Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Importância de *Pratylenchus brachyurus* na cultura do caupi e estudos morfológicos e morfométricos sobre populações de *P. brachyurus* do Brasil

Kércya Maria Simões de Siqueira

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitopatologia**

Piracicaba

2007

Kércya Maria Simões de Siqueira
Engenheiro Agrônomo

Importância de *Pratylenchus brachyurus* na cultura do caupi e estudos morfológicos e morfométricos sobre populações de *P. brachyurus* do Brasil

Orientador:
Prof. Dr. MÁRIO MASSAYUKI INOMOTO

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Siqueira, Kércya Maria Simões de

Importância de *Pratylenchus brachyurus* na cultura do caupi e estudos morfológicos e morfométricos sobre populações de *P. brachyurus* do Brasil / Kércya Maria Simões de Siqueira. - - Piracicaba, 2007.

106 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Caupi 2. Nematóide 3. Rotação de culturas 4. Variedades vegetais
I. Título

CDD 635.652

*A minha mãe **Maria da Penha** por todo amor, dedicação, incentivo, o sonhar junto e principalmente por eleger a educação como prioridade, demonstrando que o conhecimento nos levaria ao mundo.*

*Aos meus irmãos **Karla, Keyla e Klecyo** pela presença constante e por ajudar de todas as formas a tornar realidade meus estranhos sonhos.*

*A minha avó **Dona Josefa** pelo amor, dedicação e puxões de orelhas, elementos essenciais na minha formação.*

*A **Gilberto**, pai que a vida nos presenteou por acreditar sempre em nosso potencial.*

*Ao meu adorável **Gustavo** por incondicionalmente está presente nesse longo caminho.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por iluminar meus caminhos.

À **Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão de bolsa de estudo.

À **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, ESALQ, pela oportunidade concedida de fazer parte desse centro gerador de conhecimento.

Ao Prof. **Mário Massayuki Inomoto** pela orientação, incentivo, profissionalismo, confiança e boa amizade. E, principalmente, por estar sempre presente em todos os momentos da realização desses trabalhos. Obrigada.

Ao Prof. **Luiz Carlos Camargo Barbosa Ferraz** pelo incentivo, bons conselhos e sugestões profissionais e pessoais.

Aos pesquisadores **Rosana Bessi**, **Cláudio Marcelo Gonçalves de Oliveira** e **Francisco Tanaka** pela inestimável ajuda, ensinamento, paciência e amizade.

Aos professores **Gustavo Mora Aguilera** e **Roberto García Espinosa**, em especial à Prof. **Emma Zavaleta Mejía** por consentir, de forma tão generosa, minha participação em seus cursos, laboratórios e projetos. Eternamente obrigada.

À **Andressa Cristina Zamboni Machado**, a quem posso chamar de irmã pela preciosa e imensurável amizade, companheirismo, disponibilidade, dedicação, respeito, profissionalismo e total apoio em todas as fases da realização desse trabalho.

Aos estimados amigos **Beatriz Lozada**, **Hector San Martín**, **Eliane Bassetto**, **Gustavo Torres**, **Patrícia Lyra**, **Valdomiro Souza**, **Maria de Lourdes Fraire** por compartilharem comigo momentos importantes. Aos meus mexicanos “favoritos” **Patricía Rivas**, **Emiliano Loeza**, **Maria**

Elsa Rodriguez, Elena Santiago, Martha López, Misael Martinez, Marcos Reyes, Daniel Ochoa, Olga Gómez, Raquel Paz, Christiane Molinos e a família Viegas por me acolherem tão gentilmente. As “fasti” Geni da Silva Sodré, Karina Batista e Aline Del Vecchio pelos ensinamentos de como conviver em república e longas horas de conversas.

Às famílias Lozada (Jesús, Beatriz, Estefania, Fernando), Zamboni Machado (Nivaldo, Rita, José e Antonia), e Zamboni Motta (Luis e Andressa) pela constante demonstração de carinho.

Aos colegas da Nematologia Prof. Ailton Monteiro, Rosângela Silva, Melissa Tomazzini, Sônia Antedomênico, Viviane Santos, Gabriela Ferreira e Joaquim Dias pela agradável convivência.

Aos funcionários dos Setores de Zoologia Agrícola e Fitopatologia da ESALQ, pelo apoio técnico.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação e da Biblioteca, pela atenção, presteza e por todos os serviços que prestaram sempre.

A todos que contribuíram com boas energias para a construção de um sonho.

“Não existe um método único para estudar o mundo”

Aristóteles

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	18
Referências.....	20
2 PATOGENICIDADE E AGRESSIVIDADE DE <i>Pratylenchus brachyurus</i> A CAUPI.....	22
Resumo.....	22
Abstract.....	22
2.1 Introdução.....	22
2.2 Desenvolvimento.....	24
2.2.1 Revisão Bibliográfica.....	24
2.2.2 Material e Métodos.....	26
2.2.3 Resultados.....	29
2.2.4 Discussão.....	33
2.3 Conclusões.....	35
Referências.....	35
3 REAÇÃO DE CULTIVARES DE CAUPI AO NEMATÓIDE DAS LESÕES <i>Pratylenchus brachyurus</i>	39
Resumo.....	39
Abstract.....	39
3.1 Introdução.....	40
3.2 Desenvolvimento.....	41
3.2.1 Revisão Bibliográfica.....	41
3.2.2 Material e Métodos.....	44

3.2.3 Resultados e Discussão.....	45
3.3 Conclusões.....	49
Referências.....	49
4 VARIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE POPULAÇÕES DE <i>Pratylenchus brachyurus</i>	53
Resumo.....	53
Abstract.....	53
4.1 Introdução.....	54
4.2 Desenvolvimento.....	55
4.2.1 Revisão Bibliográfica.....	55
4.2.2 Material e Métodos.....	57
4.2.3 Resultados e Discussão.....	66
4.3 Conclusões.....	88
Referências.....	89
5 FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE FITONEMATÓIDES EM CULTIVO IRRIGADO POR PIVÔ CENTRAL E SOB ROTAÇÃO DE CULTURA.....	92
Resumo.....	92
Abstract.....	92
5.1 Introdução.....	92
5.2 Desenvolvimento.....	93
5.2.1 Revisão Bibliográfica.....	93
5.2.2 Material e Métodos.....	94
5.2.3 Resultados e Discussão.....	98
5.3 Conclusões.....	105
Referências.....	106

RESUMO

Importância de *Pratylenchus brachyurus* na cultura do caupi e estudos morfológicos e morfométricos sobre populações de *P. brachyurus* do Brasil

A interação *Pratylenchus brachyurus* x caupi (*Vigna unguiculata*) merece atualmente atenção especial no Brasil, pela escassez de informações contraposta à sua elevada ocorrência na cultura. O objetivo primário deste trabalho foi aprimorar o conhecimento sobre a importância potencial do nematóide na cultura do caupi no Brasil, por meio de experimentos em condições controladas, que demonstraram que *P. brachyurus* é patogênico para o caupi, por sua capacidade de interferir no crescimento das plantas. Como consequência e primeiro passo para o desenvolvimento de técnicas de manejo para *P. brachyurus* na cultura do caupi, foram conduzidos experimentos com o objetivo de avaliar a resistência de cultivares de caupi ao nematóide. Concluiu-se que o grau de resistência em caupi é baixo, provavelmente em função da grande similaridade genética dos materiais comerciais dessa planta. Portanto, o uso da resistência genética para o manejo de *P. brachyurus* em caupi dependerá da disponibilidade de cultivares com base genética mais ampla que a atual. Verificou-se ainda a existência de variação interpopulacional em relação à agressividade de *P. brachyurus* ao caupi, o que motivou a realização de estudos sobre a diversidade morfológica do nematóide. Análises multivariadas (PCA) de seis variáveis morfométricas (L, St, a, b, c e V%), obteve-se a efetiva separação de 11 populações de *P. brachyurus* em cinco grupos distintos; é possível que essa análise seja útil na identificação de populações do nematóide com diferentes agressividades ao caupi. Em outro estudo, sobre condições de campo, foi demonstrado que sistemas intensivos de cultivos, com dois ou mais ciclos anuais (usualmente na sequência algodão, milho, soja e caupi), propiciam a manutenção de elevadas densidades de nematóides polífagos, como *P. brachyurus* em áreas infestadas, e, além disso, forneceu indícios de que *M. incognita* e *P. brachyurus* causam perdas de produção ao caupi em áreas irrigadas.

Palavras-chave: Nematóide das lesões; *Vigna unguiculata*; Suscetibilidade; Reação de cultivares; Agressividade; Análise multivariada; Rotação de cultura

ABSTRACT

Importance of *Pratylenchus brachyurus* on cowpea culture and morphological and morphometric studies on *P. brachyurus* populations from Brazil

Pratylenchus brachyurus x cowpea (*Vigna unguiculata*) relationships are worthy of special concern in Brazil, due to scarcity of pertinent information and because the nematode is widespread in local plantations. The primary aim of this research - to improve the knowledge about the potential importance of *P. brachyurus* on cowpea in Brazil – was achieved through experiments developed under controlled conditions, which demonstrated that *P. brachyurus* actually is pathogenic and affected significantly the growth of cowpea plant. Furthermore, as a first step to the development of *P. brachyurus* management strategies in cowpea, greenhouse experiments were carried out in order to evaluate the resistance of cowpea cultivars to the nematode. It was concluded that the level of resistance to *P. brachyurus* in cowpea is low, probably due to the high genetic similarity among the current commercial cultivars. Thus, the use of genetic resistance for management of *P. brachyurus* in cowpea will depend on the future availability of cultivars characterized by a broader genetic base. Moreover, inter-population variation on nematode aggressiveness was detected and, accordingly, studies concerning the morphological diversity of the nematode were done subsequently. Multivariate analyses (PCA) of six morphometric variables (L, St, a, b, c, and V%) allowed 11 *P. brachyurus* populations to be separated for five distinct groups, a condition that can eventually be useful to identify populations with different degrees of aggressiveness to cowpea. In another study, under field conditions, it was demonstrated that intensive cropping systems, with two or more crops per year (usually in the sequence cotton, maize, soybean, cowpea), may be relevant for the maintenance of high population densities of polyphagous nematodes, as *P. brachyurus*, in the infested areas, and provided support to the idea that *P. brachyurus* and *M. incognita* can cause yield losses in irrigated areas.

Key-words: Root lesion nematode; *Vigna unguiculata*; Susceptibility; Cultivars reaction; Aggressiveness; Multivariate analysis; Crop rotation

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Local de origem das populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> e cultivares de caupi utilizadas no trabalho.....	27
Figura 2.2 – Lesões radiculares causadas por <i>Pratylenchus brachyurus</i> em caupi.....	31
Figura 2.3 – Efeito de <i>Pratylenchus brachyurus</i> no crescimento da planta e formação das vagens de caupi, no experimento 1.....	31
Figura 4.1 - Representação gráfica de uma fêmea adulta de <i>Pratylenchus brachyurus</i> e das principais variáveis morfométricas (adaptada de CORBETT, 1976)). L-comprimento do corpo, ϕ c-maior diâmetro do corpo, ϕ v-diâmetro do corpo ao nível da vulva, ϕ a-diâmetro do corpo ao nível do ânus, Po-distância da extremidade anterior do corpo à junção esôfago-intestino, V-distância da vulva até a cauda, St-comprimento do estilete, Pub-comprimento do saco pós-uterino, ϕ bst-diâmetro dos bulbos do estilete, Abst-altura dos bulbos do estilete, Dgo-distância entre a abertura da glândula esofagiana dorsal e a base do estilete, F-comprimento do esôfago, T-comprimento da cauda, Pub-comprimento do saco pós-uterino.....	61
Figura 4.2 – Local de coleta das amostras de solo e raízes (n = 11) contendo as populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i>	63
Figura 4.3 - Fotomicrografia de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em microscópio eletrônico de varredura de fêmeas adultas. Região labial. Barras correspondem a 1 μ m (Figuras A e C) e 2 μ m (Figuras B e D). A-Pb ₂₂ ; B-Pb ₂₃ ; C-Pb ₂₀ ; D-Pb ₂₁	67
Figura 4.4 – Fotomicrografia de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em microscópio eletrônico de varredura de fêmeas adultas. Região labial e início do campo lateral. Barras correspondem a 10 μ m (Figuras A, C e D) e 2 μ m (Figura B). A-Pb ₂₂ ; B-Pb ₂₃ ; C-Pb ₂₁ e D-Pb ₂₀	68
Figura 4.5 - Fotomicrografia de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em microscópio eletrônico de varredura de fêmeas adultas. Pormenores da região da cauda (T), variação da porção terminal da cauda e da vulva. Barra corresponde a 10 μ m. A-Pb ₂₀ ; B, C e I-Pb ₂₃ ; D, E e H-Pb ₂₂ ; F-Pb ₂₁ ; G-Pb ₂₄	70

- Figura 4.6 - Fotomicrografia de *Pratylenchus brachyurus* em microscópio eletrônico de varredura de fêmeas adultas. Pormenores da estrutura do campo lateral, da vulva e do término da cauda. Barras correspondem a 2 μ m (Figuras A, D e G) e 10 μ m (Figuras B, C, E, F, H e I). A e D-Pb₂₃; B-Pb₂₄; C-Pb₂₂; E e G-Pb₂₁; F, H e I-Pb₂₀..... 71
- Figura 4.7 – Médias do diâmetro do corpo, em três diferentes posições, de fêmeas adultas de *Pratylenchus brachyurus* das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixadas e montadas em meio de formaldeído e formol-glicerina..... 74
- Figura 4.8 - Efeitos dos métodos de formol (F) e formol-glicerina (G) nas características e índices de De Man: L-comprimento do corpo, St-comprimento do estilete, Pub-comprimento do saco pós-uterino, a-relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo, b-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino, b`-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e o final do esôfago, c-relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda, c`-relação entre comprimento da cauda e diâmetro da cauda na altura do ânus e V%-relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea..... 77
- Figura 4.9 - Gráfico dos componentes principais entre os fatores 1 (PC1) e 2 (PC2). A. Medidas das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixadas e montadas pelo método formol-glicerina (G); B. Medidas das mensurações das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixadas e montadas pelo método formol (F); C. Comparação das medidas das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixadas e montadas pelos métodos formol-glicerina (G) e formol (F). Representação da correlação e relativa importância das características morfométricas de populações de *Pratylenchus brachyurus*. O ângulo de inclinação de cada número representa a associação entre eles; a direção dos vetores indica o sentido da relação (+, -); a distância a partir do centro dos eixos representa o peso da variável dentro do conjunto, sendo considerada distâncias menores variáveis de menor peso. As variáveis foram: 1-comprimento do corpo (L); 2-comprimento do estilete (St); 3-comprimento do saco pós-uterino (Pub), 4-relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo (a); 5-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino (b); 6-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e o final do esôfago (b`); 7-relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda (c); 8-relação entre comprimento da cauda e diâmetro da cauda na altura do ânus (c`); 9-relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea (V%). 78

- Figura 4.10 – Desenhos esquemáticos (adaptados de RÓMAN; HIRSHMANN, 1969) e fotomicrografias de *Pratylenchus brachyurus*. A. Visão da parte anterior do corpo com destaque para o estilete; B. Parte posterior, com visão da vulva, ânus e formado da cauda; C. Região anterior até a junção esôfago-intestino... 80
- Figura 4.11 – Fotomicrografias da variação do término da cauda de fêmeas adultas de *Pratylenchus brachyurus*..... 81
- Figura 4.12 – Variações intra-populacional observada na população Pb₂₃. A - comprimento do corpo (L); B - comprimento do esôfago (F); C - relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea V% e D - comprimento do estilete (St)..... 82
- Figura 4.13 - Gráfico dos componentes principais entre os fatores 1 (PC1) e 2 (PC2). Representação da correlação e relativa importância das características morfométricas de populações de *Pratylenchus brachyurus*. O ângulo de inclinação de cada número representa a associação entre eles; a direção dos vetores indica o sentido da relação (+, -); a distância a partir do centro dos eixos representa o peso da variável dentro do conjunto, sendo considerada distâncias menores variáveis de menor peso. As variáveis foram: 1-comprimento do corpo (L); 2-comprimento do estilete (St); 3-relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo (a); 4-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino (b); 5-relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda (c); 6-relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea (V%)..... 86
- Figura 5.1 – Planta baixa da Fazenda Tabulerinho, situada no município de São Felix do Coribe, estado da Bahia, com 400 ha de área irrigada por meio de quatro pivôs centrais, cada uma abrangendo área de 100 ha. Cada pivô é dividido, para fins de manejo agrícola, em dois talhões, chamados Alto e Baixo e com 50 ha cada..... 95

- Figura 5.2 – Densidades populacionais médias de *Pratylenchus brachyurus* (P), *Meloidogyne incognita* (Mi), *Paratrichodorus minor* (Pm), *Helicotylenchus dihystra* (Hd) e *Criconebella onoensis* + *C. ornata* (Co) nos pivôs da Fazenda Tabuleirinho no início do estudo (Pi) e durante o desenvolvimento das culturas..... 99
- Figura 5.3 - Densidades populacionais de *Meloidogyne incognita* nos Pivôs 1, 2, 3 e 4 (B = Baixo, A = Alto) da Fazenda Tabuleirinho no início do estudo (Pi) e durante o desenvolvimento das culturas..... 100
- Figura 5.4 - Densidades populacionais de *Pratylenchus brachyurus* nos Pivôs 1, 2, 3 e 4 (B = Baixo, A = Alto) da Fazenda Tabuleirinho no início do estudo (Pi) e durante o desenvolvimento das culturas..... 102

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Efeito de <i>Pratylenchus brachyurus</i> (população Pb ₂₀) sobre a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa fresca de raízes (MFR) de caupi ‘IPA-206’; fator de reprodução (FR) e número de nematóides por grama de raízes (nem./g), 72 dias após a inoculação (experimento 1).....	32
Tabela 2.2 – Efeito de <i>Pratylenchus brachyurus</i> (população Pb ₂₀) sobre a massa seca das folhas e caules (MSFC), massa seca das vagens (MSV) e massa fresca de raízes (MFR) de caupi ‘IPA-206’; fator de reprodução (FR) e número de nematóides por grama de raízes (nem./g), 72 dias após a inoculação (experimento 2).....	32
Tabela 2.3 – Fator de reprodução (FR) e número de nematóides por grama de raízes (nem./g) de <i>Pratylenchus brachyurus</i> (populações Pb ₂₀ , Pb ₂₁ e Pb ₂₃) em seis cultivares de caupi, 72 dias após a inoculação com 1.000 nematóides/planta (experimento 3).....	33
Tabela 3.1 – Fator de reprodução e número de nematóides por grama de raízes das populações Pb ₂₀ , Pb ₂₁ e Pb ₂₃ de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em cultivares de caupi, 60 dias após a inoculação com 650 exemplares/planta (experimento 1).....	46
Tabela 3.2 – Fator de reprodução e número de nematóides por grama de raízes das populações Pb ₂₀ , Pb ₂₁ e Pb ₂₃ de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em cultivares de caupi, 60 dias depois inoculação com 650 exemplares/planta (experimento 2)	47
Tabela 4.1 – Sigla das populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> , origem geográfica das amostras e plantas hospedeiras originais.....	57

Tabela 4.2 - Características morfométricas mensuradas em fêmeas adultas das populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i>	60
Tabela 4.3 – Sigla das populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> , origem geográfica das amostras e plantas hospedeiras originais.....	62
Tabela 4.4 - Populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> provenientes da literatura que empregaram o método de formol-glicerina para montagem das lâminas, incluídas no presente estudo.....	64
Tabela 4.5 - Dados morfométricos de populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> obtidos em trabalhos científicos. As mensurações estão representadas pelas médias.....	65
Tabela 4.6 - Dados morfométricos de populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> fixadas e montadas pelo método de formol-glicerina. As mensurações estão representadas pelas médias $\pm$ desvio padrão, seguida pelos intervalos obtidos (nos parêntesis).....	72
Tabela 4.7 - Dados morfométricos de populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> fixadas e montadas pelo método em formol. As mensurações estão representadas pelas médias $\pm$ desvio padrão, seguida pelos intervalos obtidos (nos parêntesis).....	73
Tabela 4.8 - Dados morfométricos de populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> fixadas e montadas pelo método de formol-glicerina. As mensurações estão representadas pelas médias $\pm$ desvio padrão, seguida pelos intervalos obtidos (nos parêntesis).....	83
Tabela 4.9 - Coeficientes estandarizados de correlação e níveis de significância para seis variáveis de <i>Pratylenchus brachyurus</i>	84

Tabela 4.10 - Vetores próprios (eigenvectores) e valores próprios (eigenvalues) dos componentes principais obtidos depois das etapas sucessivas de reduções, derivados da mensuração de características morfométricas de fêmeas adultas de 15 populações (11 coletadas e mensuradas e quatro valores obtidos na literatura) de <i>Pratylenchus brachyurus</i>	85
Tabela 5.1 - Culturas implantadas durante o período do estudo (2003 a 2005), incluindo o ciclo cultural anterior (2003 - 1 ^o semestre).....	97
Tabela 5.2 - Produtividade das culturas implantadas durante o período do estudo (2003 a 2005), incluindo o ciclo cultural anterior (2003 - 1 ^o semestre).....	104

1 INTRODUÇÃO

O caupi é leguminosa de grande importância nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente no Brasil, Índia e Nigéria. No cenário mundial, o Brasil ocupa o primeiro lugar na produção, com 26% do total produzido, e em relação ao consumo. Além disso, gera 2,4 milhões de empregos diretos e está presente na dieta alimentar de 27,5 milhões de nordestinos, com consumo “per capita” de 20 kg (FNP, 1998). A área cultivada no país é de cerca de 1 milhão de hectares, sendo os estados do Nordeste os principais produtores, como cultura de subsistência em áreas pequenas, representando de 95 a 100% do total das áreas plantadas com feijão, nos estados do Amazonas, Maranhão, Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte (LEITE et al., 1999). Entretanto, recentemente o caupi tem sido cultivado como cultura extensiva, geralmente em rotação com outras culturas de importância econômica, como soja [*Glycine max* (L.) Merr.] e arroz (*Oryza sativa* L.) (FROTA; FREIRE FILHO; CORRÊA, 2000).

Em relação aos problemas ocasionados por patógenos, merecem destaque aqueles causados por patógenos do solo, principalmente os fitonematóides, pelas reduções drásticas na produtividade, estimados em 15% (SASSER, 1989). De acordo com Santhi e Sundarababu (1995), nematóides afetam o vigor das leguminosas pela supressão da nodulação e da fixação de nitrogênio. Por isso a dificuldade de distinguir visualmente os efeitos provocados pela presença de nematóides daqueles resultantes da baixa fertilidade do solo em condições de campo.

O nematóide das lesões, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Sch. Stekhoven, está amplamente disseminado em áreas de caupi nas regiões tropicais e subtropicais e tem sido relatado em áreas produtoras na Austrália (OLOWE; CORBETT, 1984), Brasil (CAFÉ FILHO; HUANG, 1988), Senegal (BAUJARD; MOUNPORT; MATINY, 1990), Jamaica (HEFFES; COATES-BECKFORD; ROBOTHAM, 1992) e Estados Unidos (McSORLEY; GALLAHER, 1992).

Esse nematóide é endoparasito migrador com ampla distribuição em nossos agroecossistemas (CAFÉ FILHO; HUANG, 1988). O processo de infecção tem início com os juvenis de segundo estágio, provenientes da reprodução partenogênica, penetrando as raízes em desenvolvimento através da epiderme, por meio da perfuração das paredes celulares e posterior migração no córtex. No decorrer do caminhar, o conteúdo celular é ingerido e alterado pelo processo de digestão pré-oral, porém não há formação de sítios de alimentação. O ciclo de vida

normalmente é realizado por completo no interior das raízes, mas condições desfavoráveis levam à migração em direção ao solo. Godfrey (1929) cita que plantas de caupi infestadas com *P. brachyurus* apresentam na superfície radicular trechos enegrecidos que variam de coloração de acordo com o estágio de desenvolvimento da infecção, de tons claros a escuros; inicialmente as lesões são pequenas, com posterior alongamento. São sintomas que não apresentam características típicas que possam ser utilizadas na diferenciação dos ocasionados por outros grupos de patógenos radiculares, evidenciando a dificuldade do seu diagnóstico.

