidade das cultivares e linhagens de arroz a *P. zaeae*, com fatores de reprodução entre 19,18 a 45,26.

A suscetibilidade da cultura do arroz a *P.brachyurus* e *P.zaeae* demonstra sua limitação em uso nos sistemas de rotação de cultura associada ao plantio de soja, feijão, algodão, milho, e outras gramíneas em áreas infestadas pelo nematoide. Porém, havendo-se a necessidade de cultivo nestas áreas de plantas hospedeiras, deve-se optar por genótipos que apresentem menores fatores de reprodução. Nesse contexto, a utilização de cultivares de soja com graus diferenciados de resistência (fatores de reprodução) e a

aplicação de medidas mais rigorosas de controle aos nematoides das lesões radiculares têm sido adotadas pela DuPont Pioneer no Brasil (Du Pont Pioneer, 2018). Portanto, quanto mais elevado o índice de infestação mais promissor será o controle de *Pratylenchus* com a utilização de cultivares com os mais baixos fatores de reprodução ou com imunidade.

Diferenças em agressividade entre populações da mesma espécie de *Pratylenchus* é um fato bastante relatado na literatura (Silva e Inomoto, 2002). Machado et al. (2007a, 2007c), Siqueira (2007) e Siqueira e Inomoto (2008) demonstraram a existência de variação de agressividade em populações de *P. brachyurus* no Brasil, para cultivares de algodoeiro, forrageiras e feijoeiro caupi. Bisognin (2017) em levantamento de *Pratylenchus* spp., na cultura da cana-de-açúcar caracterizou por meio de análises de morfologia e morfometria, 100% de *P. zae* em todas as amostras coletadas e em apenas uma amostra coletada no município de Caxias do Sul a espécie *P. brachyurus* estava associada a *P. zae*. Posteriormente, avaliou em casa de vegetação a agressividade de quatro populações, sendo três populações de *P. zae*, provenientes de Crissiumal, Pelotas e Caxias do Sul e uma população de *P. brachyurus* proveniente de Porto Xavier, as quais foram inoculadas em dois genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis a *P. zae*, sendo eles RB935581 e RB966928, e concluíram que todas as populações se reproduziram em ambas as cultivares de cana-de-açúcar, apresentando  $FR > 1$ , demonstrando níveis de agressividade distintos, os quais influenciaram negativamente no desenvolvimento de alguns parâmetros de desenvolvimento da planta, sendo os mais afetados, o diâmetro do colmo e massa fresca deraiz.

A escolha do isolado do nematoide a ser utilizado em avaliações da resistência de cultivares é de fundamental importância nos programas de melhoramento. De acordo com Boerma e Hussey (1992), plantas com altos níveis de resistência a nematoide podem ser identificadas ao se utilizar isolados com alto grau de agressividade. Entretanto, essa possibilidade é bem mais promissora, quando na seleção de plantas para resistência é utilizada uma mistura de isolados do nematoide com os maiores graus de agressividade provenientes de diferentes regiões geográficas.

Plowright et al. (1990), verificaram que em estufa, plantas submetidas a populações iniciais de 630 e 3.000 de *P. zae* por 100 cm<sup>3</sup> de solo mostraram redução significativa na taxa de crescimento e perfilhamento, além de apresentarem sistemas radiculares atrofiados, com redução de 40 a 60% no peso da raiz. Populações de *Pi* (1.000, 3.000, 6.000 e 9.000) de *P. zae* em casa de vegetação aqui foram causadoras de reduções

