

Nematoides de parte aérea

Gêneros *Aphelenchoides* e *Bursaphelenchus*

Nematoides de importância quarentenária



Cláudio **Marcelo** G. de Oliveira
Instituto Biológico

CEP 13001 970, Caixa Postal 70, Campinas, SP
marcelo@biologico.sp.gov.br

Nematologia (LFN-0512)

10 de Novembro de 2017
ESALQ/USP

<http://www.biologico.sp.gov.br/>

Secretaria de Agricultura e Abastecimento
Instituto Biológico (IB)

GOVERNO DO ESTADO
SÃO PAULO

Quando o assunto é sanidade

apta
Agência Paulista de
Tecnologia das
Agronegócios

SECRETARIA DE
AGRICULTURA E ABASTECIMENTO

O Instituto Biológico | Publicações | Notícias | Programas em P&D | Produtos e Serviços | Coleções | Pós-Graduação | Estágios

Quarta-Feira, 17 de Agosto de 2016



O Instituto Biológico

- » Missão
- » Quem somos
- » Direção
- » Unidades de pesquisa
- » Transferência do conhecimento
- » Administração
- » Centro de Memória
- » Museu
- » Organograma
- » Localização
- » Video Institucional

Home > O Instituto Biológico > Missão

Missão

Desenvolver e transferir conhecimento científico e tecnológico para o negócio agrícola nas áreas de sanidade animal e vegetal, suas relações com o meio ambiente, visando a melhoria da qualidade de vida da população.

Visão

Consolidar-se, até 2020, como um centro de referência em excelência técnico-científico nas áreas de sanidade animal e vegetal, comprometido com o desenvolvimento sustentável.

Valores

- » Comprometimento institucional e com a sociedade
- » Imparcialidade nos procedimentos internos e externos
- » Transparência da gestão

Unidades de pesquisa

Centro de P&D de Sanidade Animal

Centro de P&D de Sanidade Vegetal

Centro de P&D de Proteção Ambiental

Centro Experimental Central do Instituto Biológico

Centro de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola

Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos

Instituto Biológico



São Paulo, SP



Campinas, SP

Triagem Vegetal

LABORATÓRIOS

Acarologia

Fitopatologia

Controle biológico

Bacteriologia vegetal

Nematologia

Ciência das plantas daninhas

Entomologia econômica





Diagnóstico de nematoides parasitos de plantas

Desenvolvimento de métodos por biologia molecular para caracterização de fitonematoides e nematoides entomopatogenicos

Patogenicidade de nematoides na cultura do café

Desenvolvimento de técnicas de manejo de nematoides fitoparasitas nas principais culturas de importância econômica

- Por exemplo: resistência, solarização, hidrotermoterapia, controle químico e controle biológico

nematoides associados às plantas

- Quais partes da planta os nematoides podem parasitar?

podem afetar todas as partes da planta

órgãos subterrâneos
(raízes, rizomas, tubérculos
e bulbos)

parte aérea (caules, folhas
e flores).



Nematoides de parte aérea

Família APHELENCHOIDIDAE

Morfologia :

Estilete fino, delicado

Esôfago com metacorpo (bulbo mediano) desenvolvido e sem istmo

Glândulas em longo lobo recobrindo o início do intestino pelo lado dorsal

Subfamília APHELENCHOIDINAE

Asas caudais (bursa) ausentes

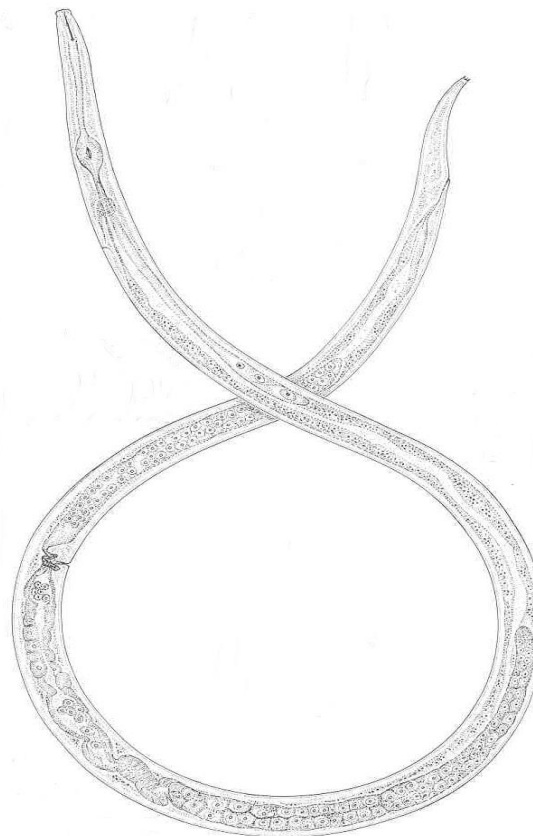
Gênero *Aphelenchoides*

Subfamília

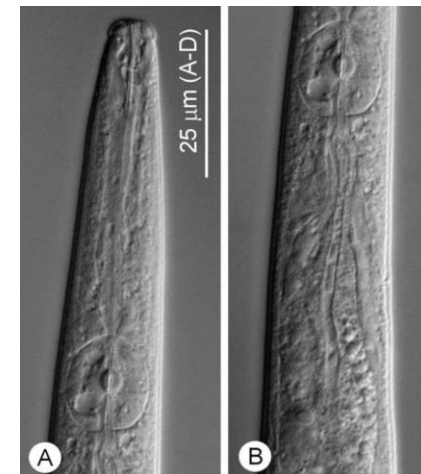
PARASITAPHELENCHINAE

Ponta da cauda do macho com bursa rudimentar

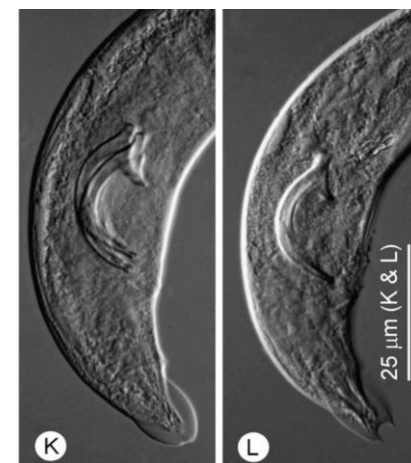
Gênero *Bursaphelenchus*



Aphelenchoides besseyi

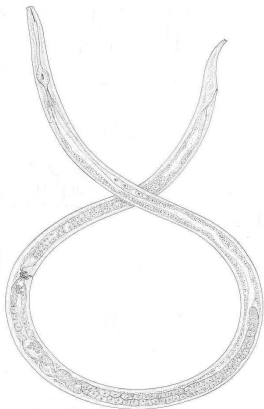


Bursaphelenchus masseyi



Nematoides de parte aérea

Aphelenchoides

Nome comum	morfologia da fêmea	Espécies	Hábito de parasitismo	Sintoma
Nematoides de parte aérea		<i>A. fragariae</i> <i>A. besseyi</i> <i>A. ritzemabosi</i>	Endo ou ectoparasito migrador	folhas com coloração anormal, necróticas e tamanho reduzido



Gênero *Aphelenchoides*

cerca de 200 espécies descritas

- embora nem todas válidas ou aceitas
- 153 espécies válidas até 2008 (Hunt, 2008)
 - +9 espécies descritas após 2008.
- incluem-se principalmente formas micófagas, ou seja, que se nutrem básica e exclusivamente de fungos

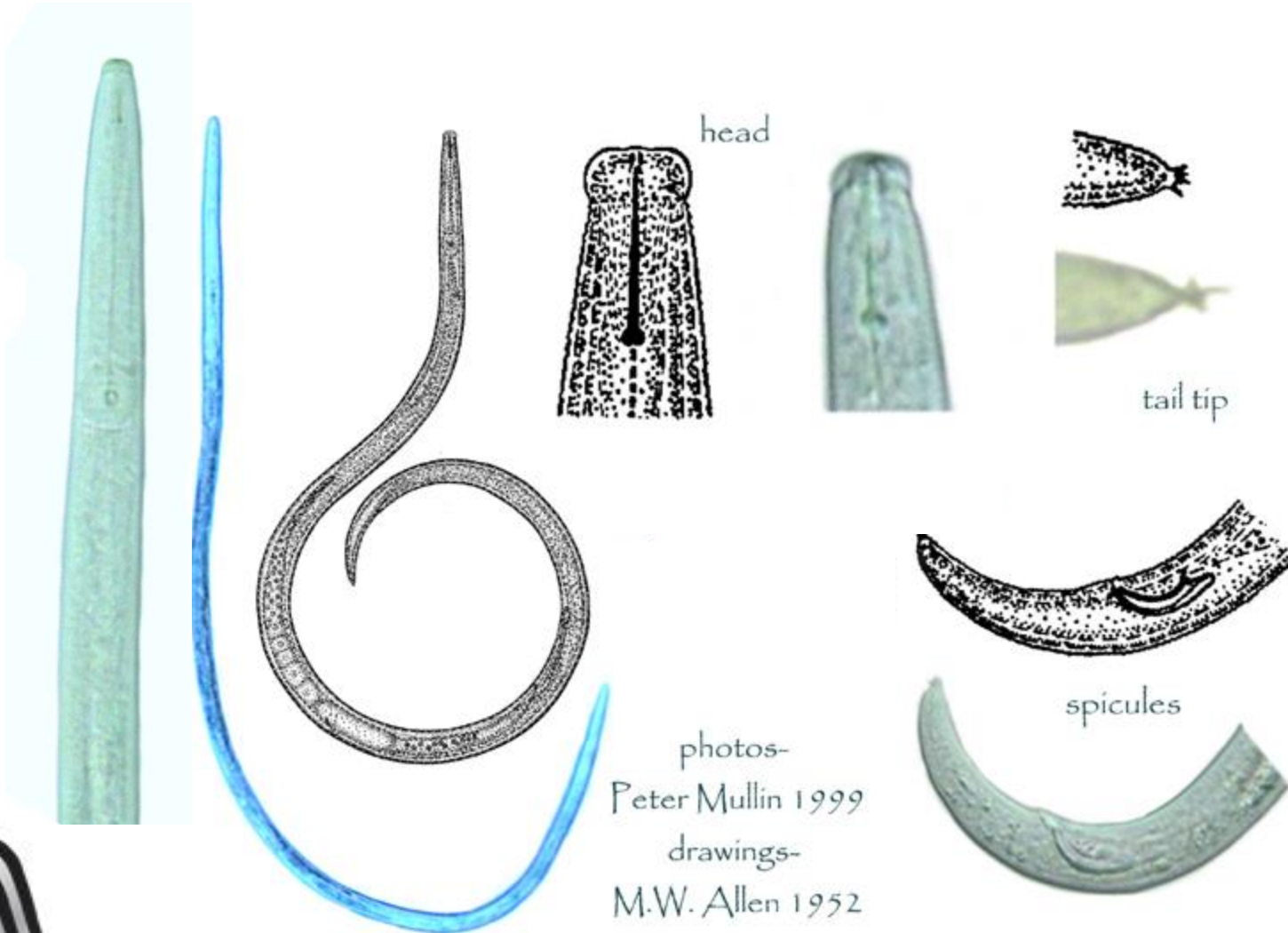
habilidade de parasitar plantas

- tecidos dos órgãos aéreos, chegando a causar danos e perdas consideráveis em muitos casos.
- *Aphelenchoides besseyi*, *A. fragariae*, *A. ritzemabosi* e *A. arachidis*