Nesse particular, *P. brachyurus*, embora pouco contemplado nos estudos relativos à interação nematóide $\times$ caupi, atualmente merece atenção especial no Brasil, pela elevada ocorrência na cultura, verificada por trabalhos de levantamento de campo (SHARMA; EKHARDT, 1979; FERRAZ, 1980; PONTE, 1987; CAFÉ FILHO; HUANG, 1988; SILVA, 2000). Populações do nematóide das lesões freqüentemente ocorrem em áreas tradicionais de cultivo, em monocultura ou em rotação com outras culturas que são boas hospedeiras do nematóide, como, por exemplo, algodão (*Gossypium hirsutum* L.), milho (*Zea mays* L.) e soja.

Vários métodos de manejo de fitonematóides encontram-se disponíveis, para serem utilizados de forma integrada ou mesmo isoladamente no sistema de agricultura sustentável. Entre os métodos estão inclusos o uso de cultivares resistentes, a rotação de culturas, a utilização de cultura de cobertura, a solarização do substrato, dentre outras práticas. O maior enfoque vem sendo dado ao controle genético, por meio da utilização de cultivares resistentes, pois representa o método de controle de nematóides mais eficiente, prático e econômico (SASSER, 1989; BOERMA; HUSSEY, 1992), quando comparado com outros métodos, pois requer pouco ou nenhuma modificação na tecnologia empregada previamente na propriedade.

Em programas de melhoramento, especialmente na etapa de lançamento de cultivares, é de fundamental importância o conhecimento da adaptabilidade dos genótipos, visando-se amenizar os efeitos da interação genótipos $\times$ ambientes e facilitar a recomendação de cultivares. Em caupi, vários trabalhos têm sido feitos para estudar a adaptabilidade e estabilidade de genótipos em relação à produtividade da cultura (FREIRE FILHO et al., 2005). Além disso, o conhecimento da diversidade genética do patógeno pode ser de grande valor em programas de melhoramento genético, uma vez que pode auxiliar na identificação de novas fontes de resistência.

Referências

- FNP CONSULTORIA & AGROINFORMATIVOS. Feijão. In: _____. **Agrianual 1998**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 1998. p. 85-86.
- BAUJARD, P.; MOUNPORT, D.; MARTINY, B. Étude au microscope électronique à balayage de quatre espèces du genre *Pratylenchus* Filip'ev, 1936 (Nemata: Pratylenchidae). **Révue Nématologie**, Bondy, v. 1, p. 203-210, 1990.
- BOERMA, H.R.; HUSSEY, R.S. Breeding plants for resistance to nematodes. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 24, p. 242-252, 1992.
- CAFÉ FILHO, A.C.; HUANG, C.S. Nematóides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 13, p. 232-235, 1988.
- FERRAZ, S. Reconhecimento das espécies de fitonematóides presentes no solo do Estado de Minas Gerais. **Experientiae**, Viçosa, v. 26, p. 255-328, 1980.
- FREIRE FILHO, F.R.F.; ROCHA, M.M.; RIBEIRO, V.Q.; LOPES, A.C.A. Adaptabilidade e estabilidade produtiva de feijão-caupi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 24-30, 2005.
- FROTA, A.B.; FREIRE FILHO, F.R.; CORRÊA, M.P.F. Impactos socioeconômicos de cultivares de feijão caupi na região meio-norte do Brasil. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. 20 p. (EMBRAPA, Documentos, 52).
- GODFREY, G.H. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus*, n.sp. **Phytopathology**, Lancaster, v. 7, p. 611-630, 1929.
- HEFFES, T.A.P.; COATES-BECKFORD, P.L.; ROBOTHAM, H. Effects of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchus reniformis* on growth and nutrient content of *Vigna unguiculata* and *Zea mays*. **Nematropica**, Flórida, v. 22, p. 139-148, 1992.
- LEITE, M.L.; RODRIGUES, J.D.; MISCHAN, M.M.; VIRGENS FILHO, J.S. Efeitos do déficit hídrico sobre a cultura do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), cv. Emapa-821. II- Análise de Crescimento. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 74, p. 351-370, 1999.
- McSORLEY, R.; GALLAHER, R.N. Comparison of nematode population densities on six summer crops at seven sites in North Florida. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 24, p. 699-706, 1992.
- OLWE, T.; CORBETT, D.C.M. Morphology and morphometrics of *Pratylenchus brachyurus* and *Pratylenchus zeae* III. Influence of geographical location. **Indian Journal of Nematology**, New Dehli, v. 14, p. 30-35, 1984.
- PONTE, J.J. Os nematóides do caupi e sua importância. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 11, p. 36-40, 1987.

SANTHI, A.; SUNDARABABU, R. Effect of phosphorus on the interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with *Meloidogyne incognita* on cowpea. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 23, p. 263-265, 1995.

SASSER, J.N. **Plant-parasitic Nematodes**: the farmer`s hidden enemy. Raleigh: University Graphics, 1989. 115 p.

SHARMA, R.D.; EKHARDT, R. Incidência de nematóides fitoparasitas no Estado do Amazonas, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 4, p. 151, 1979.

SILVA, G.S. Ocorrência e controle de fitonematóides no feijão caupi no Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M.J. (Ed). **A cultura do feijão caupi no meio-norte do Brasil**. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 2000. p. 229-236.

2 PATOGENICIDADE E AGRESSIVIDADE DE *Pratylenchus brachyurus* A CAUPI

Resumo

O nematóide das lesões *Pratylenchus brachyurus* está amplamente disseminado em plantações de caupi nas regiões tropicais e subtropicais. Apesar disso, a reação do caupi a *P. brachyurus*, tanto no que concerne às perdas causadas como à suscetibilidade de cultivares de caupi a esse nematóide tem sido pouco estudada. O presente trabalho demonstrou, em três experimentos de casa de vegetação, que uma população de *P. brachyurus* (Pb₂₀) foi patogênica à cultivar 'IPA-206', afetando negativamente o crescimento da planta e a formação e enchimento das vagens (Experimentos 1 e 2). Populações iniciais de 5.000 e 15.000 nematóides por planta causaram redução no crescimento das raízes e típica decomposição dos tecidos radiculares. O terceiro experimento demonstrou que as seis cultivares de caupi testadas permitiram a reprodução de *P. brachyurus* (Pb₂₀, Pb₂₁ e Pb₂₃) em suas raízes, mas os valores encontrados para o fator de reprodução mostraram que as populações apresentam diferentes graus de agressividade. Uma pequena resistência a *P. brachyurus* foi relatada para, pelo menos, uma cultivar testada, mas aparentemente em grau insuficiente para ser efetiva no manejo do nematóide.

Palavras-chave: Nematóide das lesões; Patogenicidade; Resistência; *Vigna unguiculata*

Abstract

The lesion nematode *Pratylenchus brachyurus* is widespread in cowpea plantations throughout the tropics and sub-tropics. However, the host status of cowpea for *P. brachyurus*, concerning both the damage caused by the nematode and suitability of cultivars, has been scarcely studied. In this work, comprised of three greenhouse experiments, it was demonstrated that one population (Pb₂₀) of *P. brachyurus* was pathogenic to cowpea 'IPA-206', adversely affecting the plant growth and pod formation and filling (Experiments 1 and 2). Initial population levels of 5,000 and 15,000 nematodes per plant caused reduction on root growth and typical decay of root tissue. The third experiment demonstrated that all six cowpea cultivars selected for evaluation allowed three isolates of *P. brachyurus* (Pb₂₀, Pb₂₁, and Pb₂₃) to reproduce in their roots, although the reproduction factor values obtained indicated that they were quite dissimilar on their aggressiveness. A slight resistance to *P. brachyurus* was reported for at least one tested cultivar, but apparently at an insufficient degree to be effective for field management of the nematode.

Key-words: Lesion nematode; Pathogenicity; Resistance; *Vigna unguiculata*

2.1 Introdução

O caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) é uma leguminosa de grande importância nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente no Brasil, Índia e Nigéria. O conteúdo protéico

nessa leguminosa varia de 18 a 26%, dependendo da cultivar, fazendo do caupi um suplemento alimentar excelente na alimentação humana (FRANÇOIS; SIZARET, 1981). Pode ser cultivado em uma ampla gama de tipos de solos, mas é melhor adaptado aos bem drenados e arenosos. A cultura do caupi exibe significativa variabilidade genética, verificada principalmente nas características morfológicas, hábitos de crescimento e potencial produtivo, mas todas as cultivares podem fornecer quantidades elevadas de nitrogênio para a cultura subsequente.

O Brasil é o maior produtor mundial de caupi, sendo responsável por 26% de toda a produção mundial. A área cultivada com caupi no país é de cerca de 1 milhão de hectares, sendo os estados do Nordeste os principais produtores, como cultura de subsistência em áreas pequenas. Entretanto, recentemente o caupi tem sido cultivado como cultura extensiva, geralmente em rotação com outras culturas de importância econômica, como soja (*Glycine max* Merr.) e arroz (*Oryza sativa* L.) (FROTA; FREIRE FILHO; CORRÊA, 2000).

Apesar de o potencial produtivo do caupi ser de cerca de 2.500 kg/ha, baixas produtividades como 330 kg/ha têm sido comumente obtidas (FREIRE FILHO; RIBEIRO; BANDEIRA, 1997; CARDOSO, 2000), provavelmente devido ao uso de cultivares com potencial produtivo baixo e à alta incidência de doenças, pragas e nematóides (RIOS, 1988; PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2005). A respeito dos nematóides, *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp. e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940 são relatados como as espécies que causam maiores perdas em caupi na Índia (JAIN, 1983), Estados Unidos (JOHNSON; FASSULIOTIS, 1991), Austrália (THOMPSON et al., 1994; WILDERMUTH; THOMPSON; ROBERTSON, 1997) e Nigéria (OYEDUNMADE; BARBATOLA; OLABIYI, 1995). Particularmente no Brasil, 23 espécies de nematóides têm sido relatadas parasitando caupi, com predominância de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood e *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Sch. Stekhoven) (PONTE, 1987; SILVA, 2000).

O nematóide das lesões, *P. brachyurus*, é um nematóide amplamente disseminado e daninho ao caupi nas regiões tropicais e subtropicais e tem sido relatado em áreas produtoras na Austrália (OLOWE; CORBETT, 1984), Brasil (CAFÉ FILHO; HUANG, 1988), Senegal (BAUJARD; MOUNPORT; MATINY, 1990), Jamaica (HEFFES; COATES-BECKFORD; ROBOTHAM, 1992) e Estados Unidos (McSORLEY; GALLAHER, 1992). No Brasil, a associação entre *P. brachyurus* e *V. unguiculata* foi inicialmente relatada nos estados do

Amazonas e Minas Gerais (SHARMA; EKHARDT, 1979; FERRAZ, 1980). Populações do nematóide das lesões freqüentemente ocorrem em áreas tradicionais de cultivo, em monocultura ou em rotação com outras culturas que são boas hospedeiras do nematóide, como, por exemplo, algodão (*Gossypium hirsutum* L.), milho (*Zea mays* L.) e soja.

No entanto, o status de *P. brachyurus* como patógeno do caupi ainda não foi devidamente definido, pela ausência de experimentos sob condições controladas, para que se verificassem apropriadamente os postulados de Koch. Essa informação é necessária para o cálculo do risco de se cultivar caupi em áreas infestadas por esse nematóide, assim como para fins de manejo.

Portanto, no presente trabalho relatou-se a reação de caupi a *P. brachyurus*, por meio da avaliação da patogenicidade desse nematóide à cultura e da sua reprodução em cultivares selecionadas de caupi.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Revisão bibliográfica

Vigna unguiculata é o nome científico do caupi que, dependendo da região, pode receber as seguintes denominações: feijão-de-corda e feijão macassar, na região Nordeste; feijão-de-praia e feijão-de-estrada na região Norte; feijão miúdo na região Sul; feijão catador e feijão gerutuba em algumas regiões do estado da Bahia e norte de Minas Gerais; e feijão fradinho no estado do Rio de Janeiro (FREIRE FILHO et al., 1983).

No cenário mundial, o Brasil ocupa o primeiro lugar em relação à produção e ao consumo, sendo necessária em algumas épocas do ano a importação de grãos para atender à demanda do mercado (FNP, 1998). É principalmente cultivado por pequenos produtores, que fazem uso da mão-de-obra familiar e mantêm um sistema produtivo diversificado voltado para o auto-consumo e para o mercado interno (GERMANO, 1997). A cultura gera 2,4 milhões de empregos diretos e está presente na dieta alimentar de 27,5 milhões de nordestinos, com consumo “per capita” de 20 kg (FNP, 1998). É consumido sob a forma de grãos secos e verdes, “in natura”, conserva ou desidratado, enquanto os caules são utilizados na alimentação animal (ARAÚJO; WATT, 1988; SILVA; OLIVEIRA, 1993). Exibe reconhecida rusticidade, que lhe proporciona adaptação aos estresses hídrico, térmico e salino, e que associada aos altos teores de proteína nos grãos torna a cultura estratégica para a agricultura, principalmente por ocupar áreas marginais de produção (FREIRE FILHO et al., 2004).

As doenças têm sido apontadas como responsáveis por perdas elevadas no decorrer do processo produtivo, interferindo tanto no volume de produção quanto na qualidade do produto final. Dentre os agentes fitopatogênicos, vírus e fungos são considerados os mais importantes, seguido pelos nematóides e bactérias, que, embora classificados como agentes secundários, sob condições favoráveis podem causar danos significativos (ATHAYDE SOBRINHO et al., 2000).

De maneira geral, os nematóides interferem no desenvolvimento das plantas, devido à ação espoliadora de nutrientes durante a sua alimentação, associada com alterações na absorção e translocação de água e nutrientes. Além disso, seu desenvolvimento e multiplicação podem ocasionar modificação ou destruição dos tecidos das raízes e conseqüentemente diminuição do crescimento das raízes (HUSSEY; WILLIAMSON, 1998; ROBERTS et al., 2004). Comumente, essas ações sob a planta parasitada resultam em respostas fisiológicas, como amarelecimento e redução do porte das plantas (BIRD, 1974).

Em nível mundial, os prejuízos à cultura do caupi resultantes do parasitismo dos nematóides são de aproximadamente 15% (SASSER, 1989); entretanto, a determinação do potencial de danos à cultura está apenas elucidada para limitado número de espécies, pois, a exemplo do que ocorre com outras culturas cultivadas em diferentes regiões geográficas, é hospedeira de vários gêneros. Assinalamentos de espécies fitopatogênicas já foram efetuados em áreas produtoras em diversos países como Brasil (SHARMA; EKHARDT, 1979; FERRAZ, 1980; PONTE, 1987; CAFÉ FILHO; HUANG, 1988), Índia (JAIN, 1983), Estados Unidos (JOHNSON; FASSULIOTIS, 1991), Austrália (THOMPSON et al., 1994; WILDERMUTH; THOMPSON; ROBERTSON, 1997), Nigéria (OYEDUNMADE; BARBATOLA; OLABIYI, 1995) e Senegal (ROBERTS et al. 2004).

Com base em levantamentos de campo e informações adquiridas em trabalhos científicos publicados, merecem destaque *Meloidogyne* spp., *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus* spp., por ordem de importância. No Brasil, *M. incognita* e *M. javanica* são as mais importantes do gênero e sua distribuição abrange toda a área de cultivo da cultura; ainda sob o aspecto de importância econômica, *P. brachyurus* deve ser mencionado, principalmente por sua distribuição geográfica e capacidade de associação com o caupi (PONTE, 1987). Dados obtidos, em levantamento com cerca de 3.000 amostras de solo e raízes de aproximadamente 33 espécies vegetais (plantas cultivadas ou consideradas daninhas), coletadas em diferentes regiões do Brasil

entre os anos de 1975-1984, mostraram que *P. brachyurus* encontrava-se presente no sistema radicular de caupi (CAFÉ FILHO; HUANG, 1988).

Especificamente em relação à *Pratylenchus brachyurus*, também conhecido como nematóide das lesões radiculares, foi descrito pela primeira vez no Havaí, como agente causal de doença em plantas de abacaxi [*Ananas comosus* (L.) Merrill], soja e caupi, com relatos detalhados dos sintomas ocasionados pelo parasitismo do nematóide a essas culturas em condições de campo. Os sintomas ocasionados pelo nematóide foram similares para todas as espécies vegetais (GODFREY, 1929).

Em relação ao patossistema *P. brachyurus* x caupi, existem poucas informações que podem ser consideradas escassas e incompletas, pois apenas relatam a presença do nematóide na rizosfera ou no interior das raízes da cultura. Na verdade, a patogenicidade de *P. brachyurus* a plantas de caupi é baseada em observações feitas a campo, não existindo, até o momento, estudos realizados em condições controladas de casa de vegetação que avaliassem adequadamente essa interação e seus possíveis danos à produtividade da cultura. Quando se deseja pesquisar o comportamento de genótipos de plantas em relação ao parasitismo de fitonematóides, procura-se analisar duas variáveis. A primeira é de natureza parasitária e indica se o fitonematóide se reproduz bem ou mal nos tecidos da planta. A segunda é de natureza fitopatológica e verifica se o parasitismo do fitonematóide interfere negativamente em um ou alguns processos fisiológicos da planta, originando danos mensuráveis.

2.2.2 Material e Métodos

Obtenção do inóculo

Foram utilizadas três populações de *P. brachyurus*, denominadas Pb₂₀, Pb₂₁ e Pb₂₃, cuidado que foi tomado devido à verificação de que algumas populações de *P. brachyurus* do Brasil têm capacidades reprodutivas diferentes em algodoeiro (MACHADO et al., 2006). Uma única fêmea de *P. brachyurus*, extraída de raízes de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* [L.] Moench.) no município de Seropédica, Rio de Janeiro, foi utilizada para iniciar a população Pb₂₀, que foi mantida em laboratório em calos de alfafa (RIEDEL; FOSTER; MAI, 1973) e em casa de vegetação em plantas de quiabo. As populações Pb₂₁ e Pb₂₃ foram obtidas a partir de solo coletado em plantios comerciais de algodão nos municípios de Serra do Ramalho, Bahia, e Sapezal, Mato Grosso (Figura 2.1). Inicialmente, milho foi semeado em vasos contendo esse

solo, com o objetivo de multiplicar o nematóide. Após dois meses, os nematóides foram extraídos das raízes de milho (COOLEN; D'HERDE, 1972), as fêmeas de *P. brachyurus* foram selecionadas em estereomicroscópio e inoculadas em plantas de quiabo em vaso com solo desinfestado. Oito vasos com quiabeiro receberam 30 a 65 fêmeas por vaso e foram mantidos em casa de vegetação. Indivíduos de ambas as populações foram periodicamente extraídos das raízes de quiabo e observados em microscópio óptico, com o objetivo de confirmar a identidade da espécie, baseada em características morfológicas e morfométricas (HANDOO; GOLDEN, 1989). O inóculo utilizado nos experimentos foi uma suspensão aquosa extraída das raízes de quiabo através do método de Baermann modificado para recipiente raso (HOOPER, 1986), contendo juvenis + adultos, estimados utilizando-se câmara de contagem de Peters sob microscópio óptico.

Figura 2.1 – Local de origem das populações de *Pratylenchus brachyurus* e cultivares de caupi utilizadas no trabalho

Preparo das plantas e infestação do solo

Os substratos utilizados nos experimentos foram misturas de solo e areia (74 – 76% areia, 6% silte, 18 – 20% solo, 1,0 – 1,7% matéria orgânica, pH 5,9 – 6,1) tratados com brometo de metila (150 ml/m³ solo) (experimentos 1 e 3) ou com vapor úmido (121 °C por 2 horas; experimento 2). Duas sementes de caupi foram semeadas por copo (copos plásticos de 12,5 cm de profundidade por 9,0 cm de diâmetro, contendo 400 cm³ de substrato); imediatamente após a germinação, foi feito o desbaste, deixando-se uma planta por copo. A suspensão aquosa contendo os nematóides foi distribuída em dois orifícios (4 cm de profundidade) feitos próximos à base da planta, 10 dias após a germinação.

Os experimentos foram conduzidos durante o outono de 2003 (experimento 1), primavera de 2005 (experimento 2) e verão/outono de 2004 (experimento 3), na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba, SP (22°42’S; 47°38’W; 546 m de altitude). Durante os experimentos, as temperaturas máximas e mínimas diárias na casa de vegetação variaram de 14,8 a 31,8 °C no experimento 1 e de 17,06 a 33,40 °C no experimento 2. A temperatura não foi medida no experimento 3.

Experimentos 1 e 2. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* ao caupi

Foram utilizadas três densidades populacionais iniciais de *P. brachyurus* (população Pb₂₀): 0, 5.000 e 15.000 nematóides por planta. O inóculo foi distribuído em dois orifícios de 4 cm de profundidade, localizados próximos à planta, dez dias após a germinação do caupi. Cada tratamento foi composto por 10 repetições. Dez dias após a inoculação (dai), as plântulas juntamente com o substrato foram transferidas para vasos plásticos de 1.500 cm³ de capacidade, contendo o substrato. Ao final do período experimental (72 dai) avaliou-se a massa seca da parte aérea (secagem em estufa a 60 °C). No experimento 2, a massa seca das vagens foi obtida separadamente da massa seca das folhas e caule, uma vez que a massa das vagens pode ser um indicativo do efeito do nematóide na produção da planta de caupi. Os sistemas radiculares foram imersos em balde contendo 4 L de água de torneira, para separação do substrato e das raízes. As raízes foram lavadas em água de torneira, enxugadas com papel e pesadas para obtenção da massa fresca das raízes. O substrato foi processado por peneiramento e centrifugação para extração dos nematóides (JENKINS, 1964) e as raízes por meio do método de liquidificador e centrífuga (COOLEN; D’HERDE, 1972). A população final de *P. brachyurus* (Pf) foi obtida

através da contagem dos nematóides assim extraídos. O fator de reprodução do nematóide ($FR = Pf/Pi$) foi estimado para cada repetição, dividindo-se a população final (Pf substrato + Pf raízes) pela inicial (Pi). Determinaram-se também os valores do número de espécimes do nematóide por grama de raízes.

Experimento 3. Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em cultivares selecionadas de caupi

Cinco cultivares de caupi foram selecionadas de diferentes regiões do Brasil (Figura 2.1): BR 7-Parnaíba, BR 14-Mulato, BR 17-Gurguéia, BRS Guariba e Fradinho. A cultivar IPA-206 foi incluída com o objetivo de comparação, pelo fato de ter sido considerada como suscetível nos experimentos anteriores. A inoculação foi feita de acordo com o descrito anteriormente, mas utilizando-se 1.000 nematóides das populações Pb_{20} , Pb_{21} ou Pb_{23} . A suscetibilidade das cultivares foi avaliada aos 60 dai, pelo cálculo do FR para cada repetição e comparando-se esse valor com aqueles encontrados para a cultivar IPA-206, o controle suscetível.

Análise estatística

O delineamento experimental para os experimentos 1 e 2 foi inteiramente casualizado, com 10 repetições. O experimento 3 foi feito na forma de fatorial (5 cultivares e 3 populações do nematóide), em delineamento inteiramente ao acaso, com cinco repetições. As médias dos valores de número de nematóides por grama de raízes e do FR do nematóide, obtidas nos três experimentos, e da massa fresca de raízes, massa seca da parte aérea e das vagens, obtidas nos experimentos 1 e 2, foram comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$), sem transformação dos dados, usando o software SANEST (Departamento de Matemática e Estatística, ESALQ/USP, Piracicaba, SP). No presente trabalho, a resistência foi definida como o efeito de genes do hospedeiro que restringe ou previne a reprodução na espécie hospedeira cultivada em ambientes favoráveis ao desenvolvimento do patógeno (TRUDGILL, 1991).

2.2.3 Resultados

Experimentos 1 e 2. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* ao caupi

As plantas infectadas por *P. brachyurus* exibiram menor desenvolvimento vegetativo. Foram observadas lesões nas raízes infectadas com *P. brachyurus* (Figura 2.2) que foram

idênticas aos pontos de coloração castanho irregulares e alongados observados por Godfrey (1929) em raízes de abacaxi e caupi infectadas por *P. brachyurus* (Figura 2.2). Portanto, será citada literalmente a descrição feita por Godfrey: “Elas são um pouco mais claras ou mais diluídas na coloração quando muito jovens, escuras e fortes na coloração conforme se tornam mais velhas. Apresentam contrastes nítidos de coloração na superfície, as bordas são nitidamente delimitadas dos tecidos normais em sua extensão e a superfície das lesões é algumas vezes mosqueada ou estriada com coloração castanho claro a escuro. Os contornos das lesões são determinados por células mortas e descoloridas na epiderme”. Não foram observados sintomas macroscópicos de deficiência nutricional nas folhas ou outras desordens na parte aérea, exceto enfezamento e vigor reduzido.