consideráveis sobre os pesos de raízes nas plantas da linhagem AB 092002, com destaque maior aos demais parâmetros em  $P_i = 9.000$ . Entretanto na linhagem AB 092014 essas reduções foram apenas observadas em  $P_i$  (6.000 e 9.000) no parâmetro número de perfilhos e  $P_i = 9.000$  sobre peso de raízes. Essas observações confirmaram os relatos de Sahoo e Sahu (1993) quando observaram reduções na altura de plantas, peso fresco da parte aérea e peso de raízes em plantas de arroz inoculadas com 10.000 *P. zae* em casa de vegetação. Prasad e Rao (1988) também observaram em estufa que inóculo inicial de 5.000 de *P. indicus* foi capaz de causar morte de plantas após 10 dias da inoculação e que a densidade populacional inicial de 500 de *P. indicus* afetou o desenvolvimento e maturadas brotações, crescimento radicular, número de perfilhos, rendimento de grãos por planta, a massa seca da parte aérea e o peso fresco das raízes. O efeito no crescimento das plantas, incluindo a redução do rendimento, foi geralmente relacionado ao nível de inóculo inicial e população final de nematoides em raízes esolo.

Danos na safra estão relacionados à densidade de nematoides do solo na germinação. Quanto a influência destes nematoides sobre a planta de arroz, Prasad e Rao (1978b, 1988) observaram que a espécie *P. indicus* pode causar a morte da planta em 40 a 50 dias após a germinação em solos infestados. Altas densidades populacionais de *P. zae* na pré- sementeira podem afetar o estabelecimento e reduzir o rendimento mínimo no campo, e normalmente o dano às raízes, e possível morte eventual das plantas, torna-se óbvio a partir de 30 a 40 dias após a germinação, quando populações de *P. zae* encontram-se elevadas na fase inicial de plantio (Plowright et al., 1990). Entretanto, não há evidências de que tais densidades elevadas, equivalentes as usadas aqui no experimento de casa de vegetação, ocorram no campo. Prasad e Rao (1978a) encontraram em campo baixas densidades populacionais de *P. indicus* (3-16 nematoides/100cm<sup>3</sup> de solo) e comentaram que em sistemas de cultivo de arroz, onde a prática de um período de pousio antes do arroz é realizada, densidades populacionais de *P. indicus* rapidamente declínam para esses níveis baixos, a menos que seja rotacionado arroz e outras culturas suscetíveis, como o milho, favorecendo conseqüentemente que populações de *P. zae* sejam elevadas. Na área experimental da Embrapa, a baixa densidade populacional de *P. zae*, pode ser justificada pela seqüência de prática cultural anterior (pousio e restos culturais de soja – soja–pousio e restos culturais de soja–soja) e, em seguida, o plantio dos oito genótipos de arroz de sequeiro semeados diretamente. Perdas em rendimento na produtividade de arroz devido a danos nas raízes mesmo em baixas densidades populacionais de *P. zae* foram relatadas (Prot e Savary, 1993). Embora as densidades

populacionais de *P. zae* antes do plantio no experimento de campo tenham sido baixas e provavelmente próximos do nível mínimo detectável (38 – 330), mesmo assim a perda de rendimento pôde ser observada entre os genótipos de arroz. Contudo, nenhum sintoma visível de plantas raquíticas, amareladas típicas de ataque por nematoides foi observado em todos os genótipos, porém os sistemas radiculares das plantas exibiram altos índices de necroses e apodrecimentos característico do ataque de *Pratylenchus* spp. Resultados similares a esses em campo da Embrapa Arroz e Feijão foram também observados por Plowright et al. (1990), em campo com perdas em rendimento em cultivar de arroz suscetível com população inicial de 0 – 111 *P. zae*/100 cm<sup>3</sup> de solo.