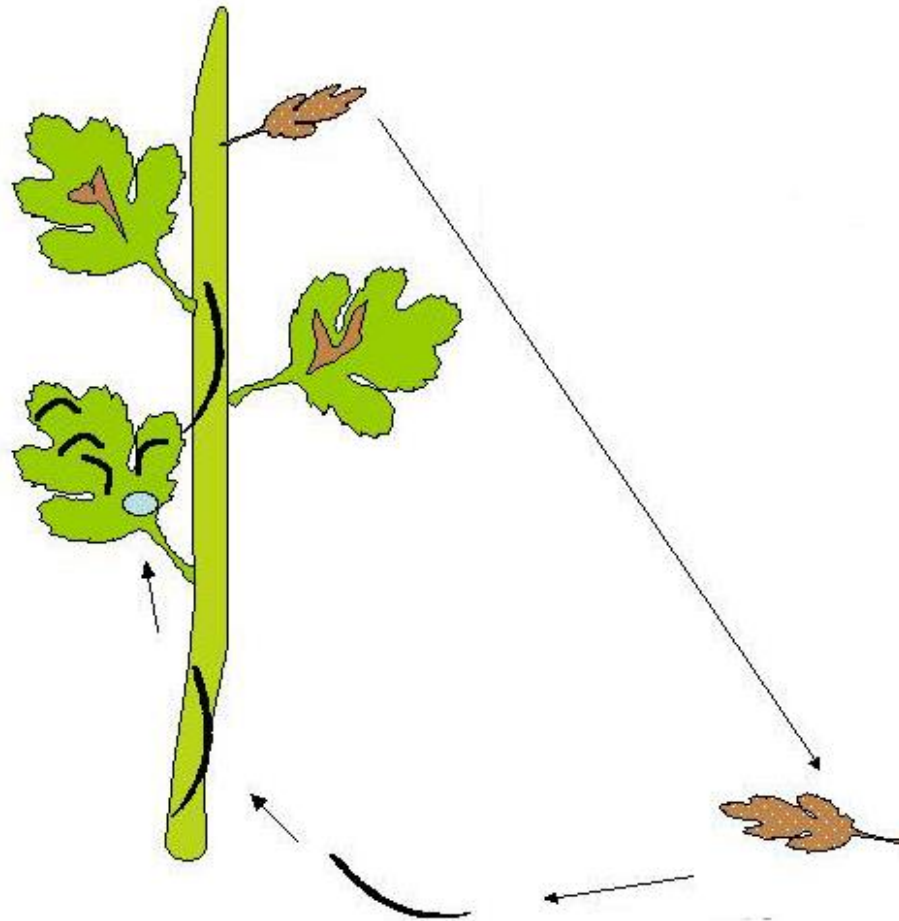
associação de espécies de *Aphelenchoides* com sementes de gramíneas forrageiras produzidas no Brasil



Aphelenchoides besseyi



Ciclo de *Aphelenchoides* em ornamentais



8 dias

T= 23°C

Aphenchoides besseyi em folhas de morango e arroz



Ataque de *Aphelenchoides* em begônia



Folíolo de *Schefflera* com *Aphelenchoides* sp.



Aphelenchoides em folhas de *Asplenium*



*Crisântemo com lesões necróticas em forma de V causadas por
Aphelenchoides ritzemabosi.*



violeta com *Aphelenchoides ritzemabosi*



Aphelenchoides fragariae em folhas de lírio



Aphelenchoides fragariae e *A. ritzemabosi* em folhas de orquídea

A-C: Plantas de
Cattleya hybrida
parasitada por
Aphelenchoides
fragariae;

D: orquídea híbrida
Brassolaeliocattleya
com folhas necróticas
devido ao ataque de
Aphelenchoides
ritzemabosi.



soja louca II ou “haste verde da soja”: Agente causal: *Aphelenchoides sp.*

ocorrência

em regiões quentes e de muita chuva como os
estados do
Mato Grosso,
Maranhão,
Tocantins e Pará.



Nematoide Aphelenchoides sp. visto no microscópio. Fonte: Epamig



soja louca II ou “haste verde da soja”: Agente causal: *Aphelenchoides sp.*

sintomas

observados no início da fase reprodutiva da cultura

afilamento

enrugamento

engrossamento das folhas do terço superior das plantas

As folhas com sintomas apresentam coloração mais escura e menor pilosidade em relação às normais.

As hastes podem exibir deformações e engrossamento dos nós

vagens podem apresentar lesões, rachaduras, apodrecimento e redução do número de grãos.

plantas afetadas apresentam uma alta incidência de abortamento de vagens, o que acaba induzindo uma nova floração e sintomas de superbrotamento.



Soja apresentando sintomas da doença. Fonte: Embrapa.



[fhttp://s2.glbimg.com/dAqZc3KUJmwIRGVjIJKW__VUzFE=/780x440/e.glbimg.com/og/ed/f/original/2015/06/25/soja_louca_2_um_dos_sintomas_e_a_deformacao_foliar_afilamento_e_engrossamento_das_nervuras.jpg](http://s2.glbimg.com/dAqZc3KUJmwIRGVjIJKW__VUzFE=/780x440/e.glbimg.com/og/ed/f/original/2015/06/25/soja_louca_2_um_dos_sintomas_e_a_deformacao_foliar_afilamento_e_engrossamento_das_nervuras.jpg)



Retenção Foliar



Identificação específica de *Aphelenchoides* *A. besseyi*, *A. fragariae*, *A. ritzemabosi*, *Aphelenchoides* n.sp.?

Ocorrência Maranhão, Tocantins, Pará e Mato Grosso

Manejo Movimentação do solo, incorporação de restos de cultura?
Controle rigoroso das invasoras?





[Tropical Plant Pathology](#).

October 2017, Volume 42, [Issue 5](#), pp 403–409 | [Cite as](#)

Soybean green stem and foliar retention syndrome caused by *Aphelenchoides besseyi*

Authors

[Authors and affiliations](#)

Maurício C. Meyer , Luciany Favoreto, Dirceu Klepker, Francismar C. Marcelino-Guimarães

Short Communication

First Online: 29 June 2017

1

Shares

Abstract

Soybean, the most important agricultural product in Brazil, is widely cultivated all over the country. The occurrence of green stem and foliar retention (GSFR) has been reported since the beginning of the soybean cultivation in Brazil and its potential causes were attributed to severe attack of stinkbugs or plant nutritional disorders. About two decades ago, a new type of GSFR was reported in Brazilian tropical regions of soybean production, also of an unknown cause. Several possible causes were investigated, but the presence of the nematode *Aphelenchoides* sp. in symptomatic plants was frequently observed. Koch's postulates were conducted to check whether this nematode could be the cause of the syndrome. Specimens of *Aphelenchoides* sp. were isolated from soybean plants and multiplied in colonies of the fungus *Fusarium* sp. in PDA culture medium. Nematode suspensions were inoculated onto healthy soybean plants and the typical GSFR symptoms were observed. The nematode was recovered from the inoculated plants. Based on both morphological and molecular data, we suggest that *Aphelenchoides besseyi* is the causal agent of GSFR of soybeans in Brazil, a syndrome popularly known as “Soja Louca II”.

Identificação

Características morfológicas



Pequenas diferenças
Conhecimento taxonômico

Diagnóstico molecular



Uso na rotina de laboratório de
fitossanidade



Taxonomia

Paciência

Literatura

Espécimes em boa condição de observação

Experiência: conhecimento taxonômico



CHAVE ILUSTRADA PARA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE APHELENCHOIDES JÁ ASSINALADAS NO BRASIL [baseada em características das fêmeas]

- 01** . Campo lateral com banda central delimitada por duas incisuras..... 2
 Campo lateral com mais de duas incisuras (três, quatro ou seis) 3
- 02**. Término caudal gradualmente afilado, sem mucros pontiagudos; L = 0,45-0,80 mm ***A. fragariae***
 Término caudal típico, bifurcado, com um mucro curto e outro mais longo, pontiagudos; L = 0,38-0,47 mm .
 ***A. bicaudatus***
- 03** . Ausência de machos na espécie (partenogenética); campo lateral com seis incisuras ***A. sexlineatus***
 Machos comuns na espécie (bissexual); campo lateral com três ou quatro incisuras
 4
- 04** . Campo lateral com duas bandas delimitadas por três incisuras; término caudal hemisférico com mucro
 único, pontiagudo ou digitiforme ***A. subtenuis***
 Campo lateral com quatro incisuras; término caudal conoide com dois a quatro mucros muito semelhantes
 entre si partindo praticamente do mesmo ponto 5
- 05** . Saco pós-vulvar de extensão igual à metade, ou mais, da distância da vulva ao ânus; L = 0,77-1,20 mm
 ***A. ritzemabosi***
 Saco pós-vulvar pouco desenvolvido, de extensão inferior a um terço da distância da vulva ao ânus; L =
 0,62- 0,88 mm ***A. besseyi***



Journal of Nematology 39(4):343–355. 2007.
© The Society of Nematologists 2007.

Conventional and PCR Detection of *Aphelenchoides fragariae* in Diverse Ornamental Host Plant Species

JAMIE L. MCCUISTON,¹ LAURA C. HUDSON,¹ SERGEI A. SUBBOTIN,² ERIC L. DAVIS,¹ COLLEEN Y. WARFIELD^{1,3}

Abstract: A PCR-based diagnostic assay was developed for early detection and identification of *Aphelenchoides fragariae* directly in host plant tissues using the species-specific primers AFragF1 and AFragR1 that amplify a 169-bp fragment in the internal transcribed spacer (ITS1) region of ribosomal DNA. These species-specific primers did not amplify DNA from *Aphelenchoides besseyi* or *Aphelenchoides ritzemabosi*. The PCR assay was sensitive, detecting a single nematode in a background of plant tissue extract. The assay accurately detected *A. fragariae* in more than 100 naturally infected, ornamental plant samples collected in North Carolina nurseries, garden centers and landscapes, including 50 plant species not previously reported as hosts of *Aphelenchoides* spp. The detection sensitivity of the PCR-based assay was higher for infected yet asymptomatic plants when compared to the traditional, water extraction method for *Aphelenchoides* spp. detection. The utility of using NaOH extraction for rapid preparation of total DNA from plant samples infected with *A. fragariae* was demonstrated.