Apesar de o crescimento radicular ser afetado apenas em elevadas populações de *P. brachyurus* (15.000 nematóides; redução de 56%) no experimento 1, o crescimento da parte aérea, incluindo folhas, caule e vagens, foi reduzido por ambas Pi (5.000 e 15.000 nematóides; Tabela 2.1) em cerca de 58% em comparação à testemunha. Em plantas infectadas por *P. brachyurus*, a formação das vagens e o enchimento dos grãos foram afetados, o que se confirmou no experimento 2 (Figura 2.3). No experimento 2, o crescimento das raízes e folhas/caule não foi afetado por *P. brachyurus*, mas o crescimento das vagens sofreu efeito deletério de ambas as Pi, com reduções de 61,5% e 76,9% em comparação à testemunha (Tabela 2.2).

Figura 2.2 – Lesões radiculares causadas por *Pratylenchus brachyurus* em caupi

Figura 2.3 – Efeito de *Pratylenchus brachyurus* no crescimento da planta e formação das vagens de caupi, no experimento 1

Tabela 2.1 – Efeito de *Pratylenchus brachyurus* (população Pb₂₀) sobre a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa fresca de raízes (MFR) de caupi ‘IPA-206’; fator de reprodução (FR) e número de nematóides por grama de raízes (nem./g), 72 dias após a inoculação (experimento 1)

Tratamento	MFR (g) [*]	MSPA (g) ^{*,**}	Nem/g [*]	FR [*]
Controle	22,66 a	4,77 a		
5.000	18,55 ab	3,77 b	1.497 b	4,34
15.000	12,66 b	2,00 c	4.102 a	3,51
CV (%)	30,41	22,55	58,90	

* Médias de dez repetições; médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de significância de 5%, segundo o teste de Tukey. ** Folhas, caule e vagens

Tabela 2.2 – Efeito de *Pratylenchus brachyurus* (população Pb₂₀) sobre a massa seca das folhas e caules (MSFC), massa seca das vagens (MSV) e massa fresca de raízes (MFR) de caupi ‘IPA-206’; fator de reprodução (FR) e número de nematóides por grama de raízes (nem./g), 72 dias após a inoculação (experimento 2)

Tratamento	MFR (g) [*]	MSFC(g) [*]	MSV (g) [*]	Nem/ g [*]	FR [*]
Controle	10,40 a	2,30 a	1,30 a		
5.000	10,30 a	2,30 a	0,50 b	1.348 b	2,60
15.000	10,20 a	1,30 a	0,30 b	2.884 a	1,40
CV (%)	30,24	33,06	89,93	55,62	

* Médias de dez repetições; médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de significância de 5%, segundo o teste de Tukey

O nematóide foi encontrado, e a identidade específica confirmada, em todas as plantas infectadas, mas o FR foi inversamente relacionado com a Pi: Pf/Pi = 4,34 com Pi = 5.000 e Pf/Pi = 3,51 com Pi = 15.000, no experimento 1 (Tabela 2.1); Pf/Pi = 2,60 com Pi = 5.000 e Pf/Pi = 1,40 com Pi = 15.000, no experimento 2 (Tabela 2.2). As densidades populacionais de *P. brachyurus* foram maiores no primeiro experimento em comparação com o segundo.

Experimento 3. Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em cultivares selecionadas de caupi

O nematóide foi encontrado nas raízes de todas as cultivares testadas, mas em diferentes graus, dependendo das populações de *P. brachyurus* e da cultivar de caupi (Tabela 2.3). A população Pb₂₁ foi a mais agressiva e Pb₂₀ a menos agressiva para seis cultivares de caupi. A cultivar Fradinho foi a que apresentou maior resistência a *P. brachyurus*, mas essa resistência parece ser bastante fraca, considerando-se a similaridade nos dados de reprodução de *P. brachyurus* (FR e nem/g) em relação às outras cultivares (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 – Fator de reprodução (FR) e número de nematóides por grama de raízes (nem./g) de *Pratylenchus brachyurus* (populações Pb₂₀, Pb₂₁ e Pb₂₃) em seis cultivares de caupi, 72 dias após a inoculação com 1.000 nematóides/planta (experimento 3)

Cultivares	FR*				Nem/g*			
	Pb ₂₀	Pb ₂₁	Pb ₂₃	Média	Pb ₂₀	Pb ₂₁	Pb ₂₃	Média
BR 17-Gurguéia	1,83	4,83	1,83	2,83 a	279	446	405	377 a
BRS Guariba	1,83	2,50	2,33	2,22 ab	137	517	290	314 ab
BR 14-Mulato	0,83	3,50	2,00	2,11 ab	86	339	324	250 bc
BR 7-Parnaíba	0,66	3,33	2,33	2,11 ab	133	215	329	226 bc
IPA-206	1,0	2,00	2,33	1,77 ab	97	273	262	211 bc
Fradinho	0,66	1,33	1,66	1,22 b	132	204	217	184 c
Média	1,13 C	2,91 A	2,08 B		144 B	332 A	304 A	

* Médias de cinco repetições; médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de significância de 5%, segundo o teste de Tukey

2.2.4 Discussão

Os resultados encontrados nos experimentos 1 e 2 demonstraram que *P. brachyurus* é patogênico ao caupi, considerando-se os efeitos no crescimento das raízes, folhas/caule e vagens. Nas raízes, *P. brachyurus* afetou não somente o crescimento, mas também a funcionalidade das raízes, uma vez que elas exibiram longos trechos de tecido em decomposição. Tal efeito, ou seja, a perda de funcionalidade das raízes, pode explicar alguns resultados encontrados nos

experimentos 1 e 2, uma vez que *P. brachyurus* afetou o crescimento de folhas/caule ou vagens mesmo na ausência de efeito no crescimento das raízes. Apesar de os experimentos 1 e 2 terem sido conduzidos sob diferentes condições, principalmente em relação à temperatura do ar, e as tentativas de se correlacionar os valores de número de nematóides por grama de raízes com os danos causados às raízes e ao menor crescimento das plantas serem apenas aproximadas, pode-se afirmar que o vigor e/ou produção da planta é afetado com valores próximos a 1.348 - 1.500 nematóides por grama de raízes, correspondentes às plantas infectadas com a Pi de 5.000, ao final dos experimentos 1 e 2. Esses valores somente sugerem parte do verdadeiro efeito do nematóide sobre as plantas de caupi, já que a população Pb₂₀ foi a menos agressiva. Em relação às populações Pb₂₁ e Pb₂₃, esses valores podem ser bem menores, devido à maior capacidade reprodutiva nas raízes de caupi.

O presente trabalho é o primeiro relato que demonstra redução de vigor, assim como o efeito significativo na produção de caupi causados por *P. brachyurus* em condições controladas, por meio da avaliação dos danos ao crescimento das plantas e, provavelmente mais importante, formação das vagens e enchimento dos grãos. Summerfield (1978) tem enfatizado que a produção de caupi geralmente aumenta até o início da formação das vagens, então qualquer efeito no crescimento da planta, como demonstrado pelos presentes resultados, influencia a produção. Também é de se esperar que em condições de campo, onde a disponibilidade de água e nutrientes é menor que em experimentos em condições controladas, os efeitos supressivos de *P. brachyurus* na produção do caupi possam ser similares ou mesmo maiores que os encontrados no presente trabalho.

Como esperado, a quantidade de nematóides por grama de raízes foi maior com o aumento da Pi, inclusive em relação à cultivar IPA-206 no experimento 3, com Pi de 1.000 nematóides. Entretanto, o FR de *P. brachyurus* nos experimentos 1 e 2 foi maior na Pi de 5.000 nematóides que na Pi de 15.000, provavelmente por causa da competição intraespecífica por sítios disponíveis para o parasitismo (INOMOTO et al., 2001). A menor reprodução de *P. brachyurus* no experimento 2 pode explicar o efeito menos pronunciado do nematóide no crescimento do caupi. O menor volume de raízes no segundo experimento pode ter sido a causa do menor FR na Pi de 15.000, confirmando a idéia de competição intraespecífica.

No Brasil, o caupi pode ser utilizado como cultura principal em monocultivo, mas também em rotação com a soja e o arroz. Apesar de a rotação de culturas ser uma ferramenta

valiosa para o manejo de nematóides, principalmente de *M. incognita*, *M. javanica* e *Heterodera glycines* Ichinoe, é de potencial limitado no caso de *P. brachyurus*, porque a maioria das plantas cultivadas, incluindo soja e arroz, são boas hospedeiras desse nematóide. Outra técnica relevante e eficiente para o manejo de nematóides é o desenvolvimento e uso de cultivares resistentes, pois não requer nenhum equipamento especial e também nenhum custo adicional para o produtor. Entretanto, os presentes resultados sugerem que a resistência completa pode não ser efetiva no manejo de *P. brachyurus* em caupi, utilizando-se os genótipos comerciais disponíveis no Brasil. Até mesmo a cultivar 'Fradinho', que foi a que apresentou maior grau de resistência de todas as cultivares testadas, permitiu a reprodução de duas das três populações de *P. brachyurus* testadas. Futuros estudos devem ser conduzidos de forma a estabelecer o nível de tolerância nessas cultivares e como elas comportam-se sob condições de campo.

2.3 Conclusões

Baseando-se no presente estudo, o nematóide *P. brachyurus* deve ser considerado patógeno importante para o caupi, por sua capacidade de interferir no desenvolvimento das plantas de caupi e pela dificuldade de manejo por meio de cultivares resistentes.

Referências

- FNP CONSULTORIA & AGROINFORMATIVOS. Feijão. In: _____. **Agrianual 1998**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 1998. p. 85-86.
- ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA, Embrapa, 1988, 722 p.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F.M.P.; SANTOS, A.A. Doenças do feijão caupi. In: CARDOSO, M.J. (Ed). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte. 2000. 264 p.
- BAUJARD, P.; MOUNPORT, D.; MARTINY, B. Étude au microscope électronique à balayage de quatre espèces du genre *Pratylenchus* Filip'ev, 1936 (Nemata: Pratylenchidae). **Révue Nématologie**, Bondy, v. 1, p. 203-210, 1990.
- BIRD, A.F. Plant response to root-knot nematode. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, p. 69-85, 1974.
- CAFÉ FILHO, A.C.; HUANG, C.S. Nematóides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 13, p. 232-235, 1988.

CARDOSO, M.J. **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. 264 p.

COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent, Belgian: State of Nematology and Entomology research Station, 1972, 77p.

FERRAZ, S. Reconhecimento das espécies de fitonematóides presentes no solo do Estado de Minas Gerais. **Experientiae**, Viçosa, v. 26, p. 255-328, 1980.

FRANÇOIS, P.; SIZARET, F. **Food and Nutrition**, London, v. 7, p. 11-18, 1981.

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; BANDEIRA, L.M., Cultivares de feijão caupi recomendadas para o plantio nas regiões Norte e Nordeste: ano agrícola 1996/1997. Teresina: EMBRAPA CPAMN, 1997. 20p. (EMBRAPA, Documentos, 22).

FREIRE FILHO, F.R.; CARDOSO, M.J.; ARAÚJO, A.G.; SANTOS, A.A.; SILVA, P.H.S. Caupi: nomenclatura científica e nomes vulgares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Belo Horizonte, v. 18, p. 136-137, 1983.

FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A.; VIANA, F.M.P.; RIBEIRO, V.Q. Feijão caupi: avanços tecnológicos. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2004. 640p.

FROTA, A.B.; FREIRE FILHO, F.R.; CORRÊA, M.P.F. Impactos socioeconômicos de cultivares de feijão caupi na região meio-norte do Brasil. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000, 20 p. (EMBRAPA, Documentos, 52).

GERMANO, M.L.L.R. **Emprego de produtos naturais no tratamento de sementes de feijão macassar (*Vigna unguiculata* L. Walp.) acondicionados em três embalagens e em microregiões do Estado da Paraíba, Areia**, 1997. 77 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 1997.

GODFREY, G.H. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus*, n.sp. **Phytopathology**, Lancaster, v. 7, p. 611-630, 1929.

HANDOO, Z.A.; GOLDEN, M.A. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 21, p. 202-218, 1989.

HEFFES, T.A.P.; COATES-BECKFORD, P.L.; ROBOTHAM, H. Effects of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchus reniformis* on growth and nutrient content of *Vigna unguiculata* and *Zea mays*. **Nematropica**, Flórida, v. 22, p. 139-148, 1992.

HOOPER, D.J. Extraction of free-living stages from soil. In: SOUTHEY, J.F. (Ed.). **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**, 6th ed. London: Her Majesty's Stationery Office, 1986. p. 5-30.

HUSSEY, R.S.; WILLIAMSON, V.M. Physiological and molecular aspects of nematode parasitism. In: BARKER, K.R.; PEDERSON, G.A.; WINDHAM, G.L. (Ed.). **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, 1998. p. 87-108.

INOMOTO, M.M.; GOULART, A.M.C.; MACHADO, A.C.Z.; MONTEIRO, A.R. Effect of population densities of *Pratylenchus brachyurus* on the growth of cotton plants. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 26, p. 192-196, 2001.

JAIN, R.K. Investigations on pathogenicity and interaction of *Meloidogyne incognita* and *Helicotylenchus dihystera* infecting cowpea (*Vigna unguiculata*). **Indian Journal Agriculture Research**, New Dehli, v. 17, p. 33-36, 1983.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, p. 692, 1964.

JOHNSON, A.W.; FASSULIOTIS, G.N. Nematodes parasites of vegetable crops. In: NICKLE, W.R. (Ed.). **Plant and insect nematodes**. New York, Basel: Marcel Dekker, 1991. p. 323-372.

MACHADO, A.C.Z.; BELUTI, D.B.; SILVA, R.A.; SERRANO, M.A.S.; INOMOTO, M.M. Avaliação de danos causados por *Pratylenchus brachyurus* em algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 31, p. 11-16, 2006.

McSORLEY, R.; GALLAHER, R.N. Comparison of nematode population densities on six summer crops at seven sites in North Florida. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 24, p. 699-706, 1992.

OLWE, T.; CORBETT, D.C.M. Morphology and morphometrics of *Pratylenchus brachyurus* and *Pratylenchus zae* III. Influence of geographical location. **Indian Journal of Nematology**, New Dehli, v. 14, p. 30-35, 1984.

OYEDUNMADE, E.E.A.; BARBATOLA, J.O.; OLABIYI, T.I. The effects of two crop residues on nematodes in cowpea cultivation. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 23, p. 61-64, 1995.

PIO-RIBEIRO, G., ASSIS FILHO, F.M., ANDRADE, G.P. Doenças do caupi. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ceres, 2005. v. 2, p. 215-222.

PONTE, J. J. Os nematóides do caupi e sua importância. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 11, p. 36-40, 1987.

RIEDEL, R. M.; FOSTER, J. G.; MAI, W. F. A simplified medium for monoxenic culture of *Pratylenchus penetrans* and *Ditylenchus dipsaci*. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 5, p. 71-72, 1973.

RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas do caupi. In: ARAÚJO, J.P.P.; E.E. WATT (Eds.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA; Embrapa, 1988. p. 549-589.

ROBERTS, P.; NDIAGA CISSÉ, N.; ISSA DRABO, O.; BOUKAR, A.; SAWADO, M. BIRAME TOURE. Assessment of the nematode incidence and speciation in west African soils, identification of genetic resistance to nematodes in cowpeas and the development of strategies to control nematodes in cowpea-based cropping systems. In: THE BEAN/COWPEA COLLABORATIVE RESEARCH SUPPORT PROGRAM, REGIONAL PARTNERSHIPS TO ENHANCE BEAN/COWPEA CONSUMPTION AND PRODUCTION IN AFRICA AND LATIN AMERICA, 2004, Michigan. **Proceeding...** East Lansing: Research and Training Highlights, 2004, p.22-23.

SASSER, J. N. **Plant-Parasitic Nematodes: the farmer's hidden enemy**. Raleigh: University Graphics, 1989. 115 p.

SHARMA, R. D.; EKHARDT, R. Incidência de nematóides fitoparasitas no Estado do Amazonas, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 4, p. 151, 1979.

SILVA, G. S. Ocorrência e controle de fitonematóides no feijão caupi no meio-norte do Brasil. In: CARDOSO, M.J. (Ed.). **A cultura do feijão caupi no meio-norte do Brasil**. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 2000. p. 229-236.

SILVA, P. S. L.; OLIVEIRA, C. N. Rendimentos de feijão verde e maduro de cultivares de caupi. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.11, p. 133-135, 1993.

SUMMERFIELD, R. J. Vegetative growth, reproductive ontogeny and seed yield of selected tropical grain legumes. In: MCFARLANE, N.A. (Ed.). **Crop protection agents, their biological evaluation**. London: Academic Press, 1978. p. 251-271.

THOMPSON, J. P.; BRENNAN, P. S.; CLEWETT, T. G.; O'REILLY, M. M. Tolerance and resistance to *Pratylenchus thornei*. In: ASSEMBLY OF THE WHEAT BREEDING SOCIETY OF AUSTRALIA, 7, 1994, Adelaide. **Proceedings...** Adelaide: Society of Australia, 1994. p. 213-216.

TRUDGILL, D. L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 167-192, 1991.

WILDERMUTH, G. B.; THOMPSON, J. P.; ROBERTSON, L. N. Biological change: diseases, insects and beneficial organisms. In: CLARKE, A. L.; WYLIE, P. B. (Eds). **Sustainable crop production in the sub-tropics: an Australian perspective**. Brisbane: Queensland Department of Primary Industries, 1997. p. 112-130.

3 REAÇÃO DE CULTIVARES DE CAUPI AO NEMATÓIDE DAS LESÕES *Pratylenchus brachyurus*

Resumo

Tendo em vista a necessidade de se desenvolver técnicas de manejo para *Pratylenchus brachyurus* na cultura do caupi, dois experimentos foram desenvolvidos em casa de vegetação com o objetivo de caracterizar a reação de sete cultivares de caupi ao nematóide, por meio da obtenção das variáveis FR (fator de reprodução do nematóide) e Nem./g (número de nematóides por grama de raízes). Os resultados obtidos indicaram que as variáveis FR e Nem./g sofreram forte influência do ambiente e demonstraram que existe variação na agressividade de *P. brachyurus* a caupi, informações que devem ser levadas em consideração nos programas de melhoramento genético do caupi. Todas as cultivares (Setentão, IPA-205, EPACE 10, BRS Marataoã, BRS Rouxinol, Fradinho e BR 17-Gurguéia) permitiram em graus variados a reprodução do nematóide (FR = 5,00 a 13,01 no experimento 1 e 1,71 a 3,28 no experimento 2). A cultivar mais resistente foi Setentão; IPA-205 foi menos resistente que Setentão, mas apresentou resposta próxima; as demais responderam como suscetíveis ou pouco resistentes a *P. brachyurus*. Concluiu-se que os níveis de resistência a *P. brachyurus* em caupi são baixos, provavelmente em função da grande similaridade genética dos materiais comerciais dessa planta. Portanto, o uso da resistência genética para o manejo de *P. brachyurus* na cultura do caupi dependerá da ampliação da base genética das novas cultivares de caupi.

Palavras-chave: Agressividade; Feijão de corda; Resistência; Suscetibilidade; Variação genética; *Vigna unguiculata*

Abstract

Due to the need of developing methods for managing *Pratylenchus brachyurus* in cowpea fields, two greenhouse experiments were carried out in order to study the suitability of seven cultivars to the nematode by determining the variables RF (reproductive factor of the nematode) and Nem./g (number of nematodes for gram of roots). The results indicated that both variables were strongly influenced by environmental factors, and demonstrated the existence of variation in aggressiveness of *P. brachyurus* on cowpea, information that must be taking in account in breeding programs for this crop. All tested cultivars (Setentão, IPA-205, EPACE 10, BRS Marataoã, BRS Rouxinol, Fradinho, and BR 17-Gurguéia) allowed *P. brachyurus* to reproduce, but at different degrees (RF = 5.00 to 13.01 in experiment 1, and 1.71 to 3.28 in experiment 2). The most resistant cultivar was Setentão; IPA-205 was a lesser resistant than Setentão; the remaining cultivars were susceptible or low resistant. It was concluded that the level of resistance to *P. brachyurus* in cowpea is low, probability due to the high genetic similarity among the current commercial cultivars. Thus, the use of genetic resistance for management of *P. brachyurus* in cowpea will depend on the future availability of cultivars characterized by a broader genetic base.

Key-words: Aggressiveness; Resistance; Susceptibility; Genetic variation; *Vigna unguiculata*

3.1 Introdução

O caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) desempenha importante papel sócio-econômico no Nordeste brasileiro, gerando 2,4 milhões de empregos diretos, e representa o feijão mais consumido nos estados dessa região, com consumo per capita médio de 20 kg (BENEVENUTTI, 1996). O sistema de produção do caupi é considerado complexo e dinâmico, devido à influência de diversos fatores na cadeia produtiva, tais como as cultivares, a qualidade das sementes, as pragas e as doenças (FREIRE FILHO et al., 2000).

Os fitonematóides encontram-se entre os principais agentes indutores de doenças em caupi, pelas reduções drásticas na produtividade. Nesse particular, o nematóide das lesões *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Sch. Stekhoven, embora pouco contemplado nos estudos relativos à interação nematóide $\times$ caupi, atualmente merece atenção especial no Brasil, pela elevada ocorrência na cultura, verificada por trabalhos de levantamento de campo (SHARMA; EKHARDT, 1979; FERRAZ, 1980; PONTE, 1987; CAFÉ FILHO; HUANG, 1988; SILVA, 2000), e pelo seu potencial patogênico, determinado em condições de campo e de casa de vegetação (GODFREY, 1929; SIQUEIRA; INOMOTO, 2004).

Em condições de campo, raízes de caupi infectadas com o nematóide apresentam lesões de coloração castanha clara ou escura, de acordo com o grau de desenvolvimento da infecção (GODFREY, 1929). Em condições controladas, com as populações iniciais de 5.000 e 15.000 espécimes de *P. brachyurus* por planta, verificaram-se reduções da ordem de 21 a 60% no acúmulo de massa seca da parte aérea da cultivar IPA-206 (SIQUEIRA; INOMOTO, 2004).

Portanto, dentro do quadro atual, se faz necessário o início de trabalhos experimentais que subsidiem o desenvolvimento de técnicas de manejo do nematóide das lesões na cultura do caupi. Importante componente do manejo é a utilização de cultivares resistentes, pela possibilidade de manter elevados níveis de produção mesmo se a densidade populacional do nematóide exceder o limiar de danos para a cultura (ROBERTS, 2002). O critério de seleção de plantas resistentes é baseado nos valores do fator de reprodução do nematóide, sendo selecionadas aquelas que apresentam baixos valores.

Tendo em vista a ausência de informações sobre a resistência de caupi a *P. brachyurus*, o presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar a reação de sete cultivares de caupi, por meio de experimentos em casa de vegetação. Três populações de *P. brachyurus* foram

utilizadas no estudo, com a finalidade de verificar a existência de variação na agressividade do nematóide ao caupi.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Revisão bibliográfica

A cultura do caupi ocupa aproximadamente 1 milhão de hectares, dos quais 90% estão localizados nos estados do Nordeste (FROTA; PEREIRA, 2000). Estima-se que a produção brasileira contribui com 26% da produção mundial e 82% de todos os grãos de caupi produzidos no continente americano (ARAÚJO; WATT, 1988). No entanto, a produtividade no Nordeste é considerada baixa, exemplo disso foi observado na safra de 2002, com rendimento médio de 332 kg/ha, valor que não reflete o potencial genético, estimado em 2.500 kg/ha. De acordo com dados do IBGE, essa situação é decorrente principalmente do sistema de produção adotado pelos produtores, que fazem uso de sementes não melhoradas; baixo grau de adoção de tecnologias como irrigação, defensivos químicos e adubação; e plantio de cultivares suscetíveis a doenças e pragas (CARDOSO, 2000).

Vários métodos de manejo de fitonematóides encontram-se disponíveis para serem utilizados de forma integrada ou mesmo isoladamente no sistema de agricultura sustentável. Entre os métodos estão inclusos o uso de cultivares resistentes, a rotação de culturas, a utilização de cultura de cobertura, a solarização do substrato, dentre outras práticas. Outros dois pontos particularmente importantes nesse aspecto são a seleção das culturas a serem utilizadas na rotação, bem como a seqüência de cultivo das culturas que possa diminuir a densidade populacional dos nematóides e os danos à produção (McSORLEY; GALLAHER, 1992). Enfocando especificamente o controle genético, por meio da utilização de cultivares resistentes, esse representa o método de controle de nematóides mais eficiente, prático e econômico (SASSER, 1989; BOERMA; HUSSEY, 1992), quando comparado com outros métodos, pois requer pouca ou nenhuma modificação na tecnologia empregada previamente na propriedade.