Reduções no rendimento na cultura do arroz em terras altas na Índia e Paquistão têm sido atribuídas a algumas espécies de nematoides das lesões radiculares, como por exemplo, *Pratylenchus indicus* (Prasad e Rao, 1978b) e *P. thornei* (Pankaj et al., 2012). A perda de rendimento da cultura devido a populações elevadas de *P. zae* aqui no experimento de campo na fase de florescimento foi facilmente observada quando foi realizado o controle com os nematicidas Rugby e Cropstar. As perdas observadas, que variaram entre 3,38%-30,45%, puderam ser revertida sem aumentos de rendimento entre 3,55% a 43,79%, em genótipos mais suscetíveis afetados pelo nematoide, em especial nas cultivares BRS Esmeralda e BRS Sertaneja e nas linhagens CMG 1590 e AB 092002, fato não observado nas cultivares AN Cambará e BRS A 501 CL e nas linhagens AB 092014 e AB 112335 igualmente suscetíveis, onde não foram verificadas quedas de rendimentos e nem diferenças em comparação aos rendimentos das plantas tratadas com nematicidas. Resultados similares foram obtidos por Plowright et al. (1990), quando avaliando os danos de *P. zae* sobre duas cultivares de arroz suscetíveis (cv. Upl Ri-5 e cv. KinandangPatong) constataram o aumento de rendimento de 13%-29% sobre plantas infectadas da cv. Upl Ri-5 quando foram tratadas com carbofuran (doses diferentes), não sendo observado aumento de rendimento nas plantas de cv. KinandangPatong submetidas ao mesmo tratamento com o nematicida.

Resultados semelhantes aos encontrados aqui em relação aos danos por *P. zae* em arroz, foram observados na cultura da cana-de-açúcar por Dinardo-Miranda (1990) que constatou que *P. brachyurus* se multiplicou nas raízes de duas variedades, sem causar prejuízos a nenhuma delas, e considerou ambas tolerantes ao nematoide, porém *P. zae* não causou reduções de produtividade na variedade SP70-1143 que foi caracterizada como resistente. No caso da variedade SP71-1406, *P. zae* provocou perdas significativas na produtividade, e a variedade foi considerada susceptível.

O experimento de campo realizado na Embrapa Arroz e Feijão demonstrou que *P. zae* pode causar danos à produtividade de arroz a depender da característica de tolerância dos genótipos utilizados. No campo, tolerância a nematoides dependerá da temperatura e umidade, portanto, danos causados por *P. zae* seriam mais evidentes em condições de cultivo de sequeiro, onde essas condições são mais variáveis. Kable e Mai (1968) observaram que a distribuição de *Pratylenchus* foi influenciada pela interação entre tipo de solo e umidade. Estratégias para evitar a seca em plantas, como raízes mais profundas, também podem fornecer tolerância a nematoides. Uma correlação positiva também foi observada entre areia e abundância de *P. neglectus* por Yavuzaslanoglu et al. (2012), onde a interação entre propriedades do solo e variáveis climáticas também influenciaram a distribuição do nematoide. Semeadura de arroz de terras altas é feita no início das primeiras chuvas e a sobrevivência das plântulas e os rendimentos são completamente dependentes do progresso da estação chuvosa. Coyne et al., (2001) e Coyne e Plowright (2002) relataram que *Meloidogyne* e *Pratylenchus* são mais destrutivos no início da lavoura.

Quanto às densidades de *P. zae* entre os experimentos de casa de vegetação e campo, pode-se observar que as densidades populacionais de *P. zae* em casa de vegetação foram maiores do que em condições de campo. Entretanto, em ambos experimentos, perdas puderam ser quantificadas sobre o desenvolvimento e produtividade das cultivares e linhagens avaliadas. A linhagem AB092002 confirmou ser mais sensível e danificada por *P. zae* do que AB092014 em ambas condições, o que confirma ser esta última uma linhagem tolerante a *P. zae*. Expressão de tolerância em vasos pode ser facilitada pela umidade adequada do solo, o que ajudaria aliviar o efeito da redução significativa da raiz. No campo, tolerância a nematodes dependerá da umidade e, portanto, danos causados por *P. zae* seriam mais evidentes na seca ou condições de crescimento geralmente desfavoráveis.