Key words: *Aphelenchoides fragariae*, detection, diagnosis, foliar nematode, ITS1, method, NaOH, ornamental host, PCR, rDNA

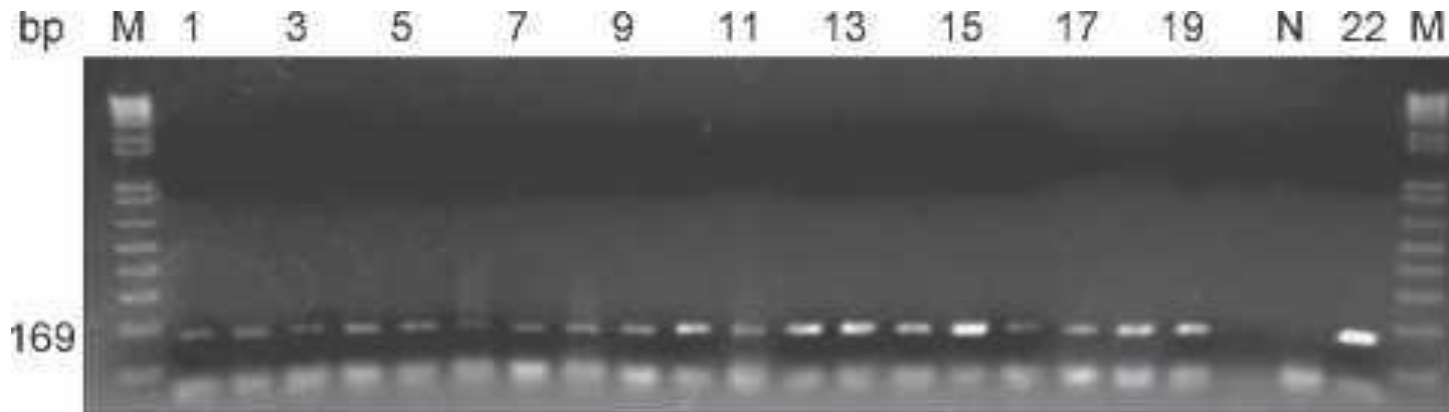


Conventional and PCR Detection of *Aphelenchoides fragariae* in Diverse Ornamental Host Plant Species

Jamie L. McCuiston, Laura C. Hudson, Sergei A. Subbotin, Eric L. Davis, Colleen Y. Warfield

Journal of Nematology 39(4):343–355. 2007

Sensitivity of *Aphelenchoides fragariae* species-specific PCR primers



Three 6-mm diam. *Asplenium nidus* (Bird's Nest Fern) leaf disks were spiked with increasing increments of individual *A. fragariae* ranging from 1 to 1,000 nematodes. Lane numbers 1 to 20 correspond to the number of nematodes in each DNA extraction (1 to 19 nematodes are shown). No amplification product was obtained with the 20 nematode extraction due to a processing error (Lane 20). Lane M contains DNA molecular size marker, lane N contains the PCR reaction without DNA template and lane 22 contains the PCR reaction with known *A. fragariae* DNA.

Taxonomia integrativa de espécies de *Aphelenchoides* associadas a sementes de gramíneas forrageiras e desenvolvimento de diagnóstico baseado em PCR em tempo real



Dalila Seni de Jesus, UFV-MG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA



Taxonomia integrativa de espécies de *Aphelenchoides* associadas a sementes de gramíneas forrageiras e desenvolvimento de diagnóstico baseado em PCR em tempo real

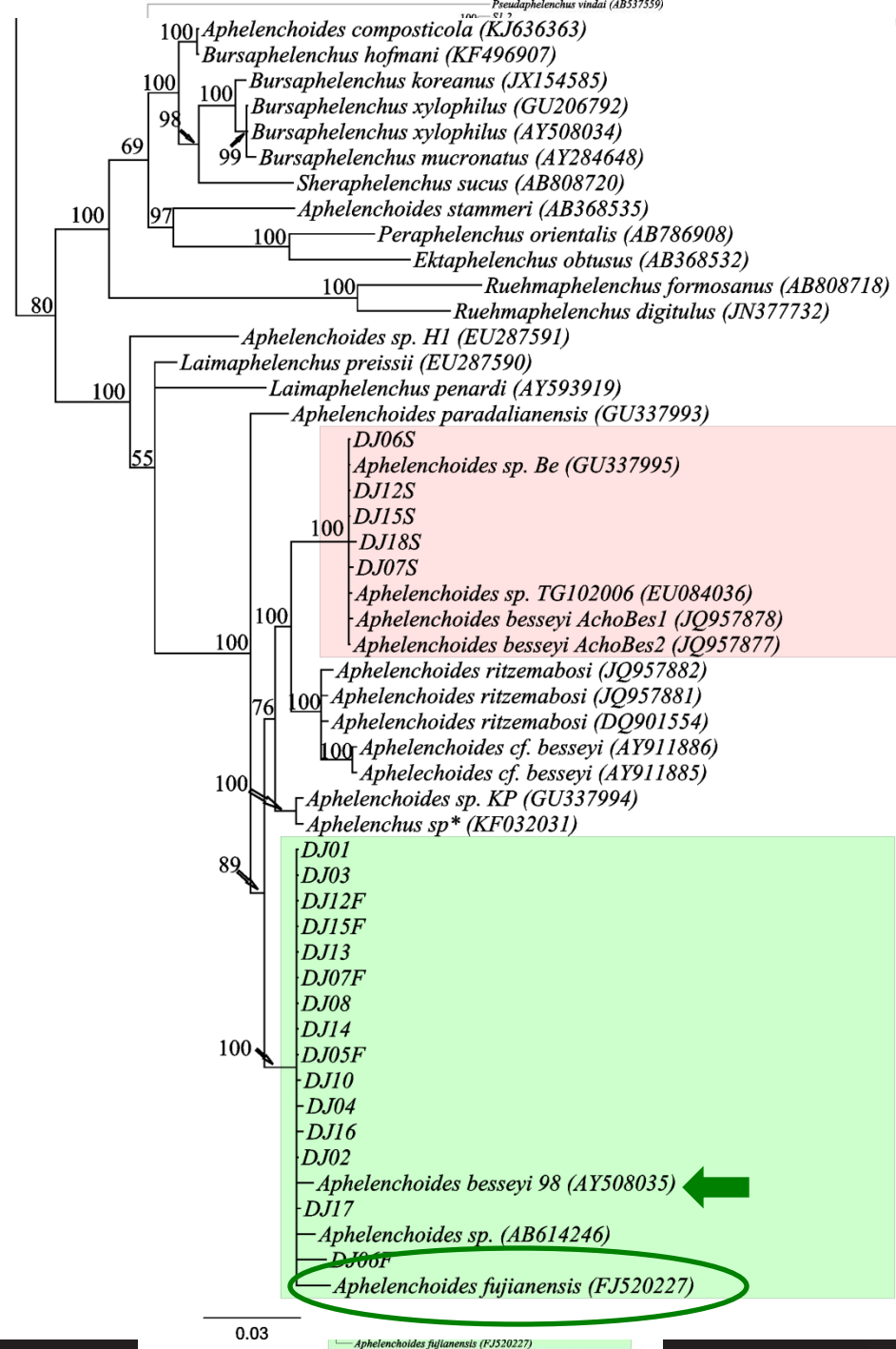
D. Sc. Dalila Sêni de Jesus

Orientadores: Dr^a Rosângela D'Arc de Lima Oliveira

Dr. Claudio Marcelo Gonçalves de Oliveira



associação paulista produtores de sementes



Grupo-arroz

Grupo-forrageira

Gene SSU



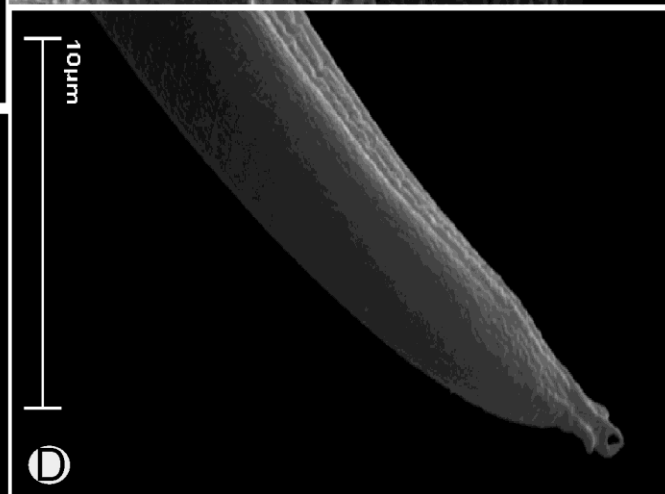
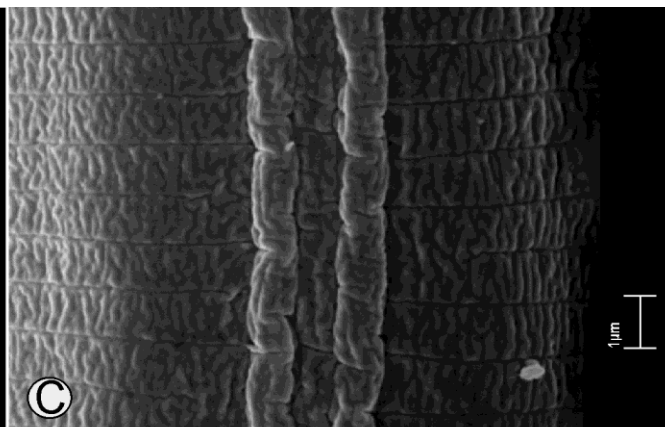
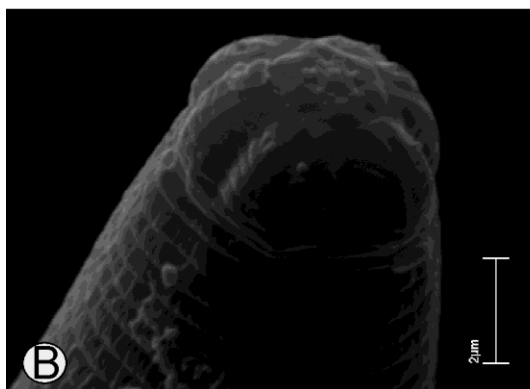
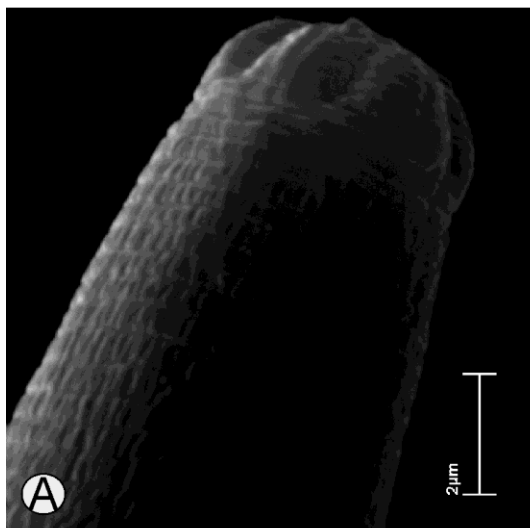