A princípio, o melhoramento da cultura estava direcionado na busca de cultivares com alto valor comercial, com surgimento posterior da necessidade de selecionar dentre elas aquelas com níveis elevados de resistência, ou pelo menos tolerância, às principais pragas e doenças (PONTE; CARVALHO; CIRINO, 1985).

A ocorrência de nematóides, principalmente *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood e *Pratylenchus brachyurus*, tem sido freqüente em trabalhos de levantamentos nos últimos anos, em diferentes estados brasileiros (CAFÉ FILHO; HUANG, 1988), aumentando a necessidade de obtenção de cultivares resistentes à maioria dos nematóides. Entretanto, até o momento diversas culturas de importância econômica não apresentam cultivares resistentes aos nematóides considerados chaves, ou mesmo quando a fonte de resistência está presente na espécie selvagem (ROBERTS, 2002). Vários anos de pesquisas são necessários para o desenvolvimento de cultivares que associem de forma harmoniosa altos índices de produtividade com níveis desejáveis de resistência. E, nesse caso, resistência pode ser definida como o efeito do gene presente na planta hospedeira que restringe ou impede a multiplicação do patógeno (TRUDGILL, 1991). A resistência para *M. incognita* apresentada por algumas cultivares de caupi é descrita com sendo resultado da ação de um gene dominante. Além disso, aparentemente pode conferir graus variados de resistência para outras espécies de *Meloidogyne* (FERY; DUKES, 1980).

De acordo com relatos de Kirkpatrick e Morelock (1987), as cultivares comumente cultivadas nos Estados Unidos possuem níveis variados de resistência a uma ou mais raças de *M. incognita*. Tais resultados foram posteriormente comprovados por McSorley e Gallaher (1992), que observaram que a cultivar Califórnia Blackeye # 5 é indicada como boa alternativa para cultivos de verão, em áreas infestadas com *M. incognita*, pois mantém relativamente baixa a população; e por Gallaher e McSorley (1993) ao estudar o parasitismo do nematóide das galhas sob sete cultivares. Em ambos, os estudos realizados sob condições de campo, e onde foi constatada a presença de outras espécies de nematóides, todas as cultivares comportaram-se como hospedeiras favoráveis ao desenvolvimento e multiplicação de *Pratylenchus*, encontrados em populações mistas (64-67% de *P. brachyurus* + 36-33% de *P. scribneri*), com índices populacionais comparáveis aos obtidos para soja (cvs. Howard e Deltapine 105) e milho (cv. Pioneer 3098), considerados bons hospedeiros do nematóide.

No Brasil, Ponte, Carvalho e Cirino (1985) e Moura (1986), testaram cultivares de caupi em relação ao parasitismo de *M. incognita* e *M. javanica* e verificaram que tais cultivares apresentaram diferentes tipos de reação, que variou da tolerância à suscetibilidade. Na prática, esses autores recomendaram o uso das cultivares que mostraram os melhores resultados como forma de manejo desses nematóides nas áreas.

Pratylenchus brachyurus, ou nematóide das lesões, é um endoparasito migrador com ampla distribuição em nossos agroecossistemas (CAFÉ FILHO; HUANG, 1988). O processo de infecção tem início com os juvenis de segundo estágio, provenientes da reprodução partenogênica, penetrando as raízes em desenvolvimento através da epiderme, por meio da perfuração das paredes celulares e posterior migração no córtex. No decorrer do caminhar, o conteúdo celular é ingerido e alterado pelo processo de digestão pré-oral, porém não há formação de sítios de alimentação. O ciclo de vida normalmente é realizado por completo no interior das raízes, mas condições desfavoráveis levam à migração em direção ao solo. Godfrey (1929) cita que plantas de caupi infestadas com *P. brachyurus* apresentam na superfície radicular trechos enegrecidos que variam de coloração de acordo com o estágio de desenvolvimento da infecção, de tons claros a escuros; inicialmente as lesões são pequenas, com posterior alongamento. São sintomas que não apresentam características típicas que possam ser utilizadas na diferenciação dos ocasionados por outros grupos de patógenos radiculares, evidenciando a dificuldade do seu diagnóstico.

Siqueira e Inomoto (2004) verificaram pela primeira vez a patogenicidade de *P. brachyurus* ao caupi em condições controladas de casa de vegetação, e relataram os danos ocasionados ao desenvolvimento vegetativo das plantas quando submetidas a altas densidades populacionais do nematóide. Observaram, também, que a cultivar IPA-206, recomendada para o estado de Pernambuco, foi suscetível a *P. brachyurus*. Os sintomas da penetração e desenvolvimento de *P. brachyurus* no sistema radicular de plantas de caupi podem ser caracterizados por lesões com formato irregularmente alongado de coloração inicialmente castanha, com posterior enegrecimento causado pelo deslocamento do nematóide no interior das raízes (GODFREY, 1929; SIQUEIRA; INOMOTO, 2004). Embora as raízes demonstrem claramente os efeitos da ação negativa da presença do nematóide, sintomas de deficiência nutricional, como por exemplo, amarelecimento da parte aérea, não foram observados em plantas com alta infestação. Os últimos autores verificaram que a produtividade do caupi foi reduzida significativamente com o aumento da densidade populacional no início do plantio, em condições controladas de casa de vegetação. Entretanto, informações a respeito de níveis de resistência/suscetibilidade das cultivares ao parasitismo do nematóide das lesões ainda não foram relatadas até o momento.

3.2.2 Material e Métodos

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Campus de Piracicaba, SP (22°42’S, 47°38’W; 546 m de altitude). Os períodos experimentais foram de outubro a dezembro de 2004 (experimento 1) e de dezembro/05 a fevereiro/06 (experimento 2).

Obtenção do inóculos

Três populações de *Pratylenchus brachyurus*, denominadas Pb₂₀, Pb₂₁ e Pb₂₃, foram usadas nos experimentos. A população Pb₂₀ foi obtida de uma fêmea extraída de raízes de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* [L.] Moench.) coletadas em Seropédica, Rio de Janeiro. A população Pb₂₀ foi mantida inicialmente em condições de laboratório, em calos de alfafa (*Medicago sativa* L.) (RIEDEL; FOSTER; MAI, 1973), e depois em casa de vegetação, em plantas de quiabo. As populações Pb₂₁ e Pb₂₃ foram coletadas de solos de áreas produtoras de algodão nos municípios de Serra do Ramalho, Bahia, e Sapezal, Mato Grosso. Inicialmente, plantas de milho foram cultivadas em vasos de argila com solo dessas localidades, para multiplicação dos nematóides. Após dois meses, os nematóides foram extraídos das raízes de milho, por meio do método de Coolen e D’Herde (1972), e inoculados em plantas de quiabo na proporção de 35 a 65 fêmeas de *P. brachyurus* por vaso, em condições de casa de vegetação. Os espécimes de ambas as populações foram periodicamente extraídos dos quiabeiros, para observação ao microscópio óptico e confirmação da espécie, baseada em características morfológicas e morfométricas (HANDOO; GOLDEN, 1989).

O inóculo utilizado foi solução aquosa de nematóides extraída de raízes de quiabeiro pelo método de Baermann modificado para recipiente raso (HOOPER, 1986).

Condução dos experimentos

Sete cultivares, todas cedidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Meio Norte, foram utilizadas nos experimentos: Fradinho, BRS Rouxinol, BR 17-Gurguéia, BRS Marataoã, EPACE 10, IPA-205 e Setentão. As cultivares foram escolhidas por serem comercialmente importantes nos principais estados produtores do Nordeste (Bahia, Ceará, Pernambuco e Piauí) e por apresentarem ciclo de desenvolvimento semelhante.

As plantas foram obtidas pela semeadura em recipientes plásticos com 500 cm³ de capacidade, contendo 400 cm³ de substrato médio-arenoso (74% de areia, 6% de silte e 20% de argila; 1,7% de matéria orgânica; pH 6,1) desinfestado por calor úmido (121 °C por 2 horas). Sete dias após a germinação, foi realizado o desbaste das plântulas, deixando uma por recipiente.

As inoculações foram realizadas 15 dias após a semeadura (dez após germinação), por meio da distribuição uniforme de suspensão aquosa contendo 650 espécimes do nematóide, entre fêmeas e juvenis, em dois orifícios de 2 cm de profundidade, próximos ao caule. As plantas foram mantidas por dois dias em local protegido da insolação e, a seguir, transferidas para casa de vegetação, onde foram mantidas até o final do período experimental. A avaliação foi realizada 60 dias após a inoculação, por meio da extração dos nematóides do solo (JENKINS, 1964) e das raízes (COOLEN; D'HERDE, 1972), seguida da contagem dos nematóides extraídos, para estimativa da população final de *P. brachyurus* (Pf), do fator de reprodução do nematóide ($FR = Pf/Pi$) e do número de nematóides por grama de raízes (Nem./g).

Análise estatística

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, com 21 tratamentos em arranjo fatorial (3 nematóides $\times$ 7 variedades), com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por uma planta por recipiente. Os valores das duas variáveis (FR e Nem./g) foram transformados para $\ln(x + 1)$ e submetidos à análise de variância. Posteriormente as médias das variáveis foram comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$). Neste trabalho, resistência foi definida como o efeito de genes da planta que restringem ou impedem a multiplicação do nematóide (TRUDGILL, 1991).

3.2.3 Resultados e Discussão

Ambas as variáveis avaliadas foram maiores no experimento 1 que no 2: FR = 5,00 a 13,01 vs. 1,71 a 3,28; e Nem./g = 124 a 812 vs. 88 a 297 (Tabelas 3.1 e 3.2). Tal diferença pode ser atribuída ao efeito do ambiente, principalmente temperatura do substrato, sobre o desenvolvimento de *P. brachyurus*. Segundo Trudgill (1991), a expressão da resistência da planta ao nematóide pode ser reduzida em ambientes favoráveis ao desenvolvimento do patógeno. Essa informação é importante, pois a resistência de genótipos de plantas a nematóides é avaliada principalmente em termos quantitativos, sendo considerados mais resistentes aqueles genótipos

com menores valores de Pf, FR ou Nem./g (GALLAHER; MCSORLEY, 1993; KHAN; HUSAIN, 1988; KIRKPATRICK; MORELOCK, 1987). Portanto, testes feitos em condições muito favoráveis ao nematóide provavelmente darão oportunidade para que genótipos resistentes apresentem valores de Pf, FR ou Nem./g de tal ordem que possam passar como materiais moderadamente resistentes; ou ainda que materiais moderadamente resistentes apresentem resultados que os façam passar como suscetíveis.

Tabela 3.1 - Fator de reprodução e número de nematóides por grama de raízes das populações Pb₂₀, Pb₂₁ e Pb₂₃ de *Pratylenchus brachyurus* em cultivares de caupi, 60 dias após a inoculação com 650 exemplares/planta (experimento 1)

Cultivares	Fator de reprodução				Nematóides/grama de raiz			
	Pb ₂₀	Pb ₂₁	Pb ₂₃	Média	Pb ₂₀	Pb ₂₁	Pb ₂₃	Média
BRS Rouxinol	6,92	20,16	15,40	13,01 a	425	1310	959	812 a
Fradinho	6,20	13,44	23,01	12,57 a	407	568	1186	650 ab
BRS Marataoã	3,71	10,80	21,55	9,79 a	244	440	916	462 abc
EPACE 10	3,82	15,20	14,32	9,62 a	230	616	576	434 bc
BR 17-Gurguéia	2,98	22,58	11,20	9,46 ab	270	1891	801	742 ab
IPA-205	1,63	8,58	11,13	5,74 bc	105	485	460	286 c
Setentão	1,49	8,31	8,29	5,00 c	43	192	227	124 d
Média	3,44 B	13,31 A	14,19 A		198 B	621 A	652 A	

Dados transformados para $\ln(x + 1)$ antes da análise estatística, sendo apresentadas médias dos dados originais. Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Tabela 3.2 - Fator de reprodução e número de nematóides por grama de raízes das populações Pb₂₀, Pb₂₁ e Pb₂₃ de *Pratylenchus brachyurus* em cultivares de caupi, 60 dias depois inoculação com 650 exemplares/planta (experimento 2)

Cultivares	Fator de reprodução				Nematóides/grama de raiz			
	Pb ₂₀	Pb ₂₁	Pb ₂₃	Média	Pb ₂₀	Pb ₂₁	Pb ₂₃	Média
BR 17-Gurguéia	1,38	1,46	12,36	3,28 a	157	141	1182	297 a
Fradinho	0,85	1,68	6,90	2,40 ab	126	125	679	221 ab
BRS Rouxinol	0,85	1,90	6,05	2,36 ab	65	109	428	145 bcd
BRS Marataoã	0,77	1,76	5,63	2,19 b	52	91	304	113 cd
EPACE 10	0,53	1,74	6,32	2,13 b	23	97	301	88 d
IPA-205	0,86	0,94	6,09	1,95 b	99	57	858	170 bc
Setentão	0,49	1,73	3,92	1,71 b	52	141	414	145 bcd
Média	0,80 C	1,58 B	6,44 A		70 C	105 B	526 A	

Dados transformados em $\ln(x + 1)$ antes da análise estatística, sendo apresentadas médias dos dados originais. Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Outro fator que se mostrou da maior importância na resposta das cultivares de caupi frente a *P. brachyurus* foi a origem do nematóide. No experimento 1, as populações Pb₂₃ e Pb₂₁ foram equivalentes entre si para as sete cultivares testadas e mais agressivas que Pb₂₀, considerando as duas variáveis (Tabela 3.1). No experimento 2, Pb₂₃ foi mais agressiva que Pb₂₁, e esta mais agressiva que Pb₂₀ (Tabela 3.2). Em trabalho anterior, Machado (2006) havia detectado diferença de agressividade em três populações de *P. brachyurus*, ao avaliar, por meio do FR, o potencial reprodutivo do nematóide em raízes de algodoeiro, em experimentos de casa de vegetação. Portanto, os presentes resultados confirmaram a existência de variação na agressividade de *P. brachyurus* às plantas hospedeiras. A seleção da população do nematóide a ser utilizada nas avaliações de cultivares representa parte crucial nos programas de melhoramento. De acordo com Boerma e Hussey (1992), plantas com altos níveis de resistência ao nematóide podem ser identificadas ao se utilizar populações agressivas. Além disso, é viável a seleção de plantas com resistência a várias populações do nematóide com a utilização de mistura de populações do nematóide provenientes de diferentes regiões geográficas (HUSSEY; BOERMA, 1981).

Para finalizar as duas questões acima levantadas e demonstrar a importância de ambas, considere-se a possibilidade de que a caracterização das sete cultivares tivesse sido feita com base em experimento semelhante ao 2, mas utilizando somente a população Pb₂₀. Seis delas, tendo valores de FR menores que 1, seriam consideradas altamente resistentes a *P. brachyurus*, conclusão provavelmente incorreta, levando-se em conta os demais resultados obtidos.

Em relação à caracterização das cultivares de caupi a *P. brachyurus*, os resultados demonstraram que elas diferem pouco entre si nesse particular. As cultivares com resistência a *P. brachyurus* apresentaram essa característica em grau reduzido. No experimento 1, foi possível a separação das cultivares em pelo menos dois grupos distintos com base na variável FR. O primeiro, formado por BRS Rouxinol, Fradinho, BRS Marataoã e EPACE 10, nas quais *P. brachyurus* se multiplicou mais intensamente em relação ao grupo formado por IPA-205 e Setentão. A cultivar BR 17-Gurguéia teve reação intermediária em relação aos dois grupos (Tabela 3.1). Com base nos valores de Nem./g, as cultivares formaram pelo menos três grupos contrastantes, assim hierarquizados: BRS Rouxinol > EPACE 10, IPA-205 > Setentão. As cultivares Fradinho e BRS Marataoã foram intermediárias entre os dois primeiros grupos e BR 17-Gurguéia entre os dois últimos.

No experimento 2, com base na variável FR, as cultivares foram assim hierarquizadas: BR 17-Gurguéia > BRS Marataoã, EPACE 10, IPA-205, Setentão. As cultivares Fradinho e BRS Rouxinol apresentaram comportamento intermediário entre os dois grupos (Tabela 3.2). Porém, utilizando a variável Nem./g, obteve-se a seguinte ordenação: BR 17-Gurguéia > IPA-205 > EPACE 10. Fradinho não se diferenciou de BR 17-Gurguéia e IPA-205; BRS Rouxinol, Setentão e BRS Marataoã não se diferenciaram de IPA-205 e EPACE 10.

Confrontando-se todos os resultados obtidos, conclui-se que a cultivar Setentão é, dentre as sete testadas, a mais resistente a *P. brachyurus*, pois apresentou os menores valores de FR e Nem./g em ambos os experimentos. A cultivar IPA-205 ficou próxima de Setentão, mas apresentou maior Nem./g no experimento 1, portanto foi considerada menos resistente que Setentão. A resposta das demais cultivares foi variável, mas com valores de FR e Nem./g geralmente maiores que os de Setentão e IPA-205. Portanto, BR 17-Gurguéia, BRS Rouxinol, BRS Marataoã, Fradinho e EPACE 10 podem ser consideradas suscetíveis ou pouco resistentes a *P. brachyurus*.

A pequena diferença nas reações das sete cultivares testadas a *P. brachyurus* pode estar ligada à grande similaridade genética nos materiais comerciais de caupi. Segundo Xavier et al. (2005), em 45 acessos de caupi provenientes da Nigéria, EUA e Brasil, verificou-se similaridade genética acima de 80%, valor considerado elevado. Montalván et al. (2006), depois de estudar o parentesco entre 41 cultivares brasileiras lançadas entre os anos de 1969 a 2005, determinaram que esse germoplasma provém de 35 ancestrais, cada um deles com contribuições variando entre 0,29 e 15,09%. Porém, a maior parte das contribuições (51%) é atribuída a somente sete ancestrais (TVu1190, Pitiúba, Bengala, Quebra-cadeira, CNCO434, TVu59 e TVu410); portanto, a base genética dos materiais comerciais de caupi no Brasil, independente da região geográfica de seleção dos genótipos ou local de cultivo, é muita próxima, podendo até mesmo ser considerada estreita. Mesmo considerando o germoplasma de outros países, tal similaridade parece ser regra e pode ser decorrente do extenso processo de domesticação da cultura e da fixação de características de fácil detecção no melhoramento genético, como a cor e tamanho da semente, porte da planta e tipo de vagem (VAILLANCOURT et al., 1993).

3.3 Conclusões

O nematóide *P. brachyurus* apresenta populações com diferentes graus de agressividade ao caupi, informação que deve ser levada em conta em trabalhos de melhoramento genético da cultura visando à resistência a *P. brachyurus*. As principais cultivares de caupi apresentam baixos níveis de resistência a *P. brachyurus*. Portanto, a resistência genética deve ser considerada técnica pouco promissora, em curto prazo, para o manejo desse nematóide na cultura. Materiais com níveis mais elevados de resistência a *P. brachyurus* provavelmente serão obtidos somente à custa da ampliação da base genética utilizada nos programas de melhoramento do caupi.

Referências

- ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA, EMBRAPA, 1988. 722 p.
- BENEVENUTTI, V. Gestão governamental de apoio à produção de feijão: o caso de Pernambuco (1991-1994). Dissertação (Mestrado em Administração e Comunicação Rural) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1996.
- BOERMA, H.R.; HUSSEY, R.S. Breeding plants for resistance to nematodes. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 24, p. 242-252, 1992.

- CAFÉ FILHO, A.C.; HUANG, C.S. Nematóides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 13, p. 232-235, 1988.
- CARDOSO, M.J. A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. 264p.
- COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent, Belgian: State of Nematology and Entomology research Station, 1972, 77p.
- FERRAZ, S. Reconhecimento das espécies de fitonematóides presentes no solo do Estado de Minas Gerais. **Experientiae**, Viçosa, v. 26, p. 255-328, 1980.
- FERY, R.L.; DUKES, P.D. Inheritance of root-knot resistance in the cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Scottsdale, v. 105, p. 671-674, 1980.
- FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; SANTOS, A.A. Cultivares de caupi para a região Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M.J. (Ed). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: EMBRAPA MEIO-NORTE, 2000. p.67-88.
- FROTA, A.B.; PEREIRA, P. Caracterização da produção do caupi na Região meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M.J. (Ed). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. p. 28-40.
- GALLAHER, R.N.; McSORLEY, R. Population densities of *Meloidogyne incognita* and other nematodes following seven cultivars of cowpea. **Nematropica**, Flórida, v. 23, p. 21-26, 1993.
- GODFREY, G.H. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus*, n.sp. **Phytopathology**, Lancaster, v. 7, p. 611-630, 1929.
- HANDOO, Z.A.; GOLDEN, A.M. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (lesion nematodes). **Journal of Nematology**, Riverside, v. 21, p. 202-218, 1989.
- HOOPER, D.J. Extraction of free-living stages from soil. In: SOUTHEY, J.F. (Ed.) **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**, 6th ed. London: Her Majesty's Stationery Office, 1986, p.5-30.
- HUSSEY, R.S; BOERMA, H.R. Greenhouse procedures for screening for root-knot nematode resistance in soybeans. **Crop Science**, Madison, v. 21, p.794-796, 1981.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separation nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, p. 692, 1964.

KHAN, T.A.; HUSAIN, S.I Response of cowpea cultivars to *Rotylenchulus reniformis*. **Nematropica**, Flórida, v. 18, p. 159-162, 1988.

KIRKPATRICK, T.L.; MORELOCK, T.E. Response of cowpea breeding lines and cultivars to *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. **Annals of Applied Nematology**, Lawrence, v. 1, p. 46-49, 1987.

MACHADO, A.C.Z.; BELUTI, D.B.; SILVA, R.A.; SERRANO, M.A.S.; INOMOTO, M.M. Avaliação de danos causados por *Pratylenchus brachyurus* em algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 31, p. 11-16, 2006.

McSORLEY, R.; GALLAHER, R.N. Comparison of nematode population densities on six summer crops at seven sites in North Florida. **Supplement to Journal of Nematology**, Riverside, v. 24, p.699-706, 1992.

MONTALVÁN, R., MAIA, J.P.; MACIEL, S.V.P.A.; RAMOS, S.R.R.; FREIRE FILHO, F.R. Base genética das cultivares brasileiras de feijão caupi. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO CAUPI, 1; REUNIÃO NACIONAL DE FEIJÃO CAUPI, 6, 2006. Teresina. Tecnologia para o agronegócios: **Anais...** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2006. 1. CD-ROM (Embrapa Meio-Norte. Documento, 121).

MOURA, R.M. Comportamento de cultivares de feijão-de-corda em relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 10, p. 10-11, 1986.

PONTE, J.J. Os nematóides do caupi e sua importância. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.11, p. 36-40, 1987.

PONTE, J.J., CARVALHO, V.N.R., CIRINO, A. Ensaio de produção envolvendo duas novas variedades de caupi resistente à meloidoginose e outras doenças. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 9, p. 107-111, 1985.

RIEDEL, R.M.; FOSTER, J.G.; MAI, W.F. A simplified medium for monoxenic culture of *Pratylenchus penetrans* and *Ditylenchus dipsaci*. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 5, p. 71-72, 1973.

ROBERTS, P.A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J.L.; COOK, R.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant resistance to parasitic nematodes**. London: CABI Publishing, 2002, p. 23-42.

SASSER, J.N. **Plant-Parasitic Nematodes: the farmer`s hidden enemy**. Raleigh: University Graphics, 1989. 115 p.

SHARMA, R.D.; EKHARDT, R. Incidência de nematóides fitoparasitas no Estado do Amazonas, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 4, p. 151, 1979.

SILVA, G.S. Ocorrência e controle de fitonematóides no feijão caupi no Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M.J. (Ed.). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 2000. p. 229-236.

SIQUEIRA, K.M.S.; INOMOTO, M.M. Efeito de *Pratylenchus brachyurus* no crescimento de feijão-de-corda cultivar IPA-206. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 29, p. 46, 2004.

TRUDGILL, D.L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 167-192, 1991.

VAILLANCOURT, R.E.; WEEDEN, N.F.; BARNARD, J. Isozyme diversity in the cowpea species complex. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 606-613, 1993.

XAVIER, G.R.; MARTINS, L.M.V.; RUMJANEK, N.G.; FREIRE FILHO, F.R. Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 353-359, 2005.