De acordo com Prot e Savary (1993), a cultura do arroz pode tolerar aproximadamente 672 *P. zae* por grama de raiz e, acima deste nível populacional, o rendimento da cultura pode ser gravemente afetado. Nas observações aqui do experimento de campo, essa afirmativa não foi coerente, pois os genótipos avaliados e gerados no Brasil, que evidenciaram maiores perdas nos pesos de raízes (g) e rendimentos (kg/ha) (BRS Sertaneja, BRS Esmeralda, CMG 1590, e AB 092002) abrigaram (366,39; 346,09 294,19 e 277,06 *P. zae* por grama de raiz respectivamente), ao contrário dos genótipos tolerantes (AB 112335, AN Cambará, AB 092014 e BRS A 501 CL) que

abrigaram (405,68; 247,56; 204,00 e 183,02 *P. zae* por grama de raiz respectivamente). Pankaj et al.(2012) observaram que populações de 406 *P. thornei* por 200 cm<sup>3</sup> de solo e 32 nematoides por 0,5 g de raízes causaram danos severos em campo de arroz na Índia.

Portanto, perda de rendimento depende então da sensibilidade e tolerância de uma determinada cultivar de arroz. No entanto, diferenças consistentes na suscetibilidade entre cultivares de arroz a *P. zae* pode revelar-se útil. Se futuros testes mostrarem que a tolerância a infecção por *P. zae* é estável e generalizada, então essa constatação será promissora no manejo de *Pratylenchus*, especialmente em cultivos de sequeiro.

### 3.5. CONCLUSÕES

1. Todas as linhagens e cultivares de arroz avaliadas foram suscetíveis a *P.zeae*.
2. Populações de *P. zeae* diferem em agressividade sobre plantas hospedeiras. A população de Palotina – PR demonstrou ser de baixa agressividade entre todas as hospedeiras, apresentando fator de reprodução igual a (0) zero na cultivar BRS Sertaneja de arroz.
3. Os resultados de casa de vegetação e campo mostraram que independentemente da suscetibilidade, os genótipos de arroz podem ser danificados ou não por *P. zeae*, e que níveis de infestação iniciais mais altos podem comprometer o desenvolvimento das plantas de arroz no início do seu ciclo a depender do genótipo.
4. Em campo podemos afirmar que a depender da população existem diferenças de agressividade, como também das cultivares e linhagens de arroz, embora multipliquem *P. zeae*, elas diferem quanto a tolerância e aos danos causados nas raízes e na perda em produtividade (kg/ha). O tratamento de sementes ou a aplicação no sulco com nematicidas melhoram os rendimentos de linhagens e cultivares de arroz ao ataque de *P.zeae*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUNG, T.; MATIAS, D.; MEW, T. W. 1988. Effect of cropping sequences on field populations of *Pratylenchus zae*, *Tylenchorhynchus annulatus* and *Helicotylenchus crenacauda*. *Philippine Phytopathology*,24:59.
- AUNG, T.; PROT, J.C. 1990. Effects of crop rotations on *Pratylenchus zae* and on yield of rice cultivar UPL Ri-5. *Revue de Nématologie*, 13 (4):445-447.
- BIELA, F.2013. Reação de genótipos de arroz frente a nematoides das lesões radiculares e herdabilidade da resistência. 62 f (tese de mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná.
- BISOGNIN, A. C. 2017. Caracterização morfológica e agressividade de populações de *Pratylenchus* spp. Provenientes de cana de açúcar e manejo de fitonematoides na cultura pelo emprego de rizobactérias. 89 f. (tese de mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.
- BOERMA, H. R.; HUSSEY, R. S. 1992. Breeding plants for resistance to nematodes. *Journal of Nematology*, 24: 242-252.
- BRIDGE J.; PLOWRIGHT R.A.; PENG D.2005. Nematode parasites of rice. Pp. 87-130. *In: Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture—Second Edition* (Luc M., Sikora R.A. and Bridge J., eds). CABI Publishing, Wallingford, UK. CAB International.
- CASTILLO, P.; VOVLAS, N. 2007. Diagnosis and descriptions of *Pratylenchus* species. *In: Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. First edition. Córdoba, 6 (4): 51-280.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE D. J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *State of Nematology and Entomology Research Station, Ghent*. p. 372.
- COYNE, D. L.; SMITH, M.; PLOWRIGHT, R. 2001. Plant parasitic nematode populations on upland and hydromorphic cricein Ivory Coast: relationships with moisture availability and crop development on a valley slope. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 84:31–43.
- COYNE, D. L.; PLOWRIGHT, R. 2002. Assessment of the importance of individual plant-parasitic nematode species in a community dominated by *Heterodera sacchari* on upland rice in Cote d'Ivoire. *Nematology*, 4:661–669.