Espécie	L (μm)	Estilete (μm)	PVS /VA%	a	c	c'	Cauda (μm)	Forma da cauda	Posição do poro excretor em relação ao anel nervoso	Ovário	Espículos
<i>A. fujianensis</i> / grupo forrageira ^b	603,0-868,5 ^a	12,3-12,8	31,0-34,7	30,5-38,4	15,5-19,2	2,9-3,7	36,1-50,7	conoide, ligeiramente curvada ventralmente , múcron em forma de estrela, com 4 processos terminais	na altura do anel nervoso	curto , com arranjo das células em duas fileiras	Machos ausentes
<i>A. besseyi</i> grupo arroz ^c	654,6-751,2 ^a	10,9-11,7	22,0-35,6	42,8-49,0	15,6-17,5	4,0-4,5	39,1-48,2	conoide, múcron em forma de estrela com 4 processos terminais	variável, podendo ser anterior, na altura ou ligeiramente posterior ao anel nervoso	curto , com arranjo das células em duas fileiras	14,1-18,3 μm; côndilo arredondado ligeiramente destacado do limbo dorsal
<i>A. besseyi</i> (Christie ,1942)	660-750	n/d	33	32-42	17,0-21,0	n/d ^d	34-37	conoide,	ligeiramente anterior ao anel nervoso	curto , com arranjo das células em uma única fileira	n/d
<i>A. besseyi</i> (Fortuner, 1970)	681-683	11,7-11,9	2,5-3,0 vezes o diâmetro do corpo	47,7-58,8	17,1-17,7	4,2 ^f	38,6-39,8	Conoide, com 4 processos terminais	anterior ou na altura do anel nervoso	curto , com arranjo das células de 2-4 fileiras	17-21 μm; côndilo ausente
<i>A. fujianensis</i> (Zhuo et al., 2010)	803-941	12,5-14,0	32,0-44,4	31,5-36,3	15,1-18,2	3,5-4,4	46-58	Conoide, ligeiramente curvada ventralmente , múcron em forma de estrela com 3 processos terminais	anterior ou na altura do anel nervoso	longo , com arranjo das células em 1-2 fileiras	24-30 μm; côndilo curto e arredondado





Grupo-forrageira (*A. fujianensis*)



4 linhas no
campo
lateral

cauda 4
processos
terminais

Região labial
destacada e
expandida





CONCLUSÕES

- ✓ As análises filogenéticas comprovaram a ocorrência de uma espécie geneticamente distinta de *A. besseyi* associada às sementes de gramíneas forrageiras.
- ✓ Esta outra espécie, baseado nos marcadores SSU e COI, trata-se de *A. fujianensis* (primeiro relato no Brasil).
- ✓ A caracterização morfológica das populações de *A. besseyi* (grupo-arroz) e *A. fujianensis* (grupo-forrageira) mostrou que estas são muito semelhantes.
- ✓ Provavelmente, *A. fujianensis* tem sido identificado como *A. besseyi* em análises fitossanitárias no Brasil devido a sua similaridade morfológica.
- ✓ O desenvolvimento de **diagnóstico molecular** capaz de discriminar ambas as espécies é **essencial**.





Ensaio de qPCR

- **Master mix** (Precision Fast 2X Real-Time PCR - Primerdesign Ltda)
- **Mix sonda + primers** (- Primerdesign Ltda)
- **DNA** do nematoide teste
- **Água** esterilizada





Ensaio de qPCR



✓ Visualização das curvas de amplificação e curvas padrão no programa StepOne versão 2.1 (Applied Biosystems).

Condições de amplificação:

Desnaturação inicial: 95 °C por 20 s,

40 ciclos

Desnaturação: 95 °C 1 s

Anelamento: 62 °C por 20 s

30 minutos !



Teste de Sensibilidade/ Especificidade – DNA de um único nematoide

Ensaaios de qPCR para detecção de *A. besseyi* e *A. fujianensis* a partir de DNA extraído de um único nematoide.

		Primers/sonda Taqman para detecção de <i>A. besseyi</i>		Primers/sonda Taqman para detecção de <i>A. fujianensis</i>	
		C _q	Nº de cópias	C _q	Nº de cópias
<i>A. besseyi</i>	(n=39)	25 ± 2	8x10 ³ ± 5x10 ³	35 ± 2 ^a	1 ± 1,5 ^a
<i>A. fujianensis</i>	(n=167)	34 ± 2	3x10 ¹ ± 5x10 ¹	24 ± 2	3,5x10 ³ ± 2,2x10 ³

^aAs amostras obtidas da população DJ18S e a amostra 304 da população DJ15F não foram consideradas para estes cálculos devido a forte reação cruzada observada.



Bursaphelenchus cocophilus

O NEMATÓIDE DO ANEL VERMELHO

Para alguns autores, o gênero *Rhadinaphelenchus* é sinônimo de *Bursaphelenchus* e a sua única espécie, *R. cocophilus*, deveria ser referida como *Bursaphelenchus cocophilus*.

Essa espécie constitui problema muito sério em áreas produtoras de palmáceas de interesse econômico:

- coqueiro (*Cocus nucifera*)
- dendezeiro (*Elais guineensis*)
- tamareira (*Phoenix dactylifera*)
- palmeira imperial (*Roystonia regia*)
- *Oenocarpus distichus*, palmácea nativa da floresta amazônica



Ocorrência de *Bursaphelenchus cocophilus*

- **América Latina:**
 - região do Caribe e da
 - América do Sul
 - No Brasil, o nematoide do anel vermelho ocorre principalmente:
 - na região Nordeste (Bahia, Pernambuco, Sergipe, Alagoas e Ceará)
 - Rio de Janeiro e São Paulo (Ilhabela).



Características morfológicas

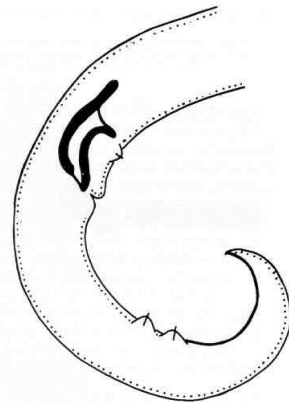
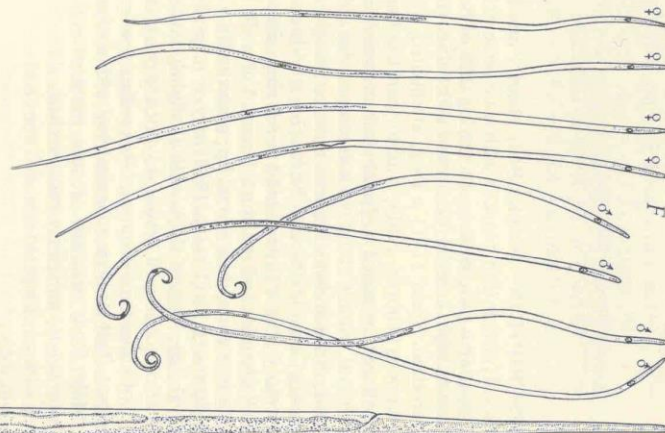
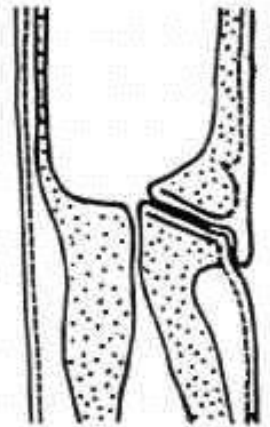
Nematoide extremamente fino

VALOR “a” (comprimento do corpo/largura) excepcionalmente alto ($a \sim 100$):

(Comprimento do corpo $\sim 1000 \mu\text{m}$ / largura $\sim 10 \mu\text{m}$)

Dimorfismo sexual pela região caudal

presença de
“flap” vulvar



Dispersão de *Bursaphelenchus cocophilus*

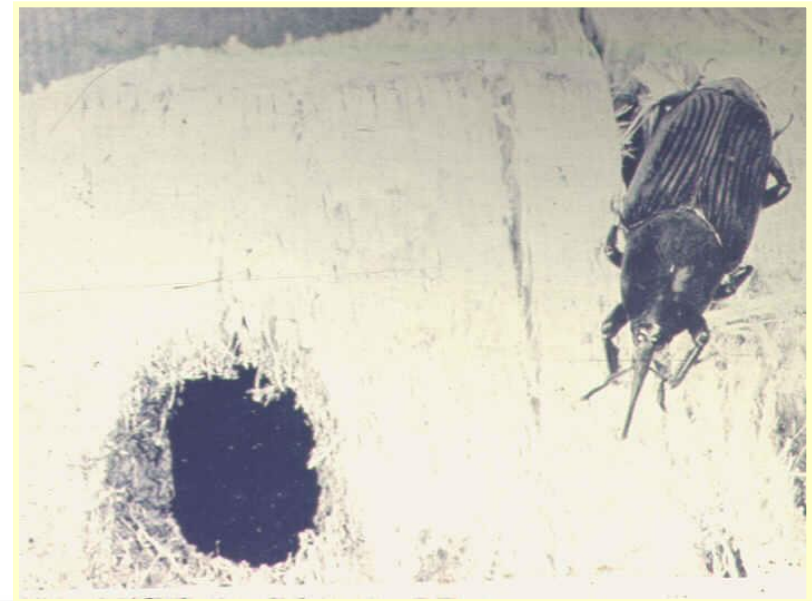
ENTOMÓFILA

Principalmente pelo coleóptero - praga
Rhynchophorus palmarum

(ATAQUE PELA PARTE AÉREA)

NO SOLO (ÁGUA)

(ATAQUE PELAS RAÍZES)

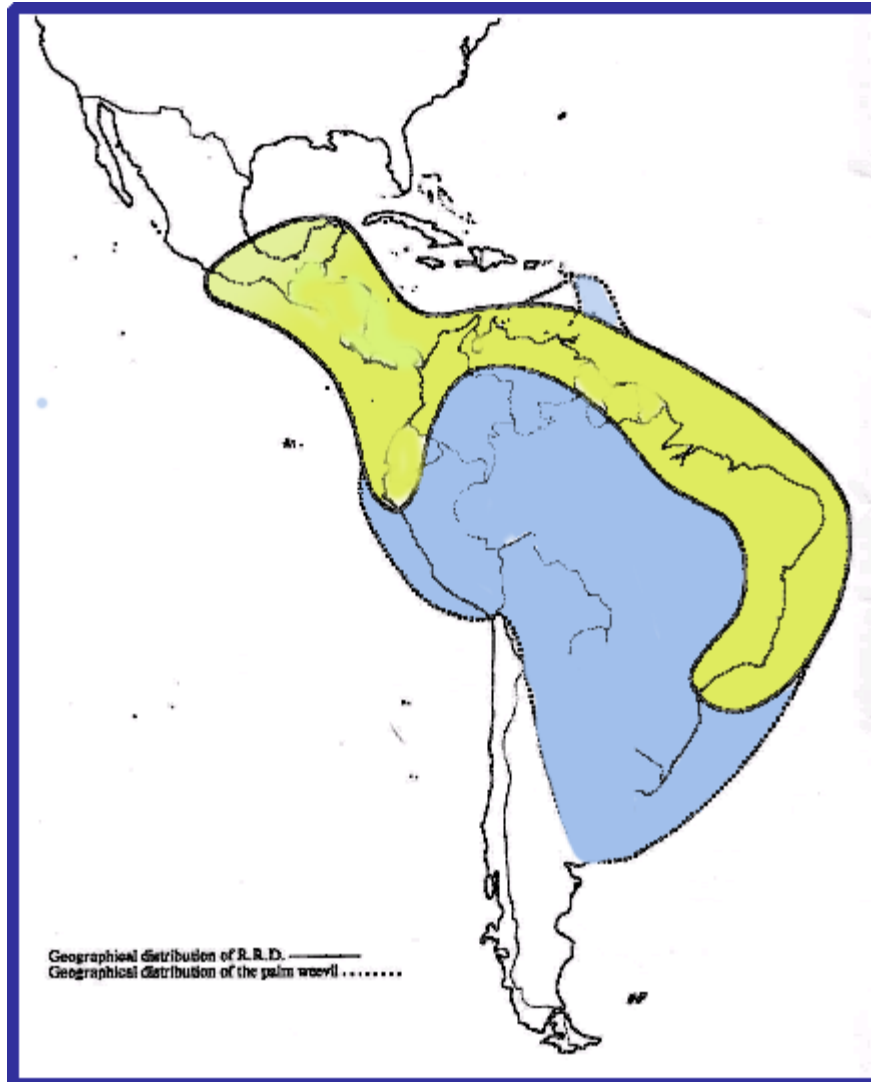


Dispersão entomófila de *Bursaphelenchus cocophilus* pelo coleóptero *Rhynchophorus palmarum*