4 VARIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE POPULAÇÕES DE *Pratylenchus brachyurus*

Resumo

Visando caracterizar populações do nematóide quanto às características morfológicas e morfométricas e verificar a existência de variações entre as populações foram empregadas técnicas de microscopia eletrônica de varredura e óptica. Foram utilizadas 10 fêmeas das populações Pb₂₀, Pb₂₁ e Pb₂₃ cujas reações de agressividade previamente estabelecidas em relação ao caupi são Pb₂₁=Pb₂₃>Pb₂₀ e Pb₂₂ e Pb₂₄ que até o momento não foram caracterizadas. Os resultados demonstraram que as características externas do corpo dos nematóides das distintas populações analisadas por meio de estudos morfológicos foram insuficientes para a separação inter-populacional de *P. brachyurus*. Características morfológicas qualitativas observadas no microscópio óptico também não apresentaram valor diagnóstico nesse nível. Na segunda etapa das observações ao microscópio óptico, foram avaliados os efeitos dos métodos formol e formol-glicerina sobre as características morfométricas chaves na taxonomia das mesmas populações. Observou-se que a maioria das características foram afetadas em diferentes intensidades por ambos os métodos. Análises de PCA baseadas em nove características (L, St, Pub, a, b, b', c, c' e V%) demonstraram que nesse tipo de estudo conclusões errôneas sobre a existência/ausência de variações entre as populações podem ser tomadas influenciadas pela comparação de populações fixadas e processadas por diferentes métodos. Na terceira etapa foram caracterizadas 15 populações: 11 coletadas de diferentes hospedeiros e localidades e 4 obtidas da literatura, todas fixadas e processadas pelo método do formol-glicerina. A análise de PCA baseada em seis características (L, St, a, b, c e V%) evidenciou a variação morfométrica entre as 15 populações de *P. brachyurus*, por meio da formação de cinco grupos distintos e, além disso, possibilitou a separação inter-populacional de *P. brachyurus*.

Palavras-chaves: Variação inter-populacional; Nematóide das lesões; Fixação de nematóides; Análise multivariada; Caracterização populacional

Abstract

The aim of this study was to establish if morphological features that can be used to characterize populations of *Pratylenchus brachyurus* and how it can be relate with pathogenicity in cowpea. Ten females obtained from Pb₂₀, Pb₂₁, and Pb₂₃ populations previously characterized base on their aggressiveness as Pb₂₁=Pb₂₃>Pb₂₀, and from Pb₂₂ and Pb₂₄, yet not characterized were used for this purpose. Electronic and light microscope observations failed to separate among populations using only external morphological features. The effect of formalin or formalin-glycerin as fixation methods on key morphometrical variables assessed with light microscopy and analyzed with the display of the first and two principal components (PC) obtained with nine variables (L, St, Pub, a, b, b', c, c' e V%) demonstrated that nematode fixation method may influence results. PC multivariate analysis of six variables (L, St, a, b, c e V%) measured on *P. brachyurus* individuals fixed with formalin-glycerin and obtained from 15 isolations: 11 collected from different hosts and localities of Brazil and 4 obtained from the literature, effectively generate five groups which in general correspond to different

aggressiveness levels on cowpea. These results suggest that proper morphometric studies can assist to relate with the pathogenic activity of *P. brachyurus* in cowpea.

Key-words: Inter-populational variation; Lesion nematode; Nematode fixation; Multivariate analyses; Populational characterization

4.1 Introdução

Com base nos resultados dos Capítulos 2 e 3, pode-se afirmar que *Pratylenchus brachyurus* apresenta significativa variação biológica em termos de agressividade ao caupi, característica que precisa ser levada em conta em trabalhos experimentais visando à seleção de genótipos resistentes. A seleção com base em populações de *P. brachyurus* com baixa agressividade pode permitir que genótipos com níveis excessivamente baixos de resistência sejam lançados no mercado. Sendo usados em áreas infestadas com *P. brachyurus*, tais genótipos muitas vezes apresentarão desempenho deficiente, na dependência do grau de agressividade da população do nematóide prevalente na área. Na situação inversa, materiais preciosos poderão ser descartados por terem sido confrontados com populações muito agressivas, talvez pouco representativos da espécie como um todo. Portanto, a seleção deve partir de número mínimo de isolados de *P. brachyurus*, na tentativa de abarcar parte da diversidade da espécie. O uso de três populações de origens diversas se mostrou válida nos Capítulos 2 e 3, mas implica a disponibilidade de materiais biológicos com origem definida, mantidos isolados em laboratório ou casa de vegetação por vários anos, tantos quantos durar o programa de melhoramento. Tais procedimentos apresentam custo material e de tempo elevados, mas são necessidades que não podem ser desprezadas. Por outro lado, existe a possibilidade de essas populações serem muito semelhantes e não apresentarem a diversidade desejada. Nesse sentido, a identificação de características morfológicas ou morfométricas que permitam a separação das populações de *P. brachyurus* com diferentes agressividades seria extremamente valiosa, pois possibilitaria a seleção de populações de *P. brachyurus* de interesse logo após sua coleta.

Com base no quadro apresentado, o presente trabalho teve como objetivo verificar a existência de variações morfológicas e morfométricas entre populações de *P. brachyurus* coletadas de diferentes regiões geográficas e plantas hospedeiras. Baseando-se em técnicas de microscopia eletrônica de varredura e óptica.

4.2 Desenvolvimento

4.2.1 Revisão bibliográfica

Existem atualmente 64 espécies pertencentes ao gênero *Pratylenchus* Filipjev. Este gênero possui características morfométricas específicas que permitem sua diferenciação de outros gêneros (FERRAZ, 1999). No entanto, a identificação específica em *Pratylenchus* é tarefa difícil, pelo pequeno número de características-chave no diagnóstico das espécies e pela elevada variação intra-populacional (CORBETT; CLARK, 1983). Diferenças morfométricas entre populações da mesma espécie ou entre indivíduos dentro da população têm sido reportadas para algumas espécies do gênero, como *P. penetrans* (TARTÉ; MAI, 1976), *P. vulnus* (DOUCET et al., 2001; LAX, et al., 2004) e *P. brachyurus* (OLOWE; CORBETT, 1984a e b). Elas podem ser reflexos de variações naturais, resultantes da adaptação às condições ambientes e manutenção da heterogeneidade dos indivíduos, garantindo assim a sobrevivência da espécie (OLOWE; CORBETT, 1984a e b).

Especificamente para *P. brachyurus*, existem poucas informações sobre variações nas características morfométricas e morfológicas entre e dentro das populações, e dessas nenhuma suficientemente expressiva para separá-las de forma distinta ou mesmo agrupá-las com base nessas diferenças. A espécie foi originalmente descrita no Havaí como *Tylenchus brachyurus* por Godfrey (1929), como parasito e causador de importante doença em raízes de abacaxi e caupi, e caracterizada com base em características das fêmeas adultas. As diferenças morfológicas ou morfométricas relatadas desde então para *P. brachyurus* têm sido atribuídas em grande parte ao efeito do ambiente, como as observadas entre as descendências provenientes do mesmo isolado ou população, mas mantidas em diferentes plantas hospedeiras, e principalmente entre populações procedentes de diferentes partes do mundo (OLOWE; CORBETT, 1984a e b). De acordo com Fortuner e Quénehervé (1980), populações obtidas de diferentes plantas hospedeiras ou diferentes cultivares de uma mesma espécie vegetal podem apresentar diferenças significativas nas características morfométricas de valor taxonômico.

Tarté e Mai (1976), após examinarem espécimes de *P. penetrans*, afirmaram que mudanças ocorridas durante o desenvolvimento do nematóide podem causar variações nos caracteres morfológicos. A indução de variação tem sido atribuída também à densidade populacional, ao método de preparação dos nematóides para observações microscópicas, aos

fatores do ambiente, às espécies de plantas hospedeiras e, em particular, à fisiologia das plantas. Diferenças relacionadas com a localização geográfica das populações têm sido sugeridas em alguns casos. Observações realizadas por Doucet et al. (2001) relatam que a temperatura influencia diretamente as mensurações em um mesmo isolado de *P. vulnus*.

Boas características taxonômicas apresentam baixos índices de variação dentro da espécie e altos entre as espécies do gênero. As características que melhor refletem as diferenças intrínsecas das espécies de *Pratylenchus* são comprimento do estilete e percentagem da vulva em relação ao comprimento do corpo (TARTÉ; MAI, 1976; TARJAN; FREDERICK, 1978), pois, quando comparadas às demais características, apresentam baixo coeficiente de variação, associada com baixa variação intraespecífica. Por outro lado, se aceita que valores proporcionais, também chamados índices, são melhores indicadores de diagnóstico em relação às medidas separadas. Os índices comumente presentes nas chaves taxonômicas foram formulados por De Man (1880), quando pela primeira vez se dividiu o comprimento do corpo pelo diâmetro do corpo, comprimento do esôfago e comprimento da cauda, e têm sido empregados de forma centenária como índices demanianos ou fórmulas de De Man. Adicionalmente Cobb (1913) acrescentou aos índices demanianos originais o índice V%, para expressar de forma proporcional a distância entre a extremidade anterior e a vulva.

Subseqüentemente, *P. brachyurus* foi objeto de estudos utilizando a técnica da microscopia eletrônica de varredura por Corbertt e Clark (1983) e Baujard, Mounport e Martiny (1990), que proveram pormenores da estrutura externa que freqüentemente são difíceis de serem observados ao microscópio óptico.

Voltando à questão da variação inter-populacional, existe a possibilidade de que parte delas seja causada por erros ocorridos na preparação dos exemplares, que incluem as etapas de extração, fixação, montagem e medição (BROWN; TOPHAM, 1984). De acordo com estudos realizados por Lamberti e Sher (1968) e Grewal, Richardson e Wright (1990), as substâncias utilizadas na fixação podem promover redução significativa em características morfométricas, particularmente o comprimento do corpo, a distância da ponta da cauda à vulva e o diâmetro do corpo ao nível do ânus.

4.2.2 Material e Métodos

4.2.2.1 Observação de cinco populações de *Pratylenchus brachyurus* por meio de microscopia eletrônica de varredura

As populações estudadas, Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄, foram provenientes de diferentes áreas de plantio e culturas hospedeiras, mas cultivadas em condições de laboratório ou casa de vegetação (quiabeiro alternado com sorgo, milho, soja e caupi) por 3 a 9 anos (Tabela 4.1). Os espécimes utilizados no presente estudo foram recuperados de raízes de quiabeiro pelo método do funil de Baermann modificado para recipiente raso (HOOPER, 1986). Na continuação, as suspensões foram armazenadas em recipientes de vidro com tampas.

Tabela 4.1 – Sigla das populações de *Pratylenchus brachyurus*, origem geográfica das amostras e plantas hospedeiras originais

População	Origem geográfica	Plantas hospedeiras	Tempo de isolamento
Pb ₂₀	Seropédica – RJ	Quiabeiro ¹	9 anos – desde 1997 (4 em calos de alfafa e 5 em casa de vegetação)
Pb ₂₁	Serra do Ramalho – BA	Algodão ²	4 anos – desde 2002
Pb ₂₂	Campo Verde – MT	Algodão	3 anos – desde 2003
Pb ₂₃	Sapezal – MT	Algodão	3 anos – desde 2003
Pb ₂₄	Itiquira – MT	Algodão	3 anos – desde 2003

¹*Abelmoschus esculentus* Moench, ²*Gossypium hirsutum* L.

Em seguida as fêmeas adultas vivas das diferentes populações foram transferidas uma a uma dos recipientes originais para outro menor, com tampa, preenchido em 1/2 do seu volume com água filtrada. Após a transferência de aproximadamente 50 fêmeas, procedeu-se o fechamento e a agitação mecânica, para eliminar materiais biológicos que possivelmente pudessem estar aderidos à superfície do nematóide.

Na continuação, realizou-se procedimento similar ao anterior, diferenciado apenas pela quantidade de água filtrada (20 gotas). Os recipientes foram submetidos à temperatura de 4 °C por 30 minutos, para imobilização temporária dos nematóides. Decorrido esse período, os recipientes foram

preenchidos com solução fixadora de glutaraldeído a 3% em tampão gelado de fosfato de sódio 0,1M e pH 7,2, fechados e mantidos em geladeira por uma semana.

As fêmeas desidratadas foram transferidas para cápsulas “BEEM” de polietileno adaptadas, segundo metodologia descrita por Eisenback (1985). As cápsulas foram acondicionadas em vidro de relógio com uma extremidade aberta, para lavagem com solução de tampão pura, em intervalos de 15 minutos por cinco vezes consecutivas. Em seguida, foram levadas para câmara de exaustão de gases, onde foram adicionadas gotas de tetróxido de ósmio a 2% no interior das cápsulas por três vezes consecutivas. A lavagem final foi feita pela remoção do tetróxido de ósmio e adição de tampão puro em intervalos de 10 minutos por quatro vezes.

O processo de desidratação foi realizado com uma série gradual de álcool a 30, 50, 70, 80, 90, 95 e 100% de pureza. As cápsulas, ainda abertas, foram acondicionadas em câmara de vidro [placa de petri + vidro de relógio + solução gelada (5 °C)], sempre mantidas no interior de um ambiente refrigerado, para manutenção da temperatura da solução. Gotas da solução de álcool foram adicionadas dentro das cápsulas, permanecendo em contato com os nematóides por 20 minutos. O álcool a 100% foi utilizado por duas vezes: a primeira com o conjunto e a solução gelada, mantidos fora da geladeira, e a segunda em temperatura ambiente. As cápsulas foram fechadas e mergulhadas em solução de álcool a 100% e seguiram rapidamente para o secador de ponto crítico com CO₂. Após a secagem, foram armazenadas em recipiente hermeticamente fechado, contendo sílica gel.

A montagem dos nematóides foi realizada sobre um “stub” contendo fita adesiva de carbono e um fio de cabelo e/ou cobre, como suporte para se obter um ângulo de inclinação. Na sequência, foi feita a metalização com 35 nm de ouro, sendo realizadas, então, as observações ao microscópio eletrônico de varredura.

4.2.2.2 Observação de populações de *Pratylenchus brachyurus* por meio da microscopia óptica

Comparação entre dois métodos de fixação dos nematóides e montagem das lâminas nas características morfométricas de cinco populações de *Pratylenchus brachyurus*

Neste estudo, foram analisadas mais uma vez as populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄. Os nematóides foram recuperados das amostras de solo pelo método da flutuação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964) e das raízes pelo método do funil de Baermann modificado para recipiente raso (HOOPER, 1986). Na continuação, as suspensões foram armazenadas em recipientes de vidro com tampas.

Os nematóides contidos nas suspensões foram mortos por meio do aquecimento dos recipientes em banho-maria a 55 °C, com adição, em seguida, de 1 ml de formaldeído a 37% (massa/volume) em todas as amostras. A partir desse ponto, foram usados os meios formaldeído a 3,7% (F = tratamento 1; 10 ml de formaldeído a 37% + 90 ml de água destilada) e de Golden (G = tratamento 2; oito partes de glicerina P.A., 30 partes de solução de formaldeído a 37% P.A. e 350 partes de água destilada), conhecido também por formol-glicerina. Após a adição dos meios, apenas os recipientes contendo o meio de Golden foram deixados em estufa a 42 °C com frascos semi-abertos, visando à evaporação lenta do líquido, para infiltração em glicerina (SOUTHEY, 1986). Para montagem das lâminas, fêmeas adultas foram transferidas, uma de cada vez, das suspensões previamente obtidas, para lâmina de vidro contendo uma gota de formaldeído a 3,7% (tratamento 1) ou glicerina P.A. desidratada (tratamento 2).

Foram examinadas as características morfológicas e morfométricas de 10 fêmeas adultas. As mensurações foram realizadas nos aumentos de 125x (câmara clara) ou 1.250x (ocular micrométrica). As variáveis morfométricas obtidas estão listadas na Tabela 4.2 e representadas na Figura 4.1.

Com base nos resultados das mensurações anteriores, calcularam-se os índices de De Man: V% (relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea); a (relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo); b (relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino); b' (relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e o final do esôfago); c (relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda) e c' (relação entre comprimento da cauda e diâmetro da cauda na altura do ânus).

Tabela 4.2 – Características morfométricas mensuradas em fêmeas adultas das populações de *Pratylenchus brachyurus*

Características morfométricas	Sigla
Comprimento do corpo	L
Maior diâmetro do corpo	ϕ c
Diâmetro do corpo ao nível da vulva	ϕ v
Diâmetro do corpo ao nível do ânus	ϕ a
Distância da extremidade anterior do corpo à junção esôfago-intestino	Po
Distância da vulva até a cauda	V
Comprimento do estilete	St
Diâmetro dos bulbos do estilete	ϕ bst
Altura dos bulbos do estilete	Abst
Distância entre a abertura da glândula esofagiana dorsal e a base do estilete	Dgo
Comprimento do esôfago	F
Distância entre a vulva e a cauda	v-a
Comprimento da cauda	T
Comprimento do saco pós-uterino	Pub

Figura 4.1 - Representação gráfica de uma fêmea adulta de *Pratylenchus brachyurus* e das principais variáveis morfológicas (adaptada de CORBETT, 1976). L-comprimento do corpo, ϕ c-maior diâmetro do corpo, ϕ v-diâmetro do corpo ao nível da vulva, ϕ a-diâmetro do corpo ao nível do ânus, Po-distância da extremidade anterior do corpo à junção esôfago-intestino, V-distância da vulva até a cauda, St-comprimento do estilete, Pub-comprimento do saco pós-uterino, ϕ bst-diâmetro dos bulbos do estilete, Abst-altura dos bulbos do estilete, Dgo-distância entre a abertura da glândula esofagiana dorsal e a base do estilete, F-Comprimento do esôfago, T-comprimento da cauda, Pub-Comprimento do saco pós-uterino

Comparação entre populações de *Pratylenchus brachyurus* fixadas em meio de formol-glicerina

Tendo em vista os resultados obtidos no item anterior e a predominância, na literatura nematológica, de mensurações feitas a partir de espécimes de *P. brachyurus* fixados em meio de formol-glicerina, o presente estudo comparativo foi feito utilizando esse meio fixador. Foram utilizadas as populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄, previamente estudadas no item anterior, e outras seis populações de *P. brachyurus* (Pb₂₆, Pb₄₂, Pb₄₃, Pb₄₅, Pb₄₆ e Pb₄₈) provenientes de diferentes regiões geográficas, vegetações e climas, coletadas em condições de campo e/ou casa

de vegetação (Tabela 4.3 e Figura 4.2). Os nematóides foram recuperados das amostras de solo pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964) e das raízes pelo método do funil de Baermann modificado para recipiente raso (HOOPER, 1986).

Tabela 4.3 – Sigla das populações de *Pratylenchus brachyurus*, origem geográfica das amostras e plantas hospedeiras originais

População	Origem geográfica	Plantas hospedeiras
Pb ₂₀	Seropédica – RJ	Quiabeiro ¹
Pb ₂₁	Serra do Ramalho – BA	Algodão ²
Pb ₂₂	Campo Verde – MT	Algodão
Pb ₂₃	Sapezal – MT	Algodão
Pb ₂₄	Itiquira – MT	Algodão
Pb ₂₆	Dom Aquino – MT	Algodão
Pb ₄₂	Correntina – BA	Soja ³ cv. Virapuru
Pb ₄₃	Correntina – BA	Corda-de-viola ⁴ e capim braquiária ⁵
Pb ₄₅	Barreiras – BA	Soja
Pb ₄₆	Barreiras – BA	Algodão
Pb ₄₈	Ribas do Rio Pardo – MS	Algodão

¹*Abelmoschus esculentus*, ²*Gossypium hirsutum*, ³*Glycine max* (L.) Merril., ⁴*Ipomea violacea*, ⁵*Brachiaria* sp.

Figura 4.2 – Local de coleta das amostras de solo e raízes (n = 11) contendo as populações de *Pratylenchus brachyurus*

Os recipientes contendo as suspensão de nematóides foram aquecidos a 55 °C, com o objetivo de matar os nematóides pela ação do calor. Em seguida, os nematóides foram fixados pela adição de formaldeído a 37% na quantidade necessária para a concentração do fixador na suspensão atingir 2%. Os nematóides foram transferidos individualmente para outro recipiente contendo meio de Golden e deixados em estufa a 42 °C, com frascos semi-abertos, visando a evaporação lenta do líquido, para infiltração em glicerina (SOUTHEY, 1986). No final do processo, quando restaram apenas as fêmeas e a glicerina, preparações microscópicas foram feitas em lâminas de vidro com uma gota de glicerina P.A. desidratada.

As variáveis morfométricas discriminadas na Tabela 4.2 e os índices de De Man (V%, a, b, b', c e c') foram obtidos de 10 fêmeas adultas, com exceção da população Pb₄₅, para a qual se

utilizou somente um espécime. As mensurações foram realizadas com aumento de 125x (câmara clara) e 1.250x. As variáveis obtidas foram comparadas com as disponíveis em trabalhos científicos que especificavam claramente, na metodologia, o método de fixação e montagem das lâminas, que devia ser semelhante ao empregado nesse estudo. Na Tabela 4.4 encontram-se discriminadas a origem geográfica das populações, plantas hospedeiras e as referências bibliográficas relativas a cada população. A Tabela 4.5 mostra os valores das características morfométricas mensuradas e índices de De Man calculados pelos diferentes autores.

Por ocasião dos trabalhos de mensuração dos espécimes, características morfológicas qualitativas foram registradas por meio de fotomicrografias obtidas por câmara digital acoplada na ocular do microscópio óptico.

Tabela 4.4 – Populações de *Pratylenchus brachyurus* provenientes da literatura que empregaram o método de formol-glicerina para montagem das lâminas, incluídas no presente estudo

Sigla	Origem geográfica	Hospedeiras	Referências
*Tipo	Havaí	Abacaxi ¹ , caupi ² , soja	GODFREY, G.H. 1929
**BoM	Bolívia	Calos de milho ³	OLWE; CORBETT, 1984a
***BoL	Bolívia	Leucena ⁴ /meio de cultivo	OLWE; CORBETT, 1984a
Br	Brasil	Amostra mista	CAFÉ FILHO; HUANG, 1988

¹*Ananas comosus* (L.) Merril., ²*Vigna unguiculata* [L.] Walp., ³*Zea mays* L., ⁴*Leucaena leucocephala* (Lam.) R. de Wit. *Descrição original de *Pratylenchus brachyurus* Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 (= *Tylenchus brachyurus* Godfrey, 1929); **BoM, ***BoL são populações obtidas de mesma progênie, diferenciadas pela planta hospedeira em se desenvolveram

Tabela 4.5 - Dados morfométricos de populações de *Pratylenchus brachyurus* obtidos em trabalhos científicos. As mensurações estão representadas pelas médias

Características morfométricas	Populações referenciais			
	Tipo	BoM	BoL	Br
L	567	513	588	532
ϕ c	..	21,4	..	..
St	18,57	18,5	18,7	19,2
T	22,11	28	26	..
a	24,39	24,1	25,9	30,3
b	6,66	7,2	6,9	5,9
b`	..	4,1	4,3	..
c	25,64	18,2	17	17,5
c`	1,62	..	..	..
V%	86	85	71	85,2

Tipo (GODFREY, G.H. 1929), BoM (OLWE; CORBETT, 1984a), BoL (OLWE; CORBETT, 1984a), e Br (CAFÉ FILHO; HUANG, 1988)

Análise estatística

Análises multivariadas foram realizadas para as variáveis morfométricas, com base nas análises de componentes principais (PCA) (Community Analysis Package, PISCES Conservation Ltd, Lymington, UK), utilizando a estrutura da matriz de correlação e um gráfico. A PCA permite reunir os espécimes ou populações em grupos, de tal forma a existir máxima homogeneidade dentro deles e máxima heterogeneidade entre eles. Para esse propósito foram utilizadas o maior número possível de variáveis. Na avaliação da PCA devem ser levados em consideração a distância a partir do centro dos eixos, por representar o peso da variável dentro do conjunto, sendo consideradas distâncias menores variáveis de menor peso. Além disso, as direções dos vetores indicam o sentido da relação que poderá ser positiva ou negativa, bem como o ângulo formado entre os vetores que representam o grau da correlação que poderá ser alta em ângulos de/ou próximos de 180 °C (correlação negativa) ou positiva (muito menores que 180 °C) entre as variáveis (MORA-AGUILERA; CAMPBELL, 1996). As análises foram realizadas, na primeira

etapa, em caráter exploratório, com 20 variáveis, segundo a metodologia de Mora-Aguilera e Campbell (1996). A redução das variáveis ocorreu em etapas sucessivas e a nova matriz de dados obtida na segunda etapa esteve integrada, para a comparação dos métodos de fixação e montagem, por nove variáveis (L, St, Pub, a, b, b', c, c' e V%) e, para a comparação das populações, por 6 variáveis (L, St, a, b, c e V%). Cabe mencionar que a análise exploratória foi baseada em critérios biológicos, o que possibilitou eliminar medições consideradas redundantes.