- CRUSCIOL, C. A. C.; MACHADO, J. R.; ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F. 1999a. Componentes de reprodução e produtividade de grãos de arroz de sequeiro em função do espaçamento e da densidade de sementeira. *Scientia Agricola*, 56 (1): 53-62.
- CRUSCIOL, C. A. C.; MACHADO, J. R.; ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F. 1999b. Matéria seca e absorção de nutrientes em função do espaçamento e da densidade de sementeira em arroz de terra alta. *Scientia Agricola*, 56 (1): 63-70.
- DINARDO-MIRANDA, L. L. 1990. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *P. zae* (Nemata: Pratylenchidae) a duas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.). 51 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Escola Superior de agricultura” Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- DU PONT PIONEER Manejo-Nematoides-Culturas-Soja-Milho.pdf Acesso 21/12/2018. <http://www.pioneersementes.com.br/DownloadCenter/Comunicado-Tecnico>
- EVERITT, B. S. 1993. Cluster Analysis. 3. ed. London: Edward Arnold, 170 p.
- FERRAZ, L. C. C. B. 1999. Gênero *Pratylenchus*: os nematoides das lesões radiculares. Revisão Anual de Patologia de Plantas, 7: 157-195.
- FERREIRA, D. F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, 35 (6): 1039-1042.
- FILIPJEV, I. N. 1936. On the classification of the Tylenchinae. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 3:80-2.
- FORTUNER, R.; MERNY, G. 1979. Root-parasitic nematodes of rice. *Revue Nématologie*, 2: 79-102.
- GOULART, A. M. C. 2008. Aspectos gerais sobre nematoides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*). Planaltina: Embrapa Cerrados, 30 p. (Documentos 219).
- GUIMARÃES, E. P.; BORRERO, J.; OSPINA-REY, Y. 1996. Genetic diversity of upland rice germplasm distributed in Latin America. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31 (3): 187-194.
- GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F. 2004. Arroz de Terras Altas em rotação com soja. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 34 (3): 127-132.
- JENKINS, W.R. 1964. Rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48 (9): 692.
- JORDAAN, E. M.; WAELE, D.; VAN ROOYEN, P. J. 1989. Endoparasitic nematodes in maize roots in the western transvalas related o soil texture and rainfall. *Jornal of Nematology*, 21 (3): 356-360.