- Fêmeas do coleóptero *Rhynchophorus palmarum* podem adquirir o nematoide ao alimentar-se de plantas doentes.
- Os nematoides ficam retidos no hemoceloma e no tubo digestivo do coleóptero vetor, migrando para a região do ovipositor.
- Ao alimentar-se de planta sadia, as fêmeas do coleóptero disseminam os nematoides durante a oviposição.
- O local preferencial da oviposição do coleóptero é região da coroa
 - a infestação de *B. cocophilus* inicia-se pelas axilas das folhas do topo das palmáceas.
 - A seguir, movimentando-se via inter e intracelular do tecido parenquimático do estipe e das folhas, propagam-se para outras partes da planta, inclusive as raízes.
 - Colapso celular: descoloração dos tecidos
 - Nematóide NÃO invade o xilema e floema, mas induz a formação de tiloses que bloqueiam o transporte de nutrientes



Distribuição geográfica do nematoide *B. cocophilus* e do besouro *R. palmarum*



nematoide *R. cocophilus*

besouro *R. palmarum*

Bursaphelenchus cocophilus em coqueiro

SINTOMATOLOGIA E DANOS

- 1. clorose progressiva, nem sempre evidente;
- 2. queda anormal de frutos, ainda imaturos;
- 3. folhas pendentes ao redor do estipe, sem se desprender dele;
- 4. murcha generalizada da planta, que fica pardo-escura em sua totalidade;
- 5. secções transversais do estipe tomadas a 0,5 ou até 1,0 m de altura revelam típica camada de células descoloridas, situada a cerca de 5 cm da borda, de tonalidade avermelhada, denominada de **“anel vermelho”**.
- **Os sintomas internos desenvolvem antes dos sintomas externos**



CLOROSE



“SAIA”





**ÁREA COM VÁRIAS PLANTAS
MORTAS POR *R. COCOPHILUS***



PLANTA RECÉM - MORTA



“ANEL VERMELHO”



Medidas de manejo

1. Eliminação imediata dos coqueiros atacados
corte e a queima

A queima das plantas eliminadas é importante, considerando se o longo período de sobrevivência do nematoide em estipes no campo.

2. Evitar o corte desnecessário de folhas do coqueiro que ainda não estejam completamente secas.

3. Ferramentas utilizadas no corte de plantas doentes ou na colheita de frutos devem ser limpas antes de serem utilizadas em plantas saudáveis.

Essa limpeza deverá ser feita pela imersão da ferramenta em solução preparada pela mistura de água sanitária (2,0% a 2,5% de cloro ativo) e água, em partes iguais.



Medidas de manejo

4. O controle efetivo da doença é feito combatendo-se o inseto vetor.

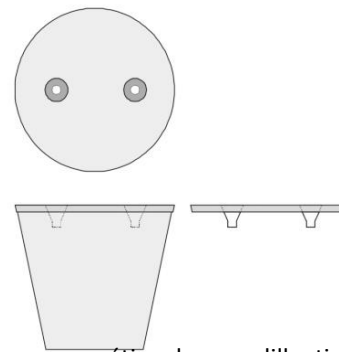
coletar e destruir pupas, larvas e adultos encontrados em plantas mortas no pomar.

armadilhas tipo alçapão

Dentro dos baldes, são colocados pedaços de colmos de cana-de-açúcar que funcionam como atrativos dos besouros que, periodicamente, são removidos e mortos.

A adição de uma calda preparada com 200 mL de melaço e 800 mL de água ou do feromônio comercial (agregação) pode aumentar a eficiência dessas armadilhas.

As iscas devem ser trocadas a cada 15 dias, quando os insetos serão coletados e destruídos.



Desenho esquemático da armadilha tipo alçapão (a): a – tampa: vista frontal; b – balde: vista lateral, e c – detalhe: vista lateral da tampa com os funis. Armadilha tipo alçapão (b), feita com balde plástico, para captura do besouro adulto, *Rhynchophorus palmarum*

Caracterizações morfológica e molecular de nematoides extraídos de fibra de coco (*Cocos nucifera*) provenientes de Belém, PA.



caracterizações morfológica e molecular de *Bursaphelenchus fungivorus* (Nematoda: Aphelenchida), detectado pela primeira vez no Brasil

18S ribosomal DNA (rDNA)

species	% of identity	GenBank code
<i>Bursaphelenchus fungivorus</i> (German)	100	AY508016.1
<i>Bursaphelenchus seani</i>	99	AY508030.1
<i>Bursaphelenchus arthuri</i>	97	AM397010.1
<i>Bursaphelenchus paraparvispicularis</i>	96	GQ421483.1
<i>Bursaphelenchus thailandae</i>	96	AM397019.1
<i>Bursaphelenchus willibaldi</i>	96	AM397021.1
<i>Bursaphelenchus cocophilus</i>	96	AY509153.1
<i>Bursaphelenchus braaschae</i>	96	GQ845409.1
<i>Bursaphelenchus vallesianus</i>	96	AM397020.1
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	96	AY508032.1
<i>Bursaphelenchus conicaudatus</i>	96	AB067757.1
<i>Bursaphelenchus clavicauda</i>	96	AB299221.1
<i>Bursaphelenchus poligraphi</i>	96	AY508028.1
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i>	95	AY508015.1
<i>Bursaphelenchus borealis</i>	95	AY508012.1

região D2 / D3 28S rDNA

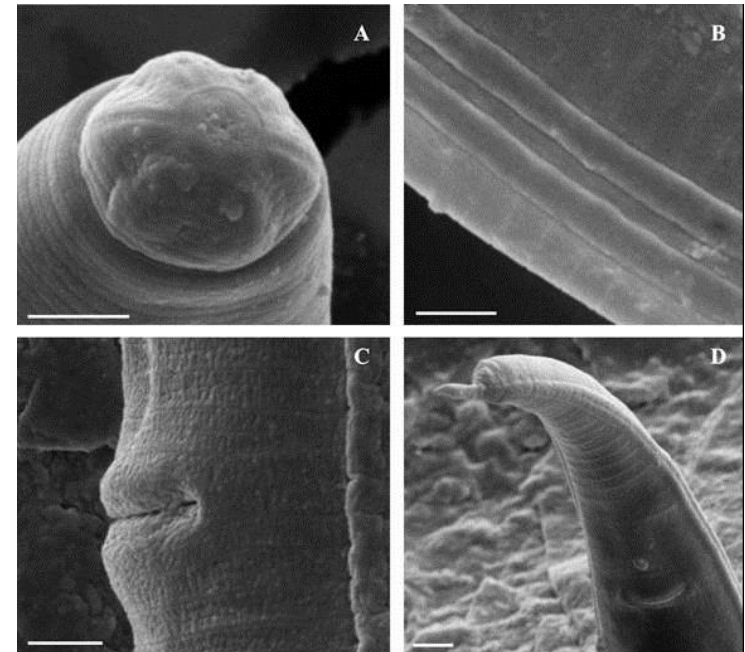
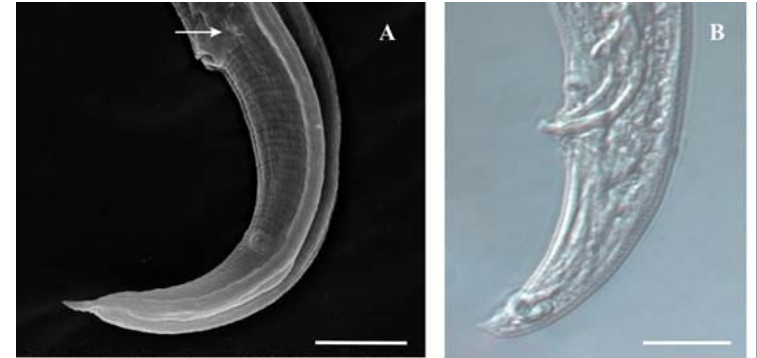
species	% of identity	GenBank code
<i>Bursaphelenchus fungivorus</i> (German)	100	AY508082.1
<i>Bursaphelenchus seani</i>	91	AY508098.1
<i>Bursaphelenchus arthuri</i>	87	AM396564.1
<i>Bursaphelenchus willibaldi</i>	87	AM396579.1
<i>Bursaphelenchus braaschae</i>	86	GQ845408.1
<i>Bursaphelenchus thailandae</i>	82	AM396577.1
<i>Bursaphelenchus rufipennis</i>	82	AB368530.1
<i>Bursaphelenchus yongensis</i>	82	AM396581.1
<i>Bursaphelenchus gerberae</i>	82	AY508092.1
<i>Bursaphelenchus anamurius</i>	82	FJ768949.1
<i>Bursaphelenchus clavicauda</i>	82	AB299222.1
<i>Bursaphelenchus hildegardae</i>	82	AM396569.1
<i>Bursaphelenchus tusciae</i>	81	AY508104.1
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	82	AY508103.1
<i>Bursaphelenchus platzeri</i>	81	AY508094.1

Trata-se da primeira ocorrência de *B. fungivorus* fora do continente europeu, ampliando a sua abrangência geográfica



caracterizações morfológica e molecular de *Bursaphelenchus fungivorus* (Nematoda: Aphelenchida), detectado pela primeira vez no Brasil

morphometric (μm)	Female (n= 14)	Male (n=13)
L (body length)	519,8 ±27 (471-566)	568,6 ± 42,3 (499,5-653,5)
stylet	12,1 ±1,1 (10-13)	11,5 ±0,8 (11,0-13,0)
Maximum body length	18,5 ±1,2 (17,5-20)	23,1 ±2,7 (17,5-27,5)
Tail	28,1 ±1,8 (26-31)	26,3 ±1,9 (22,0-29,0)
Body diameter at anus	8,7 ±1,3 (5-10)	11,9 ±1,0 (11,0-14,0)
V%	70,5 ±1,4 (68,5-73,8)	-
a	28,1 ±1,7 (25,2-31,7)	24,8 ±2,1 (22,2-29,1)
c	18,5± 0,9 (16,7-19,8)	21,7 ±1,7 (19,4-25,1)
c'	3,3±0,7 (2,9-5,6)	2,2 ±0,2 (1,8-2,6)
Spiculum	-	14,0 ±1,8 (10,0-16,0)