4.2.3 Resultados e discussões

Observação de cinco populações de *Pratylenchus brachyurus* por meio de microscopia eletrônica de varredura

De acordo com Loof (1978) o número de anéis labiais, a estrutura do corpo lateral e o tamanho da espermateca são características confiáveis na identificação das espécies. As duas primeiras características podem ser examinadas com mais facilidade por meio de microscopia eletrônica de varredura do que por microscopia óptica. Os espécimes examinados das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ apresentaram os dois anéis característicos da espécie, o último deles separado do resto do corpo por profunda incisura transversal, formando nítida constrição (Figuras 4.3 e 4.4). O número de anéis da região labial varia entre as espécies (2, 3 ou 4) e mesmo dentro da mesma espécie (CORBETT; CLARK, 1983). Variações desse tipo são encontradas em muitas espécies estudadas, mas a variabilidade não foi tão extensa que inviabilizasse o uso dessa característica para distinção das espécies. Contudo, faz-se necessário observar mais de um espécime de uma população para identificação da espécie.

Figura 4.3 - Fotomicrografia de *Pratylenchus brachyurus* em microscópio eletrônico de varredura de fêmeas adultas. Região labial. Barras correspondem a 1 μ m (Figuras A e C) e 2 μ m (Figuras B e D). A-Pb₂₂; B-Pb₂₃; C-Pb₂₀ e D-Pb₂₁

A extremidade anterior de *P. brachyurus*, ou região labial, é formada pelo disco oral e pelos dois anéis labiais, protegida internamente por uma estrutura esclerosada chamada armadura cefálica. Nesta espécie, o disco labial é fundido com o primeiro anel labial, formando estrutura que, vista “en face”, se mostra indivisa (CORBETT; CLARK, 1983). Os espécimes examinados das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ apresentaram sem exceção essa característica, com nenhum sinal de divisão da região apical (“en face”) em setores (Figuras 4.3 e 4.4), exibindo, quando muito, as projeções dos lóbulos das papilas labiais (Figura 4.3). Portanto, o uso do microscópio eletrônico de varredura para o exame dos anéis da região labial e da forma da região apical é ferramenta importante na identificação específica de *P. brachyurus*, mas não revelou nenhuma diferença importante entre os espécimes das populações estudadas neste trabalho.

Figura 4.4 – Fotomicrografia de *Pratylenchus brachyurus* em microscópio eletrônico de varredura de fêmeas adultas. Região labial e início do campo lateral. Barras correspondem a 10 μm (Figuras A, C e D) e 2 μm (Figura B). A-Pb₂₂, B-Pb₂₃, C-Pb₂₁ e D-Pb₂₀

A estrutura do campo lateral é visualizada com grande dificuldade ao microscópio óptico, mas pode ser observada em pormenores ao microscópio eletrônico de varredura (CORBETT; CLARK, 1983). O início do campo lateral variou entre o sétimo e o nono anel do corpo e, na maior parte de sua extensão, foi constituído por quatro linhas ou incisuras, resultando na formação de três bandas (Figura 4.4). O campo lateral se estende por todo o corpo ou pode terminar no antepenúltimo anel do corpo (Figuras 4.5 e 4.6). As bandas externas mostraram-se areoladas em todos os indivíduos, o que é característico não somente da espécie, mas de todo o gênero *Pratylenchus*. Alguns espécimes apresentaram areolação na banda interna do campo lateral, outros não, independentemente da população estudada (Figuras 4.4 e 4.5). Portanto, as

observações feitas ao microscópio de varredura revelaram o campo lateral com as características apontadas como usuais em *P. brachyurus* (CORBETT; CLARK, 1983), não se notando diferenças entre as populações estudadas (Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄).

Três tipos básicos de término caudal foram identificados: cônico-truncado (Figura 4.5 D e H; Figura 4.6 H), cônico-arredondado (Figura 4.5 F e I) e ligeiramente arredondado (Figura 4.5 E; Figura 4.6 C). Variações no formato do término caudal foram observadas no próprio trabalho de descrição da espécie, ainda como *Tylenchus brachyurus*, nele, Godfrey (1929) verificou a existência de cinco tipos de formato de caudas em oito fêmeas examinadas. Tal observação foi posteriormente confirmada por Róman e Hirschmann (1969) e Tarjan e Frederick (1978), que afirmaram que o formato do término caudal pode variar entre diferentes populações e mesmo dentro de uma única população. Porém, diferentemente do presente relato, foram observações feitas por meio de microscopia óptica.

Figura 4.5 - Fotomicrografia de *Pratylenchus brachyurus* em microscópio eletrônico de varredura de fêmeas adultas. Pormenores da região da cauda (T), variação da porção terminal da cauda e da vulva. Barra corresponde a 10 μm. Figuras: A-Pb₂₀; B, C e I-Pb₂₃; D, E e H-Pb₂₂; F-Pb₂₁; G-Pb₂₄

Figura 4.6 - Fotomicrografia de *Pratylenchus brachyurus* em microscópio eletrônico de varredura de fêmeas adultas. Pormenores da estrutura do campo lateral, da vulva e do término da cauda. Barras correspondem a 2 µm (Figuras A, D e G) e 10 µm (Figuras B, C, E, F, H e I). Figuras: A e D-Pb₂₃; B-Pb₂₄; C-Pb₂₂; E e G-Pb₂₁; F, H e I-Pb₂₀

Comparação entre dois métodos de fixação dos nematóides e montagem das lâminas nas características morfométricas de cinco populações de *Pratylenchus brachyurus*

Os resultados do presente estudo demonstraram que os métodos de fixação por formol-glicerina e formol afetaram os valores das variáveis morfométricas avaliadas nas populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ (Tabelas 4.6 e 4.7). Logo após a recuperação dos nematóides, as suspensões que os continham foram aquecidas em banho-maria, para ocorrer a morte dos espécimes pela ação do calor (55 °C), sem a prévia utilização de nenhuma substância anestésica. Segundo Grewal, Richardson e Wright (1990), os nematóides mortos em água quente sofrem

algum grau de distorção ou modificação da estrutura do corpo, possivelmente devido às diferenças de pressão osmótica a que são submetidos durante o processo. Porém, as diferenças observadas no presente trabalho não podem ser atribuídas a esse procedimento, que foi aplicado aos exemplares submetidos aos dois métodos de fixação.

Tabela 4.6 – Dados morfométricos de populações de *Pratylenchus brachyurus* fixadas e montadas pelo método de formol-glicerina. As mensurações estão representadas pelas médias $\pm$ desvio padrão, seguida pelos intervalos obtidos (nos parêntesis)

Características Morfométricas	*Pb ₂₀	*Pb ₂₁	*Pb ₂₂	*Pb ₂₃	*Pb ₂₄
L	543,57 $\pm$ 19,50 (512-564,1)	592,71 $\pm$ 34,88 (531,25-640,62)	604,94 $\pm$ 28,69 (562,89-646,15)	601,17 $\pm$ 63,96 (525,77-750)	532,30 $\pm$ 42,034 (482,05-594,87)
ϕ c	24,01 $\pm$ 2,20 (21,32-27,81)	24,19 $\pm$ 2,29 (21,32-26,88)	22,06 $\pm$ 1,79 (20,39-24,10)	25,03 $\pm$ 2,00 (21,32-27,81)	24,47 $\pm$ 2,36 (20,39-27,81)
ϕ v	21,13 $\pm$ 1,43 (18,54-23,17)	21,41 $\pm$ 2,11 (18,54-25,02)	19,65 $\pm$ 1,22 (18,54-21,32)	21,32 $\pm$ 1,31 (18,54-23,17)	20,39 $\pm$ 1,75 (17,61-22,24)
ϕ a	15,10 $\pm$ 1,24 (13,90-17,61)	15,01 $\pm$ 1,56 (12,97-17,61)	15,11 $\pm$ 1,24 (13,90-16,68)	15,66 $\pm$ 1,19 (13,90-17,91)	15,29 $\pm$ 1,25 (13,90-17,61)
V	82,13 $\pm$ 4,55 (73,23-88,06)	82,44 $\pm$ 5,21 (73,54-88,06)	88,71 $\pm$ 12,23 (78,79-121,43)	78,33 $\pm$ 7,56 (63,96-88,99)	77,12 $\pm$ 3,24 (71,37-82,50)
St	19,56 $\pm$ 0,81 (18,54-20,39)	20,30 $\pm$ 0,53 (19,46-21,32)	21,04 $\pm$ 1,24 (18,54-23,17)	19,84 $\pm$ 1,59 (16,68-22,24)	19,37 $\pm$ 0,92 (18,54-21,32)
ϕ bst	4,54 $\pm$ 0,29 (3,70-4,63)	4,82 $\pm$ 0,39 (4,63-5,56)	5,56 $\pm$ 0 (5,56-5,56)	4,54 $\pm$ 0,53 (3,70-5,56)	4,44 $\pm$ 0,39 (3,70-4,63)
Abst	3,42 $\pm$ 0,44 (2,78-3,70)	3,24 $\pm$ 0,65 (2,78-3,70)	4,17 $\pm$ 0,49 (3,70-4,63)	3,42 $\pm$ 0,44 (2,78-3,70)	3,52 $\pm$ 0,39 (2,78-3,70)
Dgo	2,78 $\pm$ 0 (2,78-2,78)	2,69 $\pm$ 0,29 (1,85-2,78)	3,15 $\pm$ 0,48 (2,78-3,70)	2,87 $\pm$ 0,29 (2,70-3,70)	2,78 $\pm$ 0 (2,78-2,78)
v-a	53,76 $\pm$ 4,37 (46,35-60,35)	52,31 $\pm$ 6,98 (41,1-62,1)	59,23 $\pm$ 11,79 (50,05-88,99)	48,30 $\pm$ 5,55 (37,08-55,62)	45,88 $\pm$ 3,25 (41,71-50,98)
T	28,36 $\pm$ 1,52 (25,95-31,51)	30,12 $\pm$ 2,91 (24,1-32,44)	29,47 $\pm$ 4,39 (20,39-33,37)	30,03 $\pm$ 3,42 (26,88-37,08)	31,24 $\pm$ 2,70 (27,81-37,08)
Pub	15,85 $\pm$ 2,41 (12,97-18,54)	16,09 $\pm$ 2,26 (12,97-18,54)	15,85 $\pm$ 2,07 (13,90-18,54)	16,59 $\pm$ 1,88 (13,90-18,54)	17,15 $\pm$ 2,06 (13,90-18,54)
a	22,75 $\pm$ 1,48 (20,28-25,01)	24,58 $\pm$ 1,60 (22,28-28,09)	27,55 $\pm$ 2,05 (25,00-30,43)	24,06 $\pm$ 2,09 (21,01-26,96)	21,89 $\pm$ 2,21 (17,93-24,12)
b	6,18 $\pm$ 0,59 (5,18-7,19)	7,01 $\pm$ 0,87 (6,02-9,11)	6,80 $\pm$ 0,39 (6,18-7,57)	7,28 $\pm$ 1,31 (5,50-8,89)	6,84 $\pm$ 1,04 (5,71-8,46)
b`	3,52 $\pm$ 0,18 (3,19-3,80)	3,90 $\pm$ 0,36 (3,47-4,40)	4,02 $\pm$ 0,36 (3,11-4,48)	4,34 $\pm$ 0,54 (3,67-5,18)	3,94 $\pm$ 0,50 (3,44-4,74)
c	19,22 $\pm$ 1,27 (17,24-20,98)	19,89 $\pm$ 2,66 (16,37-25,28)	21,04 $\pm$ 3,96 (16,85-28,16)	20,09 $\pm$ 1,64 (17,16-21,86)	17,07 $\pm$ 0,95 (15,65-18,84)
c`	1,89 $\pm$ 0,16 (1,57-2,13)	2,03 $\pm$ 0,32 (1,36-2,50)	1,96 $\pm$ 0,32 (1,38-2,33)	1,92 $\pm$ 0,16 (1,66-2,10)	2,06 $\pm$ 0,24 (1,66-2,35)
V%	84,90 $\pm$ 0,51 (84,09-85,17)	86,08 $\pm$ 0,74 (85,22-87,98)	85,29 $\pm$ 2,31 (79,04-86,87)	86,95 $\pm$ 0,60 (86,29-88,13)	85,45 $\pm$ 1,06 (83,74-86,75)

*Valores apresentados em μ m. *Valores médios de 10 fêmeas adultas

Tabela 4.7 - Dados morfométricos de populações de *Pratylenchus brachyurus* fixadas e montadas pelo método em formol. As mensurações estão representadas pelas médias $\pm$ desvio padrão, seguida pelos intervalos obtidos (nos parêntesis)

Características morfométricas	*Pb ₂₀	*Pb ₂₁	*Pb ₂₂	*Pb ₂₃	*Pb ₂₄
L	582,70 $\pm$ 46,20 (535-678)	583,90 $\pm$ 43,91 (520-661)	649,80 $\pm$ 7,51 (594-682)	621,20 $\pm$ 41,88 (546-689)	587,50 $\pm$ 26,86 (536-631)
ϕ c	23,96 $\pm$ 1,60 (21,56-26,35)	22,76 $\pm$ 1,69 (19,16-23,95)	23,72 $\pm$ 0,76 (21,56-23,95)	23,72 $\pm$ 1,36 (21,56-26,35)	21,44 $\pm$ 1,83 (19,16-23,95)
ϕ v	20,84 $\pm$ 1,62 (19,16-23,95)	19,41 $\pm$ 2,10 (16,77-21,56)	20,60 $\pm$ 1,24 (19,16-21,56)	18,69 $\pm$ 2,47 (14,37-21,56)	19,17 $\pm$ 1,96 (16,77-21,56)
ϕ a	15,57 $\pm$ 1,26 (14,37-16,77)	13,18 $\pm$ 1,69 (11,97-16,77)	14,85 $\pm$ 1,01 (14,37-16,77)	12,94 $\pm$ 1,68 (9,58-14,37)	13,66 $\pm$ 1,29 (11,97-15,57)
V	82,69 $\pm$ 6,08 (73,23-90,84)	82,50 $\pm$ 7,76 (64,89-88,06)	85,19 $\pm$ 2,25 (81,57-88,06)	82,09 $\pm$ 6,49 (71,37-90,84)	80,32 $\pm$ 6,94 (67-67-88,99)
St	18,93 $\pm$ 1,10 (17,96-21,56)	19,29 $\pm$ 0,88 (19,16-21,56)	21,20 $\pm$ 1,70 (17,96-23,95)	19,29 $\pm$ 0,88 (17,96-21,56)	18,45 $\pm$ 0,62 (17,96-19,16)
ϕ bst	4,79 $\pm$ 0 (4,79-4,79)	5,15 $\pm$ 0,58 (4,79-5,98)	6,11 $\pm$ 1,19 (4,79-7,18)	5,15 $\pm$ 0,81 (3,59-5,98)	5,75 $\pm$ 0,51 (4,79-5,98)
Abs	4,79 $\pm$ 0,56 (3,59-5,98)	4,55 $\pm$ 0,51 (3,59-4,79)	4,46 $\pm$ 0,49 (3,59-4,79)	3,83 $\pm$ 0,76 (2,39-4,79)	3,59 $\pm$ 0,56 (3,59-4,79)
Dgo	2,69 $\pm$ 0,53 (1,85-3,70)	2,22 $\pm$ 0,48 (1,85-2,78)	2,60 $\pm$ 0,59 (1,85-3,70)	2,97 $\pm$ 0,39 (2,78-3,70)	2,78 $\pm$ 0 (2,78-2,78)
v-a	55,62 $\pm$ 5,66 (46,35-64,89)	53,02 $\pm$ 7,26 (37,08-63,96)	54,04 $\pm$ 2,10 (50,05-55,62)	53,21 $\pm$ 6,17 (43,56-64,89)	48,67 $\pm$ 5,28 (39,86-57,47)
T	27,07 $\pm$ 2,13 (23,17-30,59)	29,48 $\pm$ 3,65 (23,17-36,15)	31,15 $\pm$ 2,40 (25,95-33,37)	28,88 $\pm$ 3,93 (23,17-35,22)	31,66 $\pm$ 2,39 (27,81-35,22)
Pub	17,06 $\pm$ 3,00 (13,90-23,17)	17,71 $\pm$ 3,77 (13,90-25,95)	17,71 $\pm$ 2,91 (14,83-25,02)	15,30 $\pm$ 1,81 (12,05-18,54)	14,92 $\pm$ 1,88 (12,97-17,61)
a	24,42 $\pm$ 2,63 (22,30-31,44)	25,76 $\pm$ 2,41 (23,04-30,93)	27,41 $\pm$ 1,28 (24,79-29,21)	26,26 $\pm$ 2,19 (22,78-29,12)	27,58 $\pm$ 2,60 (22,37-30,73)
b	6,49 $\pm$ 0,88 (5,48-8,04)	6,67 $\pm$ 0,72 (5,74-7,90)	6,21 $\pm$ 0,62 (5,39-7,40)	6,26 $\pm$ 0,85 (5,04-7,92)	5,96 $\pm$ 0,52 (5,07-6,82)
b`	4,07 $\pm$ 0,39 (3,51-4,96)	4,12 $\pm$ 0,30 (3,67-4,66)	4,45 $\pm$ 0,36 (3,98-5,28)	4,42 $\pm$ 0,57 (3,64-5,70)	4,08 $\pm$ 0,46 (3,18-4,62)
c	21,62 $\pm$ 2,11 (19,23-26,12)	19,97 $\pm$ 1,85 (16,54-24,03)	20,97 $\pm$ 1,76 (19,35-24,70)	21,80 $\pm$ 2,75 (18,99-25,80)	18,65 $\pm$ 1,62 (16,43-21,05)
c`	1,75 $\pm$ 0,22 (1,38-2,12)	2,28 $\pm$ 0,42 (1,38-2,78)	2,10 $\pm$ 0,20 (1,80-2,32)	2,25 $\pm$ 0,29 (1,80-2,63)	2,33 $\pm$ 0,24 (1,93-2,74)
V%	85,78 $\pm$ 0,89 (83,97-86,75)	85,84 $\pm$ 1,30 (83,37-87,52)	86,87 $\pm$ 0,59 (86,13-87,85)	86,74 $\pm$ 1,29 (84,55-88,63)	86,31 $\pm$ 1,20 (84,57-88,02)

*Valores médios de 10 fêmeas adultas

O processo inicial de fixação, às custas da adição do fixador formaldeído à suspensão contendo os espécimes, foi idêntico nos dois métodos avaliados. A principal diferença entre os dois é a presença de glicerina no formol-glicerina. De acordo com Grewal, Richardson e Wright (1990), os fixadores FAA (10 ml formol a 37% + 1 ml de ácido acético glacial + 89 ml de água destilada) e formol-glicerina produzem deformações como inchaços nos nematóides, que em casos extremos podem chegar a rompimento, distorção e mesmo enegrecimento da cutícula. Outro efeito importante foi o engrossamento da cutícula, com reflexo direto na medida do diâmetro do corpo dos nematóides, principalmente com o método do formol-glicerina. De fato, os espécimes das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixados em formol-glicerina apresentaram maior diâmetro em três diferentes posições do corpo que os espécimes fixados em formaldeído (Figura 4.7).

Figura 4.7 – Médias do diâmetro do corpo, em três diferentes posições, de fêmeas adultas de *Pratylenchus brachyurus* das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixadas e montadas em meio de formaldeído e formol-glicerina

Outra variável cujo valor foi afetado pelo método de fixação foi o comprimento do estilete (St), 3,00% menor nos espécimes fixados em formaldeído (Figura 4.8). Por outro lado, os

espécimes das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixados e montados pelo método do formol-glicerina apresentaram valores menores que os fixados e montados em formaldeído nas seguintes variáveis: L (4,97%), Pub (1,39%), a (8,00%), b (7,47%), b` (6,85%), c (5,53%), c` (7,94%) e V% (0,67%) (Figura 4.8).

A Figura 4.9 mostra a posição das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ com base na análise de componentes principais (PCA) aplicada aos espécimes fixados pelos dois métodos (A: formol-glicerina; B: formol; C: formol-glicerina e formol) em relação às variáveis L, St, Pub, a, b, b`, c, c`, V%, que foram as características que melhor discriminaram as possíveis diferenças entre as amostras. Na análise a partir de espécimes fixados em formol-glicerina (Figura 4.9-A), as populações se distanciaram entre si, sem a formação de grupos homogêneos. Situação semelhante foi observada na análise a partir de espécimes fixados em formol (Figura 4.9-B). Nos dois casos, além da própria heterogeneidade entre as populações, outro fator que pode ter causado a ausência de agrupamento seria o pequeno número de populações analisadas. A observação mais importante foi obtida com a análise a partir da conjunção de espécimes fixados pelos dois métodos (Figura 4.9-C), que mostrou a formação de três grupos homogêneos (G₂₁ e F₂₀; G₂₂ e G₂₃; e G₂₀ e G₂₄). Portanto, os espécimes de Pb₂₀ fixados em formol ficaram distantes dos pares fixados em formol-glicerina, mas próximos dos espécimes de Pb₂₁ fixados em formol-glicerina, que por sua vez ficaram distantes dos pares fixados em formol. Esse evento se repetiu com Pb₂₂ e Pb₂₃, em que os espécimes fixados em formol-glicerina ficaram distantes dos pares fixados em formol, mas formaram grupos considerados homogêneos com outras populações: Pb₂₂ em formol-glicerina com Pb₂₃ no mesmo meio; e Pb₂₀ em formol-glicerina com Pb₂₄ no mesmo meio. Tal discrepância demonstra que se pode chegar a conclusões incorretas em análises morfométricas pela comparação de espécimes fixados de maneira diferente.

Estudos morfométricos que detectaram variações entre populações de *P. brachyurus*, como os trabalhos de Torres et al. (2004) e Olowe e Corbett (1984b), atribuem o evento à real diversidade existente dentro da população ou da espécie, mas também ao possível efeito da procedência (área geográfica ou planta hospedeira) ou do método de fixação. Os presentes resultados confirmam a importância do fator método de fixação. Portanto, parte da diversidade morfométrica registrada na literatura pode ser atribuída a alterações relacionadas à metodologia de preparação microscópica, razão pela qual estudos morfométricos comparativos devem levar em conta tal efeito. A partir da informação de que alterações causadas pelos métodos de fixação

podem levar a conclusões equivocadas sobre a identidade dos nematóides examinados, as variáveis obtidas de espécimes fixados por determinado método devem ser obrigatoriamente comparadas com as obtidas com processo idêntico.

Figura 4.8 - Efeitos dos métodos de formol (F) e formol-glicerina (G). nas características e índices de De Man: L-comprimento do corpo, St-comprimento do estilete, Pub-comprimento do saco pós-uterino, a-relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo, b-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino, b'-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e o final do esôfago, c-relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda, c'-relação entre comprimento da cauda e diâmetro da cauda na altura do ânus e V%-relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea

Figura 4.9 - Gráfico dos componentes principais entre os fatores 1 (PC1) e 2 (PC2). A. Medidas das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixadas e montadas pelo método formol-glicerina (G); B. Medidas das mensurações das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixadas e montadas pelo método formol (F); C.

Comparação das medidas das populações Pb₂₀, Pb₂₁, Pb₂₂, Pb₂₃ e Pb₂₄ fixadas e montadas pelos métodos formol-glicerina (G) e formol (F). Representação da correlação e relativa importância das características morfométricas de populações de *Pratylenchus brachyurus*. O ângulo de inclinação de cada número representa a associação entre eles; a direção dos vetores indica o sentido da relação (+, -); a distância a partir do centro dos eixos representa o peso da variável dentro do conjunto, sendo consideradas distâncias menores variáveis de menor peso. As variáveis foram: 1-comprimento do corpo (L); 2-comprimento do estilete (St); 3-comprimento do saco pós-uterino (Pub), 4-relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo (a); 5-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino (b); 6-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e o final do esôfago (b'); 7-relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda (c); 8-relação entre comprimento da cauda e diâmetro da cauda na altura do ânus (c'); 9-relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea (V%)

Comparação entre populações de *Pratylenchus brachyurus* fixadas pelo método da glicerina

Os espécimes examinados apresentaram região labial angulosa com dois anéis, bulbos do estilete arredondados e cauda com término variável (cônico-truncado, grosseiramente arredondado, cônico-arredondado ou ainda variantes desses tipos), em concordância com os estudos morfológicos para *P. brachyurus* de Róman e Hirschmann (1969) e Tarjan e Frederick (1978) (Figuras 4.10 e 4.11). A observação dessas características qualitativas, de grande valor na identificação de *P. brachyurus*, não revelou nenhum pormenor característico de uma ou mais populações, apta a ser utilizada como diagnóstico inter-populacional. No caso do formato do término caudal, comprovou-se no presente trabalho a grande variação apontada em estudos morfológicos anteriores, reafirmando-se a inexistência de terminação da cauda que seja considerada padrão e que possa ser utilizada como característica morfológica chave para a espécie (Figura 4.11). Ao examinar minuciosamente oito fêmeas adultas do nematóide, Godfrey (1929) verificou a existência de cinco tipos de cauda. Tal observação foi confirmada por Róman e Hirschmann (1969) e Tarjan e Frederick (1978), que afirmaram que o formado terminal da cauda desse nematóide pode variar entre diferentes populações e mesmo dentro de uma única população.