- KABLE, P. F.; MAI, W. F. 1968. Influence of soil moisture on *Pratylenchus penetrans*. *Nematologica*, 14:101–122.
- MACHADO, A. C. Z.; FERRAZ, L. C. C. B.; INOMOTO, M.M. 2007a. Response of cotton cultivars to two Brazilian populations of *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Sch. Stekh. *Journal Cotton Science*, 11:177–181.
- MACHADO, A. C. Z.; MOTTA, L. C. C.; SIQUEIRA, K. M. S.; FERRAZ, L. C. C.B.; INOMOTO, M. M. 2007c. Host status of green manures for two isolates of *Pratylenchus brachyurus* in Brazil. *Nematology*, 9:799–805.
- MATUTE, M. M.; ANDERS, M. 2012. Influence of rice rotation systems on soil nematode trophic groups in Arkansas. *Journal of Agricultural Science*, 4 (2): 11- 20.
- McSORLEY, R. 1992. Nematological problems in tropical and subtropical fruit tree crops. *Nematropica*, 22 (1): 103-116.
- MONTALVÁN, R.; DESTRO, D.; SILVA, E. F.; MONTAÑO, D. C. 1998. Genetic base of Brazilian upland rice cultivars. *Journal of Genetics*, 53 (3): 203-209.
- MONTEIRO, A. R. 1963. Pratilencose em milho. *Revista de Agricultura*, 38 (4): 177-187.
- PANKAJ; GANGULY, A.K.; PANDEY, R.N. 2012. Severe damage caused by the root-lesion nematode, *Pratylenchus thornei*, in aerobic rice in India. *Nematologia Mediterranea*, 40 (1):79-81.
- PLOWRIGHT, R. A.; MATIAS, D.; AUNG, T.; MEW, T. W. 1990. The effect of *Pratylenchus zae* on the growth and yield of upland rice. *Revue Nématologie*, 13 (3): 283-292.
- PLOWRIGHT, R. A.; COYNE, D. L.; NASH, P.; JONES, M. P. 1999. Resistance to the rice nematodes *Heterodera sacchari*, *Meloidogyne graminicola* and *M. incognita* in *Oryza glaberrima* and *O. glaberrima* x *O. sativa* interspecific hybrids. *Nematology*, 1 (7-8):745-751.
- PRASAD J.S.; RAO, S.Y.1978a. Influence of crop rotations on the population densities of the root lesion nematode *Pratylenchus indicus* in rice and rice soils. *Annls Zool. Ecol. Anim*, 10:627-634.
- PRASAD J. S.; RAO Y. S. 1978b. Pontentiality of *Pratvlenchus indicus*, the root-lesion nematode as a new pest of upland rice. *Annls Zool. Ecol. Anim.*, 10: 635-640.
- PRASAD, J.S.; RAO, S.Y. 1982. Screening of some rice cultivars agains the root lesion nematode, *Pratylenchus indicus*. *Nematologia Mediterranea*, 10:215-216.

- PRASAD, J. S.; RAO, S. Y. 1988. Effect of different inoculum levels of *Pratylenchus indicus* on the growth and yield of rice. *Nematologia Mediterranea*, 16:123-124.
- PROT, C. J.; SAVARY, S. 1993. Interpreting upland rice yield and *Pratylenchus zaei* relationships: correspondence Analyses. *Journal of Nematology*, 25 (2): 277-285.
- RACK, V. M.; VIGOLO, F.; SILVA, R. A.; FILHO, G. A. G.; SANTOS, P. S. 2013. Reação de cultivares de arroz de terras altas a dois isolados de *Pratylenchus brachyurus*. *Nematologia Brasileira*, 37 (3-4): 37-41.
- RIOS, A. F. 2014. Reação de genótipos de soja, milho e arroz de terras altas a *Pratylenchus brachyurus*. 87f. (tese de Doutorado), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.
- SAHOO, C. R.; SAHU S. C. 1993. Pathogenicity of *Pratylenchus zaei* on Rice. *Nematologia Mediterranea*, 21 (1): 177-178.
- SILVA, E. F.; MONTALVÁN, R.; ANDO, A. 1999. Genealogy of Brazilian upland rice cultivars. *Bragantia*, v. 58, p. 281-286.
- SILVA, R. A.; INOMOTO, M. M. 2002. Host-range Characterization of Two *Pratylenchus coffeae* Isolates. *Journal of Nematology*, v. 34, n. 2, p. 135-139.
- SIQUEIRA, K. M. S.; INOMOTO, M. M. 2008. Pathogenicity and reproductive fitness of *Pratylenchus brachyurus* on cowpea. *Nematology*, 10 (4): 495-500.
- WARDA. 2004. Nematode parasites of rice.  
<http://www.warda.cgiar.org/publications/wardanemaotde.pdf>. Consultado em 06/10/2018.
- YAVUZASLANOGLU, E.Y.; ELEKCIOGLU, H. I. E.; NICOL, J. M. N.; YORGANCILAR, O.Y.; HODSON, D.H.; YILDIRIM, A.F.Y.; YORGANCILAR, A. Y.; BOLAT, N. B. 2012. Distribution, frequency and occurrence of cereal nematodes on the Central Anatolian Plateau in Turkey and their relationship with soil physicochemical properties. *Nematology*, 14:839–854.