Nematoides de importância quarentenária

Cláudio **Marcelo** G. de Oliveira
Instituto Biológico

CEP 13001 970, Caixa Postal 70, Campinas, SP
marcelo@biologico.sp.gov.br



Lista dos 15 nematoides mais indesejáveis no mundo

Nematoide	Número de países com restrição a entrada em 2000
<u><i>Globodera rostochiensis</i></u>	106
<u><i>Aphelenchoides besseyi</i></u>	70
<u><i>Ditylenchus dipsaci</i></u>	58
<u><i>Radopholus similis</i></u>	55
<u><i>Globodera pallida</i></u>	55
<u><i>Ditylenchus destructor</i></u>	53
<u><i>Heterodera glycines</i></u>	52
<u><i>Aphelenchoides fragariae</i></u>	47
<u><i>Bursaphelenchus xylophilus</i></u>	46
<u><i>Xiphinema index</i></u>	42
<u><i>Nacobbus aberrans</i></u>	38
<u><i>Xiphinema americanum</i></u>	30
<u><i>Anguina tritici</i></u>	24
<u><i>Heterodera schachtii</i></u>	22
<u><i>Bursaphelenchus cocophilus</i></u>	21

Lista pragas quarentenária A1 – nematoda

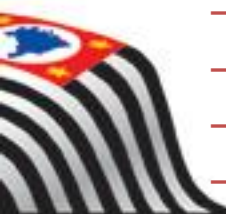
http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/vegetal/Importacao/Arquivos%20de%20Quarentenas_Pragas/Listas%20de%20Pragas%20Quarenten%C3%A1rias%20Ausentes%20-%20A1.pdf

Anguina agrostis	Meloidogyne chitwoodi
Anguina pacificae	Meloidogyne fallax
Anguina tritici	Nacobbus aberrans
Belonolaimus longicaudatus	Nacobbus dorsalis
Bursaphelenchus mucronatus	Pratylenchus crenatus
Bursaphelenchus xylophilus	Pratylenchus fallax
Criconema mutabile	Pratylenchus goodeyi
Ditylenchus africanus	Pratylenchus scribneri
Ditylenchus angustus	Pratylenchus thornei
Ditylenchus destructor	Punctodera chaltoensis
Ditylenchus dipsaci (todas as raças, exceto as do alho)	Radopholus citrophilus
Globodera pallida	Rotylenchulus parvus
Globodera rostochiensis	Subanguina radiculicola
Heterodera avenae	Xiphinema diversicaudatum
Heterodera cajani	Xiphinema italiae
Heterodera ciceri	Xiphinema rivesi
Heterodera goettingiana	
Heterodera mediterranea	
Heterodera oryzae	
Heterodera oryzicola	
Heterodera punctata	
Heterodera sacchari	
Heterodera schachtii	
Heterodera trifolii	
Heterodera zeae	



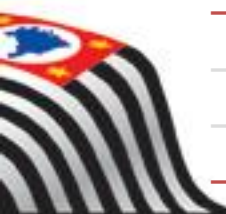
Nematoides parasitos de plantas de importância quarentenária no Brasil

- Instrução normativa Nº 38 – MAPA
- Lista de nematoides quarentenários A1
 - Não presentes no país, porém com características de serem potenciais causadoras de danos econômicos:
 - *Anguina agrostis* e *A. tritici*
 - *Bursaphelenchus xylophilus*
 - *Ditylenchus angustus*, *D. destructor* e *D. dipsaci*
 - *Globodera pallida* e *G. rostochiensis*
 - *Heterodera schachtii*, *H. punctata*, *H. oryzae*, *H. oryzicola*, *H. sacchari*, *H. trifolii* e *H. zeae*
 - *Meloidogyne chitwoodi*
 - *Nacobbus aberrans* e *N. dorsalis*
 - *Pratylenchus fallax*, *P. scribneri*, *P. thornei*, *P. crenatus* e *P. goodeyi*
 - *Punctodera chaltoensis*
 - *Radopholus citrophilus* (*R. similis*)
 - *Rotylenchulus parvus*
 - *Subanguina radicola*
 - *Xiphinema italiae*



Nematoides parasitos de plantas de importância quarentenária no Brasil

- Instrução normativa Nº 38 – MAPA
- Lista de nematoides quarentenários A1
 - Não presentes no país, porém com características de serem potenciais causadoras de danos econômicos:
 - *Anguina agrostis* e *A. tritici*
 - *Bursaphelenchus xylophilus*
 - *Ditylenchus angustus*, *D. destructor* e *D. dipsaci*
 - *Globodera pallida* e *G. rostochiensis*
 - *Heterodera schachtii*, *H. punctata*, *H. oryzae*, *H. oryzicola*, *H. sacchari*, *H. trifolii* e *H. zeae*
 - *Meloidogyne chitwoodi*
 - *Nacobbus aberrans* e *N. dorsalis*
 - *Pratylenchus fallax*, *P. scribneri*, *P. thornei*, *P. crenatus* e *P. goodeyi*
 - *Punctodera chaltoensis*
 - *Radopholus citrophilus* (*R. similis*)
 - *Rotylenchulus parvus*
 - *Subanguina radicola*
 - *Xiphinema italiae*



Nematoides parasitos de plantas de importância quarentenária no Brasil

- Instrução normativa Nº 38 – MAPA
- Lista de nematoides quarentenários A2
 - presentes no país, porém não se encontram amplamente distribuídas e possuem programa oficial de controle:
 - Nada consta!
- Lista de nematoides não quarentenários regulamentados
 - Não quarentenário cuja presença em plantas influi no seu uso proposto com impactos econômicos inaceitáveis:
 - *Meloidogyne* spp. em batata e café