Os dados relativos às 14 mensurações e aos índices demanianos das 11 populações estudadas estão nas Tabelas 4.6 e 4.8. Comparando-os com os valores de L, St, a, b, c e V% constantes em Loof (1960), cuja amplitude de variação é 390-750 μ m (L), 17-22 μ m (St), 15-29 (a), 5-10 (b), 13-28 (c), 82-89% (V%) para fêmeas adultas, detectaram-se que algumas variáveis obtidas no presente trabalho ultrapassaram os valores máximos e mínimos indicados nessa referência, mostrando a diversidade morfológica existente intra e inter-populacionalmente em *P.*

brachyurus. Por seu turno, os valores médios para as 11 populações foram de 575,22 μm para L; 19,89 μm para St; 25,39 para o índice a; 7,08 para o índice b; 18,88 para o índice c; e 86,06 para o índice V%, portanto em conformidade com a faixa de variação aceita para *P. brachyurus* em Loof (1960).

Figura 4.10 – Desenhos esquemáticos (adaptados de RÓMAN; HIRSHMANN, 1969) e fotomicrografias de *Pratylenchus brachyurus*. A. Visão da parte anterior do corpo com destaque para o estilete; B. Parte posterior, com visão da vulva, ânus e formado da cauda; C. Região anterior até a junção esôfago-intestino

Figura 4.11 – Fotomicrografias da variação do término da cauda de fêmeas adultas de *Pratylenchus brachyurus*

Os resultados relativos à variável St mostraram grande variação nos valores, mas seu valor médio em cada uma das 11 populações estudadas esteve em conformidade com o intervalo normal para *P. brachyurus* (17-22 μm) segundo Loof (1960). Ferraz (1999) ressaltou que a dificuldade de visualizar com exatidão a extremidade apical do estilete, associada à assunção da ocorrência de erros em mensurações de estruturas tão pequenas, justifica a elevada amplitude de tamanhos aceita na literatura para a variável St. Portanto, era pouco provável que a variável tivesse valor diagnóstico em estudos inter-populacionais de *P. brachyurus*. Além disso, Olowe e Corbett (1984a) afirmaram que os fatores ambientais podem afetar o comprimento do corpo de *P. brachyurus* com conseqüências diretas no comprimento do estilete, e que, portanto, não devem, tanto L como St, ser utilizados como únicas variáveis para identificação específica em *Pratylenchus*.

O índice V% apresentou variação inter-populacional, mas a existência de variação intra-populacional inviabilizou seu uso como característica diagnóstica neste presente. Para demonstrar a variação em St, L e V%, além de F, os valores individuais dessas variáveis obtidos na população Pb₂₃ estão representados graficamente na Figura 4.13.

Figura 4.12 – Variações intra-populacional observada na população Pb₂₃. A - Comprimento do corpo (L); B - Comprimento do esôfago (F); C - relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea V% e D - Comprimento do estilete (St)

Tabela 4.8 - Dados morfométricos de populações de *Pratylenchus brachyurus* fixadas e montadas pelo método de formol-glicerina. As mensurações estão representadas pelas médias $\pm$ desvio padrão, seguida pelos intervalos obtidos (nos parêntesis)

Características morfométricas	*Pb ₂₆	*Pb ₄₂	*Pb ₄₃	**Pb ₄₅	*Pb ₄₆	*Pb ₄₈
L	635,97 $\pm$ 43,01 (588,8-710,6)	563,14 $\pm$ 67,42 (489,69-695,87)	540,59 $\pm$ 44,55 (489,69-618,55)	581,63	593,59 $\pm$ 52,36 (489,69-656,41)	537,89 $\pm$ 18,35 (510,2-566,3)
ϕ c	22,25 $\pm$ 1,6 (20,39-23,17)	22,94 $\pm$ 3,12 (18,54-27,81)	24,45 $\pm$ 3,21 (18,54-27,81)	20,39	24,10 $\pm$ 2,00 (21,32-25,95)	18,28 $\pm$ 1,39 (16,68-20,39)
ϕ v	18,80 $\pm$ 1,28 (17,61-21,32)	19,69 $\pm$ 2,20 (16,68-22,24)	19,93 $\pm$ 1,79 (16,68-21,32)	17,61	19,70 $\pm$ 0,89 (18,54-20,39)	16,42 $\pm$ 1,03 (14,83-17,61)
ϕ a	13,91 $\pm$ 1,78 (11,12-15,75)	14,13 $\pm$ 1,62 (11,12-15,75)	15,29 $\pm$ 1,64 (12,05-16,68)	14,83	14,37 $\pm$ 0,53 (13,90-14,83)	12,85 $\pm$ 0,64 (12,05-13,90)
V	81,31 $\pm$ 7,75 (71,37-93,62)	75,43 $\pm$ 6,94 (67,67-88,99)	73,35 $\pm$ 4,66 (66,74-81,57)	82,50	85,28 $\pm$ 5,30 (80,64-92,70)	72,31 $\pm$ 5,56 (63,03-79,72)
St	20,39 $\pm$ 0,76 (19,46-21,32)	20,04 $\pm$ 0,98 (18,54-21,32)	20,04 $\pm$ 0,98 (18,54-21,32)	18,54	19,93 $\pm$ 0,53 (19,46-20,39)	19,73 $\pm$ 0,70 (18,54-20,39)
ϕ bst	3,84 $\pm$ 0,83 (2,78-4,63)	4,86 $\pm$ 0,43 (4,63-5,56)	4,63 $\pm$ 0 (4,63-4,63)	4,64	4,64 $\pm$ 0 (4,64-4,64)	2,78 $\pm$ 0 (2,78-2,78)
Abst	5,03 $\pm$ 0,50 (4,63-5,56)	4,05 $\pm$ 0,48 (3,70-4,63)	3,47 $\pm$ 0,43 (2,78-3,70)	2,78	2,78 $\pm$ 0 (2,78-2,78)	4,64 $\pm$ 0 (4,64-4,64)
Dgo	3,04 $\pm$ 0,45 (2,78-3,70)	2,78 $\pm$ 0 (2,78-2,78)	2,90 $\pm$ 0,33 (2,78-3,70)	2,78	2,78 $\pm$ 0 (2,78-2,78)	2,78 $\pm$ 0 (2,78-2,78)
v-a	48,07 $\pm$ 6,54 (41,71-56,54)	45,54 $\pm$ 6,35 (37,08-57,47)	45,07 $\pm$ 4,51 (38,93-53,76)	50,06	49,83 $\pm$ 4,24 (44,49-54,69)	42,51 $\pm$ 4,92 (34,29-50,05)
T	33,24 $\pm$ 3,98 (27,81-37,08)	29,89 $\pm$ 2,96 (27,81-34,29)	28,27 $\pm$ 1,57 (25,95-30,59)	32,45	35,46 $\pm$ 2,06 (33,37-38,00)	29,80 $\pm$ 3,32 (27,81-37,08)
Pub	14,70 $\pm$ 1,36 (13,90-17,61)	16,10 $\pm$ 1,56 (13,9-18,54)	14,83 $\pm$ 1,86 (12,97-18,54)	13,91	14,37 $\pm$ 0,53 (13,90-14,83)	14,30 $\pm$ 1,18 (12,97-15,75)
a	28,66 $\pm$ 2,09 (26,46-31,93)	24,74 $\pm$ 2,85 (21,13-29,74)	22,40 $\pm$ 2,99 (18,21-26,69)	28,52	24,68 $\pm$ 1,87 (22,91-27,23)	29,56 $\pm$ 2,17 (25,51-32,41)
b	6,92 $\pm$ 0,68 (5,99-7,81)	8,42 $\pm$ 2,16 (6,41-11,91)	6,88 $\pm$ 1,77 (4,75-10,46)	8,96	6,72 $\pm$ 0,51 (6,05-7,21)	5,95 $\pm$ 0,51 (5,07-6,49)
b`	4,27 $\pm$ 0,43 (3,60-4,78)	4,35 $\pm$ 0,61 (3,74-5,64)	3,77 $\pm$ 0,67 (2,93-4,97)	4,83	3,99 $\pm$ 0,15 (3,84-4,14)	3,68 $\pm$ 0,18 (3,33-3,87)
c	19,35 $\pm$ 2,47 (15,87-23,17)	18,97 $\pm$ 2,59 (14,88-22,08)	19,20 $\pm$ 2,16 (16,51-22,24)	17,93	16,73 $\pm$ 0,72 (15,82-17,34)	18,23 $\pm$ 1,98 (14,44-20,36)
c`	2,41 $\pm$ 0,34 (2,00-3,07)	2,13 $\pm$ 0,27 (1,76-2,64)	1,87 $\pm$ 0,26 (1,55-2,20)	2,19	2,47 $\pm$ 0,18 (2,31-2,73)	2,32 $\pm$ 0,27 (2,06-2,85)
V%	87,20 $\pm$ 1,08 (85,83-87,63)	86,54 $\pm$ 0,95 (85,04-88,06)	86,38 $\pm$ 1,11 (84,47-87,84)	85,82	85,59 $\pm$ 0,87 (84,38-85,87)	86,56 $\pm$ 0,89 (85,25-87,64)

*Valores apresentados em μm . *Valores médios de 10 fêmeas adultas. ** Valor obtido da mensuração de uma fêmea adulta

A matriz de correlação apresentada na Tabela 4.9 é produto da análise (PCA) de informação de 15 populações e seis variáveis (L, St, a, b, c e V%) e mostrou que somente duas correlações foram significativas, com os valores de 0,3718* e 0,4727*. Os baixos valores de ambas (inferior a 0,50), complementados com a reduzida frequência de diferenças entre as médias das populações para a maioria das variáveis analisadas, sugerem que nenhuma das seis características morfométricas representa, isoladamente, fator decisivo na separação das 15 populações.

Tabela 4.9 - Coeficientes estandarizados de correlação e níveis de significância para seis variáveis de *Pratylenchus brachyurus*

VAR	L	St	a	b	c	V%
L	1,000	0,4727*	0,2423	0,2477	0,2032	-0,06075
St		1,000	0,04207	-0,1484	0,0574	0,3718*
a			1,000	-0,07295	-0,1235	-0,00239
b				1,000	-0,05049	0,06698
c					1,000	0,288
V%						1,000

L-comprimento do corpo; St-comprimento do estilete; a-relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo; b-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino; c-relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda; V%-relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea. (*) significância estatística

Na Tabela 4.10, encontram-se as variáveis morfométricas com seus respectivos vetores (valor absoluto) e o peso com que cada variável contribuiu na explicação da variação dentro de cada componente.

Tabela 4.10 - Vetores próprios (eigenvectores) e valores próprios (eigenvalues) dos componentes principais obtidos depois das etapas sucessivas de reduções, derivados da mensuração de características morfométricas de fêmeas adultas de 15 populações (11 coletadas e mensuradas e quatro valores obtidos na literatura) de *Pratylenchus brachyurus*

Variável	Componentes principais					
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
L	-0,547527*	0,468168	0,203717	0,301075	0,181337	-0,562142*
St	-0,611773*	0,00788818	-0,279415	-0,226308	0,464439	0,529792*
a	-0,155521	0,541299*	-0,373145	-0,0583235	-0,704774*	0,208477
b	-0,0624806	0,22941	0,837055*	-0,342222	-0,126959	0,331016
c	-0,346925	-0,440674	0,201018	0,667697*	-0,337024	0,292637
V%	-0,421308	-0,490844	-0,0109369	-0,540188*	-0,353557	-0,405767
<i>Eigenvalues</i>	1,707	1,281	1,129	0,875	0,836	0,169

L-comprimento do corpo; St-comprimento do estilete; a-relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo; b-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino; c-relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda; V%-relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea. (*) variáveis com maior peso

Após a realização de análises exploratórias, o número de variáveis foi reduzida de 20 (L, St, ϕ c, ϕ v, ϕ a, ϕ bst, Abst, Dgo, F, Po, v, v-a, T, Pub, a, b, b', c, c' e V%) para 6 (L, St, a, b, c e V%), as quais estão representadas na Figura 4.13 para os componentes 1 e 2, cujas variâncias acumuladas foram 0,2845 e 0,2136 respectivamente. Os resultados obtidos nesse presente estudo demonstraram claramente a existência de variação inter-populacional com base na análise das variáveis coletadas nas 15 populações, ressaltando-se que quatro delas foram obtidas da literatura, incluindo a população tipo. Conforme observado na Figura 4.13, as populações formaram cinco grupos na distância euclidiana de 2,62.

Figura 4.13 - Gráfico dos componentes principais entre os fatores 1 (PC1) e 2 (PC2). Representação da correlação e relativa importância das características morfométricas de populações de *Pratylenchus brachyurus*. O ângulo de inclinação de cada número representa a associação entre eles; a direção dos vetores indica o sentido da relação (+, -); a distância a partir do centro dos eixos representa o peso da variável dentro do conjunto, sendo considerada distâncias menores variáveis de menor peso. As variáveis foram: 1-comprimento do corpo (L); 2-comprimento do estilete (St); 3-relação entre comprimento do corpo e maior largura do corpo (a); 4-relação entre comprimento do corpo e distância entre a extremidade anterior e a junção esôfago-intestino (b); 5-relação entre comprimento do corpo e comprimento da cauda (c); 6-relação percentual entre a distância da extremidade anterior até a vulva em relação ao comprimento do corpo da fêmea (V%)

O grupo 1 inclui apenas a população BoM, procedente de plantios de milho na Bolívia e mantida como cultura pura em condições “in vitro” sob pedaços de raízes de milho. A análise demonstrou que as correlações que tiveram maior influência sobre a população de forma negativa foram L (513 μm) vs. V% (85) e positiva com alto nível de correlação St (18,5) vs. b (7,2). No grupo 2 encontra-se a população BoL. As variáveis L (588 μm) vs. V% (71%) foram altamente correlacionadas entre si e contribuíram de forma negativa. O índice c (17) contribuiu positivamente. A separação de BoM e BoL em grupos distintos concordam com os resultados do estudo comparativo feito por Olowe e Corbett (1984a). Procedentes da progênie produzida a partir de uma única fêmea cultivada “in vitro” sob pedaços de raízes de milho, e logo em seguida em raízes de milho e leucena, as duas populações passaram a exibir diferenças morfológicas, principalmente no comprimento do corpo, decorrentes da influência das duas plantas hospedeiras nas quais foram mantidas “in vitro”. De acordo com Fortuner e Quénéhervé (1980), populações

obtidas de diferentes plantas hospedeiras ou diferentes cultivares de uma mesma espécie vegetal podem sofrer influência dessa procedência em suas variáveis morfométricas. A intensidade desse efeito pode estabelecer diferenças estatísticas entre duas populações originadas de um mesmo isolado.

O grupo 3 reuniu o maior número de populações: Pb₂₀, Pb₂₄, Pb₄₂, Pb₄₃, Pb₄₅, Pb₄₆, Pb₄₈, Br e Tipo. Quatro delas foram coletadas no estado da Bahia (Pb₄₂, Pb₄₃, Pb₄₅, e Pb₄₆), uma do Mato Grosso do Sul (Pb₄₈), uma do Rio de Janeiro (Pb₂₀), uma do Mato Grosso (Pb₂₄) e uma de local não especificado (Br - CAFÉ FILHO; HUANG, 1988); todas, exceto Pb₂₀ e Tipo, foram recuperadas de raízes de algodão ou soja, ou ainda de raízes de corda-de-viola/capim braquiária presentes como invasoras em área cultivada com algodão ou de solo em área anteriormente cultivada com algodão. Apesar de todas as populações estarem agrupadas em função da presença de variáveis com valores próximos e distâncias que ocupam no gráfico de PCA, é possível observar a influência das variáveis para cada uma das populações. Altas e positivas correlações foram estabelecidas entre as variáveis St, a e b para as populações Pb₂₀ (19,56 µm; 22,75; 6,18) e Pb₂₄ (19,37 µm; 21,89; 6,84). Além disso, houve influência de L (543,57 e 532,20 µm) e V% (84,90 e 85,45%), mas negativamente. As variáveis L e V% contribuíram de forma positiva e St negativa para Pb₄₂ (563,14 µm; 86,54; 20,04) e Pb₄₆. (593,59 µm; 85,59; 19,93). A população Tipo foi influenciada positivamente pelo L (567 µm) e a (24,39) e negativamente por c (25,64).

No grupo 4 foram agrupadas duas populações coletadas em algodoais do Mato Grosso (Pb₂₂ e Pb₂₆) e que apresentaram alta e positiva correlação entre L (604,94 e 635,97 µm) vs. V% (86,08 e 87,20%). Contudo, apresentaram relação negativa com o St (21,04 e 20,39 µm), a (27,55 e 28,66) e b (6,80 e 6,92).

O grupo 5 composto por Pb₂₁ e Pb₂₃, igualmente coletadas em algodoais, mas de estados diferentes (Pb₂₁ da Bahia e Pb₂₃ do Mato Grosso) apresentou comportamento similar ao grupo anterior com alta e positiva correlação entre L (592,71 e 601,17 µm) vs. V% (86,08 e 86,95%). As variáveis St (20,30 e 19,84 µm), a (24,58 e 24,06) e b (7,01 e 7,28) influenciaram de forma negativa no agrupamento dessas populações.

Não se verificou, portanto, correlação forte entre os grupamentos formados com base no PCA e a procedência das populações (estado ou planta hospedeira). Houve, porém, indícios de correspondência entre os resultados obtidos nos Capítulos 2 e 3, em relação à agressividade das populações Pb₂₀, Pb₂₁ e Pb₂₃ (Pb₂₁=Pb₂₃>Pb₂₀), e os resultados do grupamento obtidos neste

Capítulo. Tratando-se de indício fraco, com base nas respostas de apenas três populações até o momento, precisa ser aferido com maior quantidade de testes biológicos e a comparação com testes moleculares.

Recentemente, Machado (2006) avaliou 30 populações de *P. brachyurus* provenientes de diversas áreas geográficas, parte delas presentes nesse estudo, por meio de análises de RFLP da região ITS-1 do rDNA e verificou que existe variação intraespecífica entre as populações estudadas, uma vez que foram encontrados mais de três padrões de bandas. Os resultados desse estudo mostraram que técnicas moleculares, como o RFLP, devem ser utilizadas com cautela para fins de diagnose da espécie. De fato, com a popularização dos testes de DNA e estudos de cromossomos, a caracterização morfológica e morfométrica de organismos biológicos está entrando em desuso. Porém, é preciso atentar para a necessidade de que o conhecimento acumulado em décadas de estudos descritivos em Nematologia continue sendo valorizado e utilizado; sua validade sendo comprovada, a caracterização morfológica e morfométrica continua sendo poderosa ferramenta em estudos nematológicos.

4.3 Conclusões

Os resultados obtidos mostraram que estudos morfológicos feitos com microscópio eletrônico de varredura são insuficientes para a separação inter-populacional de *Pratylenchus brachyurus*. Características morfológicas qualitativas observadas no microscópio óptico também carecem de valor diagnóstico nesse nível. Variáveis morfométricas obtidas no microscópio óptico apresentaram valor diagnóstico para separação inter-populacional de *P. brachyurus* somente se utilizadas em análise multivariada, confrontando-se grande número de populações e com base em espécimes fixados de maneira idêntica.

Referências

- BAUJARD, P.; MOUNPORT, D.; MARTINY, B. Étude au microscope électronique à balayage de quatre espèces du genre *Pratylenchus* Filip'ev, 1936 (Nemata: Pratylenchidae). **Révue Nématologie**, Bondy, v. 1, p. 203-210, 1990.
- BROWN, D.J.F.; TOPHAM, P.B. A comparison of the reported variation in the morphometrics of *Xiphinema diversicaudatum* (Nematoda: Dorylaimida) and the effect of preparing specimens for examination by optical microscopy. **Nematologia Mediterrânea**, Bari, v. 12, p. 169-186, 1984.
- CAFÉ FILHO, A.C.; HUANG, C.S. Nematóides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 13, p. 232-235, 1988.
- COBB, N.A. New nematode genera found inhabiting fresh water and nonbrackish soils. **Journal of Washington Academy of Science**, Washington, v. 3, p. 432-444, 1913.
- CORBETT, D.C.M. *Pratylenchus pinguicaudatus* n. sp. (Pratylenchinae: Nematoda) with a key to the genus *Pratylenchus*. **Nematologica**, Leiden, v. 15, p. 550-556, 1969.
- CORBETT, D.C.M.; CLARK, S.A. Surface features in taxonomy of *Pratylenchus* species. **Révue de Nématologie**, Bondy, v. 6, p. 85-98, 1983.
- DE MAN, J.G. Die einheimischen, frei in der reinen Erde und im süssen Wasser lebenden Nematoden. Tijdschr. **Ned Dierk Ver**, Hannover, v.5, p. 1-104, 1880.
- DOUCET, M.; LAX, P.; DI RIENZO, J.A.; PINOCHET, J.; BAUJARD, P. Temperature-induced morphometrical variability in an isolate of *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nematoda: Tylenchida). **Nematology**, Leiden, v. 3, p. 1-8, 2001.
- EISENBACK, J. Techniques for preparing nematodes for scanning electron microscopy. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Ed.). **An advanced treatise on meloidogyne**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. v. 2, p. 79-105.
- FERRAZ, L.C.C.B. Gênero *Pratylenchus*: os nematóides das lesões radiculares. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 7, p. 157-195, 1999.
- FORTUNER, R.; QUÉNÉHERVÉ, P. Morphometrical variability in *Helicotylenchus* Steiner, 1945. 2. Influence of the host on *H. dihystra* (Cobb, 1893) Sher, 1961). **Révue de Nématologie**, Bondy, v. 3, p. 291-296, 1980.
- GODFREY, G.H. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus*, n.sp. **Phytopathology**, Lancaster, v. 7, p. 611-630, 1929.
- GREWAL, P. S.; RICHARDSON, P.N.; WRIGHT, D.J. Effects of killing, fixing and mounting methods on taxonomic characters of parthenogenetic adult female *Caenorhabdits elegans* (Nematoda: Rhabditidae) **Révue de Nématologie**, Bondy, v. 13, p. 437-444, 1990.

- HOOPER, D.J. Extraction of free-living stages from soil. In: SOUTHEY, J.F. (Ed.). **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**, 6th ed. London: Her Majesty's Stationery Office, 1986, p. 5-30.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, p. 692, 1964.
- LAMBERTI, F.; SHER, S.A. A comparison of preparation techniques in taxonomic studies of *Longidorus africanus* Merny. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 1, p. 193-200, 1968.
- LAX, P.; DOUCET, M.; DI RIENZO, J.; PINOCHET, J.; BAUIARD, P. Inter-population variability in *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nematoda: Tylenchida). **Nematology**, Leiden, v. 6, p. 257-260, 2004.
- LOOF, P.A.A. The genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchida): A review of its anatomy, morphology, distribution, systematics and identification. Uppsala: Växtskyddrapporter, 1978. 48p.
- LOOF, P.A.A. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus* (Nematoda) **Tijdschrift over Plantenziekten**, Wageningen, v. 66, p. 29-90, 1960.
- MACHADO, A.C.Z. *Pratylenchus brachyurus* x algodoeiro: patogenicidade, métodos de controle e caracterização molecular de populações. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, 2006.
- MORA-AGUILERA, G.; CAMPBELL, C.L. Multivariate techniques for selection of epidemiological variables. In: FRANK, L.; NEHER, D.A. (Ed.). **Exercises in plant disease epidemiology**. Manhattan: American Phytopathological Society, 1996. p. 51-57.
- OLWE, T.; CORBETT, D.C.M. Morphology and morphometrics of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zae* II Influence of environmental factors. **Indian Journal of Nematology**, New Dehli, v. 14, p.6-17, 1984a.
- OLWE, T.; CORBETT, D.C.M. Morphology and morphometrics of *Pratylenchus brachyurus* and *Pratylenchus zae* III. Influence of geographical location. **Indian Journal of Nematology**, New Dehli, v. 14, p. 30-35, 1984b.
- ROMÁN, J.; HIRSCHMANN, H. Morphology and morphometrics of six species of *Pratylenchus*. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 1, p. 363-386, 1969.
- SOUTHEY, J. F. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**. London: Her Majesty's Stationery Office, 1986. 202 p.
- TARJAN, A.C.; FREDERICK, J.J. Intraspecific morphological variation among populations of *Pratylenchus brachyurus* and *P. penetrans*. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 10, p. 152-160, 1978.

TARTÉ, R.; MAI, W.F. Morphological variation in *Pratylenchus penetrans*. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 18, p. 185-195, 1976.

TORRES, G.R.C.; PEDROSA, E.M.R.; SIQUEIRA, K.M.S.; MOURA, R.M. *Pratylenchus brachyurus* em *Cucumis melo* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 29, p. 668-669, 2004.

5 FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE FITONEMATÓIDES EM CULTIVO IRRIGADO POR PIVÔ CENTRAL E SOB ROTAÇÃO DE CULTURA

Resumo

Estudo de campo realizado entre 2003 e 2005, em área cultivada em regime irrigado (pivô central) e infestada pelos nematóides *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita*, *Paratrichodorus minor*, *Helicotylenchus dihystra*, *Criconemella onoensis* e *C. ornata*, comprovou que sistemas de produção intensivos propiciam a manutenção de elevadas densidades de nematóides polífagos. Dentre as culturas implantadas na área, algodão, milho, soja e caupi, o primeiro se destacou pelas perdas sofridas, provavelmente por *M. incognita* e *P. brachyurus*. O milho, sendo hospedeiro favorável e tolerante de ambos os nematóides, deveria ser excluído do sistema, em benefício das demais culturas. Os resultados também sugerem que, ao menos em áreas irrigadas e infestadas com *M. incognita* e *P. brachyurus*, o planejamento da cultura do caupi deveria prever o uso de medidas de manejo para ambas as espécies.

Palavras-chaves: Algodão; Milho; Soja; Caupi; Nematóides; Rotação de cultura

Abstract

Field studies conducted between 2003 to 2005, in an irrigated area (center pivot irrigation system) infested by *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita*, *Paratrichodorus minor*, *Helicotylenchus dihystra*, *Criconemella onoensis*, and *C. ornata*, proved that intensive cropping systems allow conditions for the maintenance of high population densities of polyphagous nematodes. Among the crops grown in the area, namely cotton, maize, soybean, and cowpea, cotton was probably the most damaged by the nematodes, *M. incognita* and *P. brachyurus* probably being the most important. As maize is a tolerant good host to *M. incognita* and *P. brachyurus*, its exclusion from the cropping system could benefits the other crops. Regarding cowpea, the results suggest that, in irrigated areas infested with *M. incognita* and *P. brachyurus*, the planning of cowpea culture should include the use of management techniques for both species.

Key-words: Cotton; Maize; Soybean; Cowpea; Nematodes; Crop rotation

5.1 Introdução

A irrigação foi um dos principais avanços tecnológicos da agricultura, permitindo a utilização de extensas regiões áridas e semi-áridas para a produção agrícola. Uma das técnicas de irrigação mais utilizadas atualmente, apesar dos elevados custos de implantação, é o pivô central. Em função desse pormenor, as áreas irrigadas com pivô central normalmente são cultivadas continuamente, com dois ou três ciclos culturais por ano, situação que várias vezes está associada

ao aumento da incidência de pragas e doenças, favorecidas pela presença constante de plantas hospedeiras. Assim, a adoção da rotação de cultura é medida altamente recomendável, para evitar o aumento excessivo de pragas e de agentes causadores de doenças. No entanto, pelo próprio princípio da técnica, a rotação é pouco eficiente ou de difícil implementação no manejo de organismos polípagos. No Brasil, os nematóides das galhas, principalmente *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood, e o nematóide das lesões *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Sch. Stekhoven são alguns dos patógenos mais temidos em áreas irrigadas por pivô central, entre outras razões pelo seu caráter polífago.

O capítulo 2 demonstrou que *P. brachyurus* é patogênico ao caupi. Portanto, do ponto de vista estratégico, com vistas à manutenção da viabilidade técnica da cultura do caupi, se faz necessário o desenvolvimento de tecnologia específica para o manejo de *P. brachyurus* nessa cultura. Sabe-se, no entanto, que os produtores rurais e pesquisadores das áreas de melhoramento genético e produção vegetal, principais agentes responsáveis por tal ação, geralmente se encontram assoberbados com tamanha quantidade de demandas atuais, que dificilmente podem dar atenção a situações de relevância iminente, mas não urgente. Esse é o caso do manejo de *P. brachyurus* na cultura do caupi. Portanto, provar a importância dessa questão é altamente desejável, pois pode resultar na sua inserção na agenda de produtores rurais e pesquisadores.

Este trabalho é um estudo de campo, em área de cultivo irrigado sob rotação de culturas, que teve dois objetivos principais: 1) verificar a influência da rotação de cultura na flutuação populacional de fitonematóides, com destaque para *M. incognita* e *P. brachyurus*; 2) provar que atualmente existem situações reais nas quais o caupi está exposto a elevadas densidades populacionais de *P. brachyurus*, sujeito assim as perdas semelhantes às verificadas em casa de vegetação.

5.2 Desenvolvimento

5.2.1 Revisão bibliográfica

Atualmente 55 milhões de ha são utilizados no Brasil para a atividade agrícola, dos quais somente 2,2 milhões, ou seja, 4%, são irrigados (MENDES, 2007). No Nordeste, a irrigação é particularmente importante por permitir o cultivo em áreas que não seriam cultiváveis devido à semi-aridez (LOILA, 2001).

O caupi é a cultura de grãos mais importante do semi-árido brasileiro. Embora seja cultivada principalmente em regime de sequeiro, nos últimos anos tem sido utilizada em regime irrigado, como cultura de rotação a outra de maior valor econômico, com objetivo de aproveitar a adubação residual e os preços favoráveis dos períodos de entressafra (SANTOS et al., 2000). Segundo Gallaher e McSorley (1993), o uso do caupi em sistemas de produção tropicais precisa levar em conta sua reação ao nematóide das galhas, pois essa cultura pode sofrer significativas perdas de produção e ainda causar o aumento populacional do nematóide, na dependência da reação da cultivar de caupi. Esses autores atribuem reduzida importância a outros fitonematóides que ocorrem na cultura, como *P. brachyurus*, *P. scribneri* Steiner, *Paratrichodorus minor* (Colbran) Siddiqi e *Criconebella ornata* (Raski) Luc & Raski.

As perdas de produção causadas por fitonematóides podem ser reduzidas com o adequado planejamento da seqüência de culturas, razão por que estudos nesse sentido são abundantes no sudeste dos Estados Unidos, região em que os nematóides mais freqüentes em áreas agrícolas são *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *M. incognita*, *P. scribneri* e *P. brachyurus*. No entanto, são poucas as culturas adaptadas ao clima quente e úmido da região, como milho (*Zea mays* L.), soja [*Glycine max* (L.) Merr.], amendoim (*Arachis hypogaea* L.), caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] (MCSORLEY; GALLAHER, 1992). As informações sobre manejo de fitonematóides obtidas no sudeste dos Estados Unidos podem ser úteis para as condições do Brasil, em função das similaridades em relação aos fitonematóides e às culturas. Porém, há fortes indícios de que *P. brachyurus* desempenha papel mais relevante no Brasil do que no sudeste dos Estados Unidos para algumas culturas, como o caupi (Capítulo 2).

5.2.2 Material e Métodos

O local em que foi realizado o estudo é propriedade agrícola (Fazenda Tabuleirinho) situada no município de São Felix do Coribe, estado da Bahia, com 400 ha de área irrigada por meio de 4 pivôs centrais, cada um abrangendo área de 100 ha. Cada pivô é dividido, para fins de manejo agrícola, em dois talhões, chamados Alto e Baixo e com 50 ha cada (Figura 5.1). A área vinha sendo cultivada com algodão (*Gossypium hirsutum* L. cultivar Acala 90 até 1999 e Delta Opal a partir de 2000) no primeiro semestre do ano, com milho pipoca (cultivar Zélia) no segundo e, de acordo com seu arrendatário, em 2001 se manifestaram os primeiros sintomas da ocorrência de fitonematóides (galhas radiculares nas raízes de algodoeiro) e em 2001 se verificaram as

primeiras perdas de produtividade na cultura do algodão, que passou de 320 @ por ha em 2000 para 280 @ em 2001 e 240 @ em 2002. Tais perdas foram atribuídas pelo arrendatário ao aumento da incidência de fitonematóides e, de fato, coletas feitas ainda em 2001 (mês de junho) nos pivôs 1 e 4 da Fazenda Tabuleirinho mostraram elevadas populações de seis espécies de fitonematóides [número de indivíduos por 200 cm³ de solo processado pelo método de Jenkins (1964): 150 *P. minor*, 230 *Pratylenchus brachyurus*, 970 *Criconemella onoensis* (Luc) Raski & Luc + *C. ornata* e 150 *Meloidogyne incognita* no pivô 1; 170 *P. minor*, 80 *P. brachyurus*, 240 *Helicotylenchus dihystra* (Cobb) Sher, 110 *Criconemella onoensis* + *C. ornata* e 460 *M. incognita* no pivô 4]. Em 2004, devido à redução excessiva na produtividade do algodão e ao efeito do milho no crescimento ou manutenção dos fitonematóides, essas culturas foram substituídas por soja e caupi.

Figura 5.1 – Planta baixa da Fazenda Tabuleirinho, situada no município de São Felix do Coribe, estado da Bahia, com 400 ha de área irrigada por meio de quatro pivôs centrais, cada uma abrangendo área de 100 ha. Cada pivô é dividido, para fins de manejo agrícola, em dois talhões, chamados Alto e Baixo e com 50 ha cada

Os dados apresentados (densidades populacionais dos fitonematóides durante os ciclos culturais e produtividades das culturas) foram fornecidos pela própria Fazenda Tabuleirinho e compreendem o período de 2003 a 2005. Durante esses anos, a Fazenda Tabuleirinho realizou avaliações populacionais sistemáticas, por meio de duas coletas anuais nos oito talhões, discriminados como Pivô 1 Baixo, Pivô 1 Alto, Pivô 2 Baixo, Pivô 2 Alto, Pivô 3 Baixo, Pivô 3 Alto, Pivô 4 Baixo e Pivô 4 Alto.

A primeira coleta foi feita em maio de 2003, logo após o plantio do algodão, que recebeu os tratos culturais usuais adotados pela propriedade, exceto aplicação do nematicida aldicarbe (Temik 150G; 13,3 Kg do produto comercial por ha) por ocasião da semeadura nos talhões dos Pivôs 1, 2 e 3. O nematicida não foi utilizado no Pivô 4, pois o plantio de amendoim no ciclo anterior havia reduzido a população de *M. incognita* (Tabela 5.1). A coleta seguinte foi 95 a 97 dias após o plantio (dap) do algodão (agosto ou setembro de 2003, dependendo do talhão) e as seguintes durante o desenvolvimento das culturas: milho em março de 2004 (95 a 97 dap); algodão em agosto de 2004 (113 a 119 dap); soja em fevereiro de 2005 (57 a 70 dap); caupi em setembro de 2005 (60 a 65 dap). Segundo informações dadas pelos coletores, cada talhão foi percorrido em ziguezague, para a retirada de 40 a 50 amostras de solo e raízes (exceto na primeira coleta, em que se coletou somente solo), com auxílio de trado e enxadão e na faixa de 0-20 cm de profundidade. Do total de material coletado de cada talhão, foi retirada uma parcela, a amostra composta, formada por 500 cm³ de solo e 40 gramas de raízes, que foi enviada ao laboratório localizado em Piracicaba para processamento, cerca de 10 dias após a coleta. Da amostra composta, processaram-se 200 cm³ de solo por Jenkins (1964) e 5 gramas de raízes pelo método de Coolen e D'Herde (1972).

Tabela 5.1 - Culturas implantadas durante o período do estudo (2003 a 2005), incluindo o ciclo cultural anterior (2003 - 1º semestre)

Pivô	Setor	2003 1º sem.	2003 2º sem.	2004 1º sem.	2004 2º sem.	2005 1º sem.	2005 2º sem.
1	Baixo					Soja	
1	Alto					cv. Garantia	
2	Baixo					Soja cv. Conquista	
2	Alto	Milho pipoca cv. Zélia	Algodão cv. Delta Opal com Temik	Milho pipoca cv. Zélia	Algodão cv. Delta Opal	Soja cv. Garantia	Caupi cv. Tuiuiú
3	Baixo					Soja cv. Garantia	
3	Alto					Soja cv. Conquista	
4	Baixo					Soja	
4	Alto	Amendoim	Idem; sem Temik			cv. Conquista	

5.2.3 Resultados e Discussão

As populações dos fitonematóides, com exceção de *P. minor*, mantiveram-se em patamares elevados no solo durante todo o período deste estudo, predominantemente na faixa de 500 a 4.000 espécimes por 200 cm³. As populações nas raízes apresentaram maior oscilação (Figura 5.2), porventura por causa da diferença de desenvolvimento radicular das plantas cultivadas na Fazenda Tabuleirinho. Para dimensionar a questão, é apresentado o resultado de um pequeno teste, realizado em 2003 em outra propriedade com características semelhantes à Fazenda Tabuleirinho, quais sejam cultivo irrigado de algodão e milho, com elevada infestação de fitonematóides, principalmente *M. incognita* e *P. brachyurus*. Delimitou-se área de 1 m² (1 x 1 m) em milharal com 70 dap e algodoal com 90 dap, para retirada das raízes de milho ou algodoeiro até a profundidade de 20 cm. No milharal, o tamanho das plantas era uniforme, mas havia grandes reboleiras com plantas de porte reduzido no algodoal, devido à ação dos fitonematóides; por essa razão, esse trabalho foi feito para as duas situações, plantas normais (fora das reboleiras) e enfezadas (dentro de uma das reboleiras). Foram obtidos 436 gramas de raízes de milho, 92 gramas de raízes de algodoeiros normais e 43 gramas de algodoeiros enfezados.

Na primeira coleta (antes da germinação do algodão, em maio de 2003), *Criconemella onoensis* + *C. ornata* foram as espécies mais abundantes, mas foram ultrapassadas por *M. incognita* na coleta seguinte (algodão, agosto e setembro de 2003).

Figura 5.2 – Densidades populacionais médias de *Pratylenchus brachyurus* (P), *Meloidogyne incognita* (Mi), *Paratrichodorus minor* (Pm), *Helicotylenchus dihystra* (Hd) e *Criconebella onoensis* + *C. ornata* (Co) nos pivôs da Fazenda Tabuleirinho no início do estudo (Pi) e durante o desenvolvimento das culturas

O milho (março de 2004) promoveu notável aumento populacional de *P. brachyurus* e, em menor escala, *M. incognita* e *H. dihystra*; as demais espécies diminuíram em número. A Figura 5.3 mostra que a participação do milho no aumento populacional de *M. incognita* não foi uniforme nos talhões, pois tal evento se verificou apenas nos Pivôs 2 Baixo, 3 Alto e 4 Alto, considerando a população no solo, e Pivô 3 Alto, considerando a população nas raízes.

Figura 5.3 - Densidades populacionais de *Meloidogyne incognita* nos Pivôs 1, 2, 3 e 4 (B = Baixo, A = Alto) da Fazenda Tabuleirinho no início do estudo (Pi) e durante o desenvolvimento das culturas

Para *P. brachyurus*, o papel do milho de 2004 foi ainda mais significativo, pois os picos populacionais do nematóide no solo e nas raízes em todos os talhões foram sob milho (Figura 5.4). Os presentes resultados estão de acordo com os da literatura, pois altas densidades populacionais de *M. incognita* e *P. brachyurus* sob milho têm sido repetidamente relatadas em condições de campo (GALLAHER et al., 1991; MCSORLEY; GALLAHER, 1992).

A segunda coleta de 2004, em agosto (algodão), permitiu aumento populacional de todas as espécies, exceto *P. brachyurus* (Figura 5.2). A diminuição populacional de *P. brachyurus* nessa coleta pode indicar que o algodão é hospedeiro menos favorável do nematóide que milho ou que a espécie atingiu o limite biológico para crescimento populacional sob milho, sofrendo natural decréscimo a partir desse ponto. De fato, sabe-se que o fator de reprodução ($FR = P_f/P_i$) dos fitonematóides depende tanto da planta hospedeira como da população inicial (P_i); e que o FR decresce à medida que aumenta a P_i (MCSORLEY; GALLAHER, 1992). Como as populações de *P. brachyurus* sob milho eram muito elevadas, ultrapassando 3.500 espécimes por 200 cm³ de solo no Pivô 3 Alto e 20.000 espécimes por 5 gramas de raízes no Pivô 1 Baixo (Figura 5.4), é preciso considerar a hipótese de que o decréscimo verificado sob algodão tenha sido reflexo de uma P_i excessiva.

Todos os fitonematóides decresceram sob soja (fevereiro de 2005; Figuras 5.2 e 5.3). A redução de *M. incognita* sob soja pode ser atribuída em parte à resistência genética das cultivares de soja utilizadas, a saber, Conquista e Garantia, pois a soja é boa hospedeira de *M. incognita* (MCSORLEY; GALLAHER, 1992).

Na coleta seguinte, sob caupi (setembro de 2005), todos os nematóides voltaram a crescer, considerando a população no solo, em concordância com estudo de campo de Gallaher e McSorley (1993), que verificaram aumento populacional de *M. incognita*, *P. minor*, *Pratylenchus* spp. (população mista de *P. brachyurus* e *P. scribneri*) e *Criconemella* spp. [população mista de *C. ornata* e *C. sphaerocephala* (Taylor) Luc & Raski] durante o ciclo cultural de sete cultivares de caupi.

Figura 5.4 – Densidades populacionais de *Pratylenchus brachyurus* nos Pivôs 1, 2, 3 e 4 (B = Baixo, A = Alto) da Fazenda Tabuleirinho no início do estudo (Pi) e durante o desenvolvimento das culturas

Não foi possível estabelecer correlação entre as densidades populacionais de *M. incognita* e *P. brachyurus* com as produtividades agrícolas das culturas no período estudado, porventura pelo pequeno número de observações ou porque todos os talhões apresentaram populações muito elevadas dessas espécies durante todo o período de estudo. As outras espécies, como *C. ornata*, não foram avaliadas nesse particular, pois provavelmente não causam perdas de produção a culturas extensivas (MCSORLEY; GALLAHER, 1992).

Procurou-se, então, confrontar as produtividades agrícolas obtidas com as esperadas pelo arrendatário. Nesse enfoque, verificou-se que o efeito dos fitonematóides se deu principalmente sobre o algodão, pois na situação em questão (cultivar Delta Opal e cultura irrigada), a produtividade esperada era de 280 a 320 @ por ha, segundo o arrendatário, mas ficou entre 150,8 e 198,4 (média de 178,8) em 2003 e entre 93,5 e 149,1 (média de 120,4) em 2004. Foi exatamente em função dessa percepção que o arrendatário da Fazenda Tabuleirinho deixou de plantar algodão depois de 2004 (Tabela 5.2).

O efeito dos fitonematóides sobre o milho pipoca cv. Zélia provavelmente foi pequeno, pois para as produtividades esperadas eram de 50 a 60 sacas de 60 kg por ha e as obtidas de 44,2 a 62,9 (média de 53,8). Confirmou-se assim a tolerância do milho aos nematóides das galhas e mesmo a *P. brachyurus*. O fitonematóide mais importante do milho, *P. zae* Graham (PINOCHET, 1986), ocorreu em conjunto com *P. brachyurus*, mas em proporção reduzida (< 10% da densidade de *P. brachyurus*), provavelmente porque a cultura anterior, algodão, é hospedeira de *P. brachyurus*, mas não de *P. zae*. A ausência de perdas atribuíveis aos fitonematóides pode ter ocultado seu papel na manutenção de elevadas densidades populacionais dos fitonematóides. O milho pode, portanto, ser considerado participante ativo e insidioso do processo que resultou nas perdas de produção de algodão em 2003 e 2004. Foi possivelmente por ter essas informações à disposição que o arrendatário da Fazenda Tabuleirinho deixou de plantar milho depois de 2004.

Tabela 5.2 - Produtividade das culturas implantadas durante o período do estudo (2003 a 2005), incluindo o ciclo cultural anterior (2003 - 1º semestre)

Pivô	Setor	Milho 2003 sacas / há	Algodão 2003 @ / ha	Milho 2004 sacas / ha	Algodão 2004 @ / ha	Soja 2005 sacas / ha	Caupi 2005 sacas / ha
1	Baixo	48,1	150,8	45,3	111,0	41,4	12,6
1	Alto	60,9				58,1	14,0
2	Baixo	57,5	182,7	44,3	93,5	46,8	14,2
2	Alto	64,5				61,8	15,9
3	Baixo	61,0	198,4	62,9	149,1	53,0	18,2
3	Alto	70,5				58,7	18,7
4	Baixo	120,0	183,3	62,6	128,2	62,6	-
4	Alto	(amendoim)				61,2	12,1

Apesar de tanto *M. incognita* como *P. brachyurus* serem capazes de se reproduzir (GALLAHER; MCSORLEY, 1992) e serem potencialmente capazes de causar perdas à soja e, além disso, a cultura anterior, algodão, ter mantido ambos em patamares populacionais elevados, as produtividades agrícolas obtidas foram próximas das esperadas para as cultivares Conquista e Garantia: 60 a 70 sacas de 60 kg por ha esperadas e 41,4 a 62,6 obtidas (média de 55,4). A resistência e tolerância dessas cultivares a *M. incognita* provavelmente contribuíram para minimizar as perdas. Na opinião do arrendatário, a produção real foi menor que a esperada por causa da ação de *P. brachyurus*, pois ele observou a ocorrência de muitas plantas apresentando radículas escuras.

Considerando a produtividade esperada para caupi Tuiuiú (= BRS Paraguaçu), que seria na faixa de 18 a 19 sacas de 60 kg por ha, e comparando-se com a obtida, 12,1 a 18,7 (média de 15,1), podem-se ver indícios do efeito negativo dos fitonematóides. O restrito conhecimento disponível sobre as relações entre caupi e *P. brachyurus* dão conta de que o nematóide pode causar perdas de produção ao caupi (Capítulo 2) e de que, de maneira geral, os genótipos brasileiros de caupi são suscetíveis ou pouco resistentes ao nematóide (Capítulo 3). Portanto, *P. brachyurus* pode ter causado parte das perdas verificadas no presente caso. Embora se desconheça a resposta das cultivares brasileiras atuais frente aos nematóides das galhas, a literatura tem mostrado que *M. incognita* é o nematóide potencialmente mais daninho a cultura em questão (GALLAHER; MCSORLEY, 1993; PINOCHET, 1986).

5.3 Conclusões

O regime irrigado sob pivô central, pelo fato de as culturas se sucederem continuamente, constitui sistema de produção agrícola que propicia condições para a manutenção de elevadas densidades de nematóides polípagos. Os nematóides *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus brachyurus*, por apresentarem essa característica e ainda serem patogênicos a várias culturas, são particularmente importantes. O milho deve ser excluído de regimes irrigados em áreas infestadas por *M. incognita* e *P. brachyurus*, pois promove expressivos aumentos populacionais de ambos. Em áreas irrigadas e infestadas com *M. incognita* e *P. brachyurus*, a implantação da cultura do caupi deve prever a adoção de medidas de manejo para ambas as espécies.

Referências

- COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent, Belgian: State of Nematology and Entomology research Station, 1972. 77p.
- GALLAHER, R.N.; McSORLEY, R.; DICKSON, D.W. Nematodes densities associated with corn and sorghum cropping systems in Florida. **Supplement Journal of Nematology**, Riverde, v.23, p. 668-672, 1991.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, p. 692, 1964.
- LOIOLA, M.L.; SOUZA, F. Estatística sobre irrigação no Brasil segundo o censo agropecuário 1995-1996. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campinas Grande, v. 5, p. 171-180, 2001.
- McSORLEY, R.; GALLAHER, R.N. Comparison of nematode population densities on six summer crops at seven sites in North Florida. **Supplement to Journal of Nematology**, Riverside, v. 24, p. 699-706, 1992.
- MENDES, A.A.T. Irrigação: Tecnologia e Produtividade. Disponível em <www.agr.feis.unesp.br/alfredo> acesso em 20 dez. 2006.
- NOE, J. Theory and practice of the cropping systems approach to reducing nematode problems in the tropics. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 20, p. 204-213, 1988.
- PINOCHET, J. Management of plant parasitic nematodes in Central America the Panama Experience. In: VEECH, J.A.; DICKSON, D. W. (Ed.). **Vistas on Nematology**. Maryland: Society of Nematologists, 1987. p. 105-113.
- SANTOS, C.A.F.; ARAÚJO, F.P.; MENEZES, E.A. Comportamento produtivo de caupi em regimes irrigado e de sequeiro em Petrolina e Juazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, p. 2229-2234, 2000.