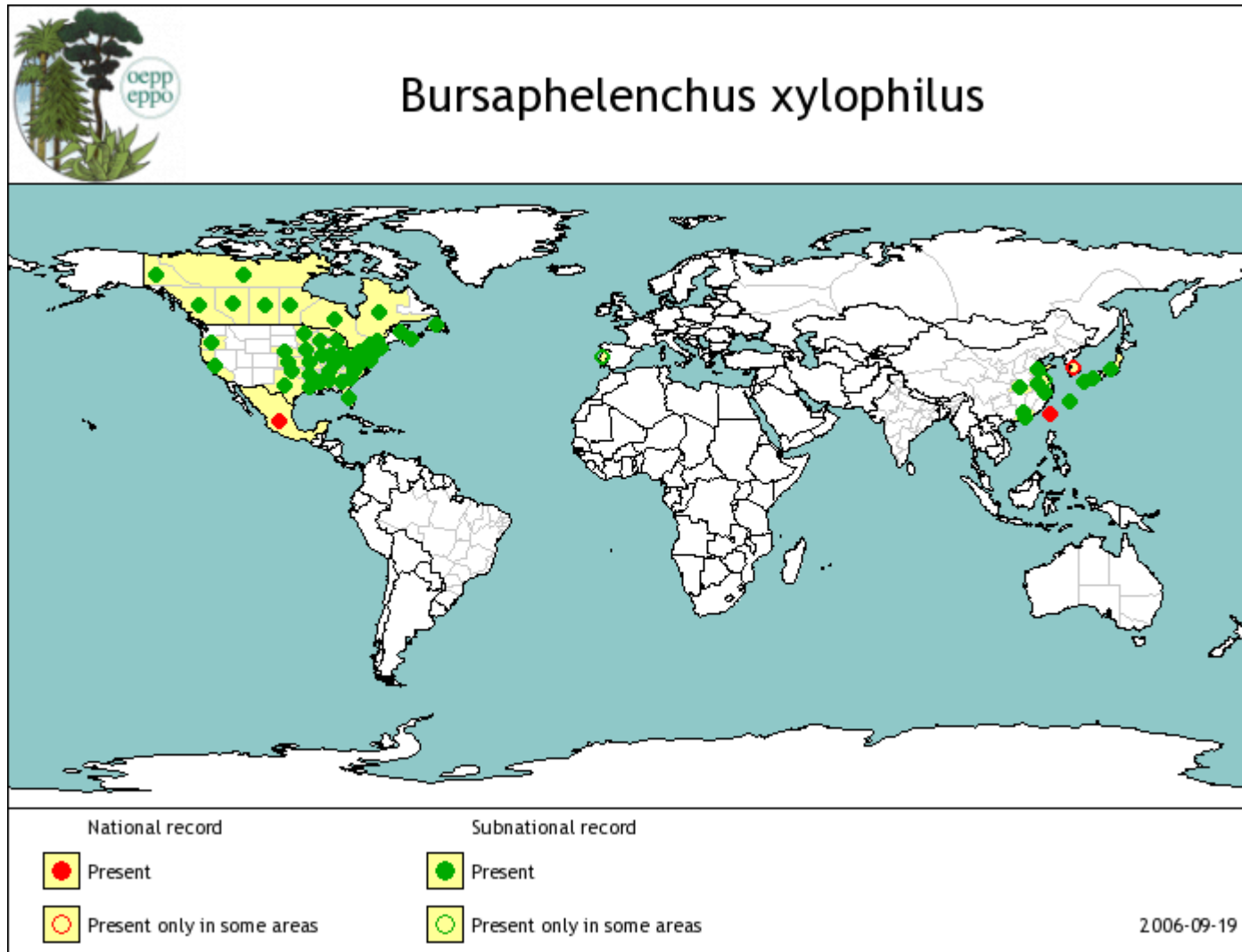


Bursaphelenchus xylophilus

O NEMATOIDE DA MURCHA DOS PINHEIROS



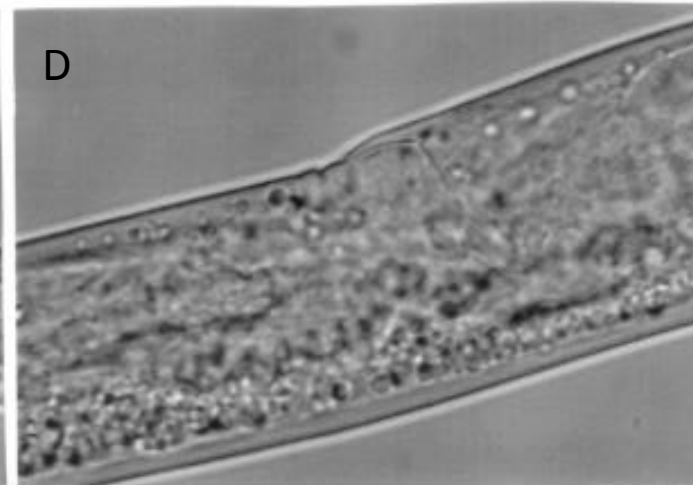
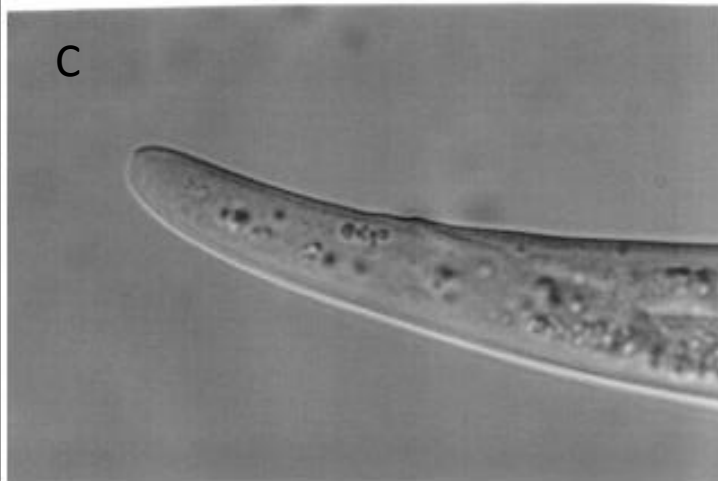
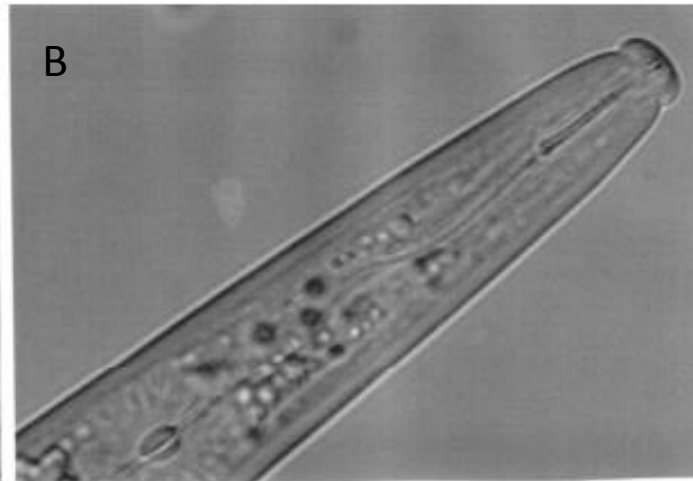
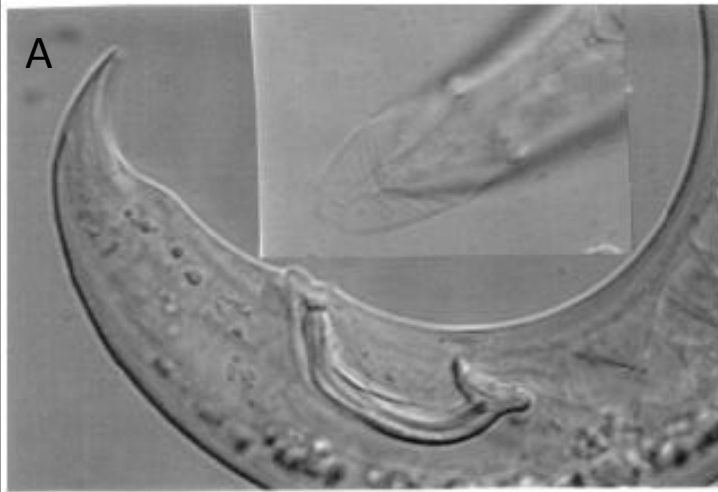
Distribuição geográfica



**TÉRMINO CAUDAL
AFILADO (= MUCRO)
PRESENTE OU NÃO**

Bursaphelenchus xylophilus:

A: cauda do macho (espículos e bursa), B: região anterior, C: cauda da fêmea, D: flap vulvar



BURSAPHELENCHUS XYLOPHILUS

AS ESPÉCIES EM GERAL ASSOCIAM - SE FORETICAMENTE A
INSETOS (INCLUSIVE *B. XYLOPHILUS*), ALIMENTANDO - SE DE
FUNGOS OCORRENTES NO HABITAT DESTES



B. XYLOPHILUS

REPRODUÇÃO POR ANFIMIXIA

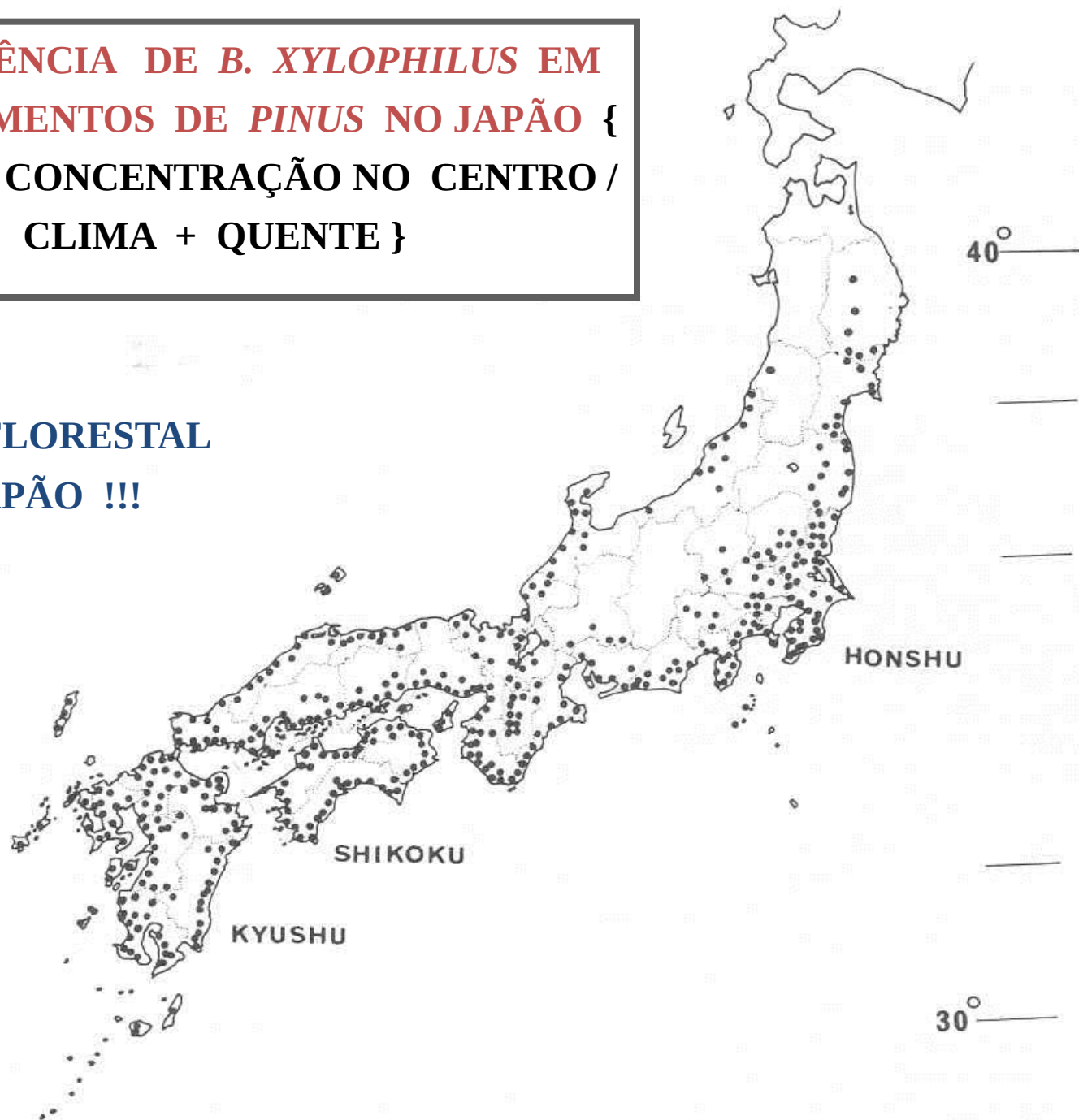
CICLO (fungos / 25 ° C) : 4 - 5 DIAS

TEMP. MÍNIMA (crescimento) 10 ° C

TEMP. MÁXIMA (reprodução) 33 ° C

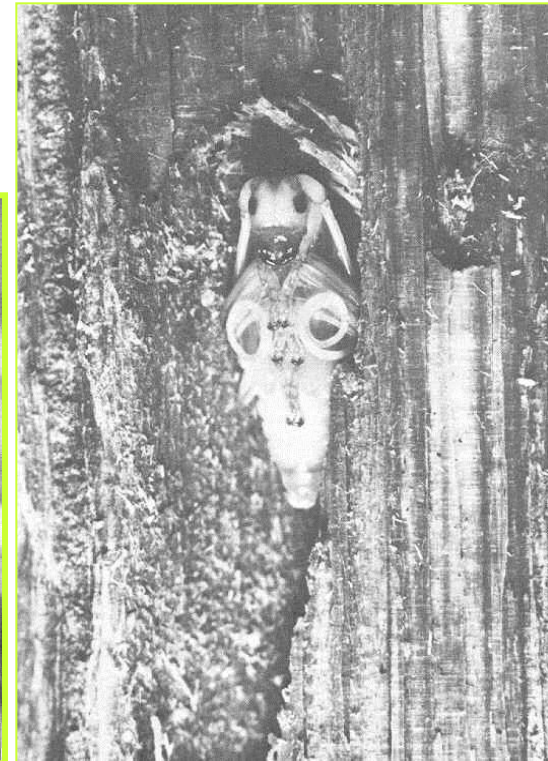
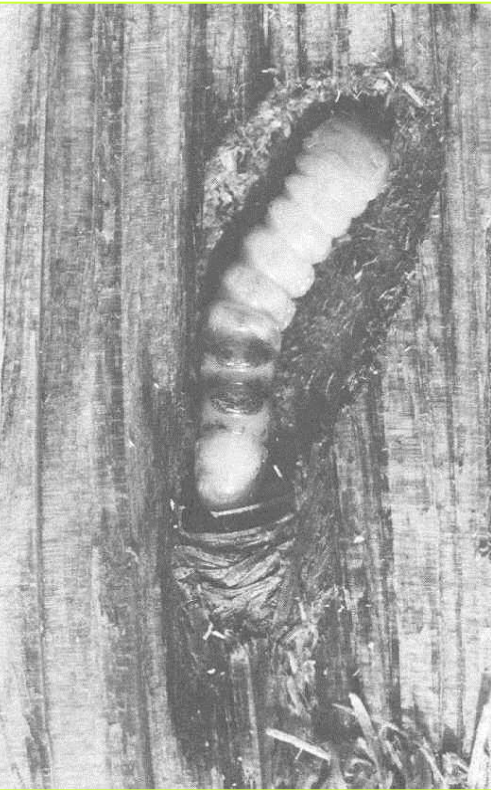
**OCORRÊNCIA DE *B. XYLOPHILUS* EM
POVOAMENTOS DE *PINUS* NO JAPÃO {
MAIOR CONCENTRAÇÃO NO CENTRO /
SUL => CLIMA + QUENTE }**

**MAIOR PRAGA FLORESTAL
(*PINUS*) DO JAPÃO !!!**



MONOCHAMUS
ALTERNATUS

PRINCIPAL
INSETO VETOR
NO JAPÃO



{ DISSEMINAÇÃO }

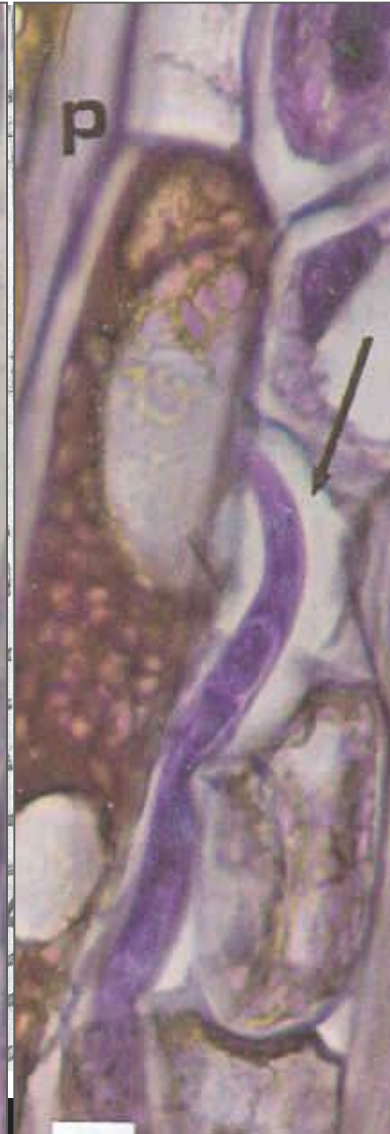


J3 ESPECIAIS

SIST. RESPIRATÓRIO (traquéias)

B. XYLOPHILUS EM *PINUS* SPP. -

SINTOMAS E DANOS



Os sintomas internos e externos subsequentes à proliferação do nematoide, evidentes a partir de 2 semanas do início do ataque e culminando após cerca de 2 a 3 meses, no geral são os seguintes :

**INTERRUPÇÃO NA PRODUÇÃO / EXSUDAÇÃO DE OLEO-RESINA
(AOS 10 - 15 DIAS DA PENETRAÇÃO DOS NEMATOIDES)**

**REDUÇÃO PRONUNCIADA NA TRANSPIRAÇÃO (FOLIAR)
(AOS 20 - 30 DIAS DO INÍCIO DO ATAQUE)**

**AMARELECIMENTO FOLIAR
SEGUIDO DE MURCHA
GENERALIZADA**

**SECAMENTO PROGRESSIVO DA
MADEIRA / PLANTA MORTA**

**(A PARTIR DOS 30 DIAS ,
PODENDO ESTENDER-SE ATÉ 3
MESES)**



B. xylophilus em *Pinus* spp. no Japão- sintomas e danos



Pinus thunbergii



Pinus thunbergii



Pinus densiflora

CONTROLE DE *BURSAPHELENCHUS* *XYLOPHILUS*



COMPLEXO - TRABALHOSO - ONEROSO

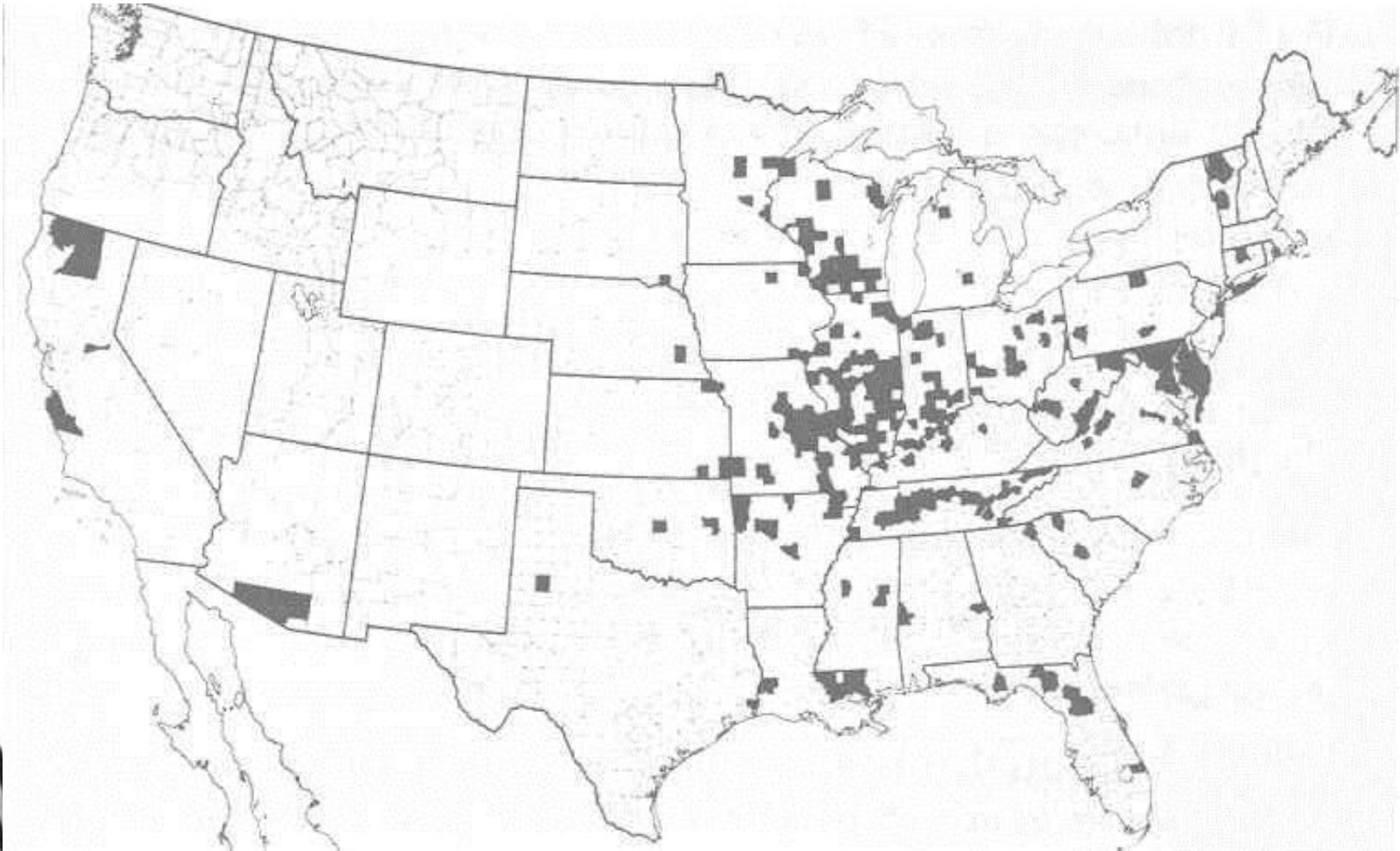
QUARENTENA + MEDIDAS LEGISLATIVAS

INDIRETO => MEDIDAS DE CONTROLE DO INSETO

MANEJO => PRONTA ELIMINAÇÃO DE PLANTAS DOENTES

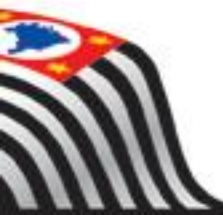
CONTROLE VARIETAL AINDA NÃO DISPONÍVEL, MAS EXISTEM ESPÉCIES QUE MOSTRAM ALTA RESISTÊNCIA [Ex : *P. JEFFREY*], EMBORA DE POUCO INTERESSE COMERCIAL (=> FUTURO ?)

MAPA DE OCORRÊNCIA DE *B. XYLOPHILUS* NOS E. U. A.



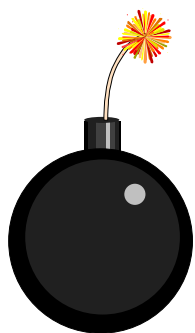
PERDAS PEQUENAS NOS ESTADOS UNIDOS

- espécies mais suscetíveis são empregadas ou na ornamentação urbana (e de praias) ou usadas como árvores de natal (*scotch pines*).



BURSAPHELENCHUS XYLOPHILUS

NÃO REGISTRADO NO BRASIL !



O potencial de danos e perdas na eventualidade de o nematóide vir a ser introduzido ou chegar ao país é muito grande, pois se sabe que as espécies mais cultivadas, como são *Pinus elliottii* e *P. taeda*, incluem-se entre as consideradas + suscetíveis



Tratamento de madeira

Térmico: 56C/30min

Químico: brometo de metila





Fiscais impedem a entrada de praga quarentenária em carregamento de origem chinesa

Postado por Inovadefesa em 28 julho 2011 às 16:25

 [Exibir blog](#)

Fonte: Informativo do Sindicato dos Fiscais Federais Agropecuários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Maio de 2011

Fiscais impedem entrada de importante praga quarentenária procedente da China

- SVA/Santos

A equipe da Vigilância agropecuária Internacional interceptou, em 9 de maio, no porto de Santos, um carregamento com infestação de pragas vivas. Os 22 containeres, transportando laminados de aço acondicionados em bobinas de madeira, eram procedentes da china. Segundo o Fiscal Federal agropecuário Rodrigo Carmello Moreti, que realizou a interceptação no terminal aduaneiro, ao iniciar a inspeção foi observada a presença de serragens. O FFA coletou um espécime vivo, encaminhado ao Instituto Biológico

do estado de São Paulo, para identificação. Os contenedores foram fechados para realização de tratamento quarentenário em toda a partida, efetuado por uma empresa credenciada pelo Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. A conclusão do laudo de diagnóstico Fitossanitário confirmou tratar-se da praga *Monochamus alternatus* Hope, 1843 (Arthropoda, Hexapoda, Insecta, Coleoptera, Cerambycidae, Lamiinae).

Esta espécie não tem ocorrência registrada no Brasil. Sua área de distribuição abrange China, Coréia do Sul, Japão, Formosa, Laos e Vietnã. O material foi reinspecionado, dia 13 de maio, onde ficou atestado a eficiência do tratamento realizado. Durante a varredura realizada foram localizados seis insetos adultos, todos mortos. O carregamento foi liberado.

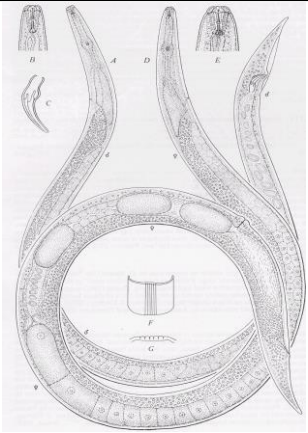
Sobre o *Monochamus alternatus* Hope

Os adultos de *Monochamus* são vetores de nematóides da madeira dos pinheiros, *Bursaphelenchus xylophilus*, o besouro pode carregar em seu corpo, aproximadamente, 100.000 formas juvenis de nematóides. Os nematóides associados podem provocar morte de algumas espécies do gênero *Pinus* em poucas semanas ou meses.

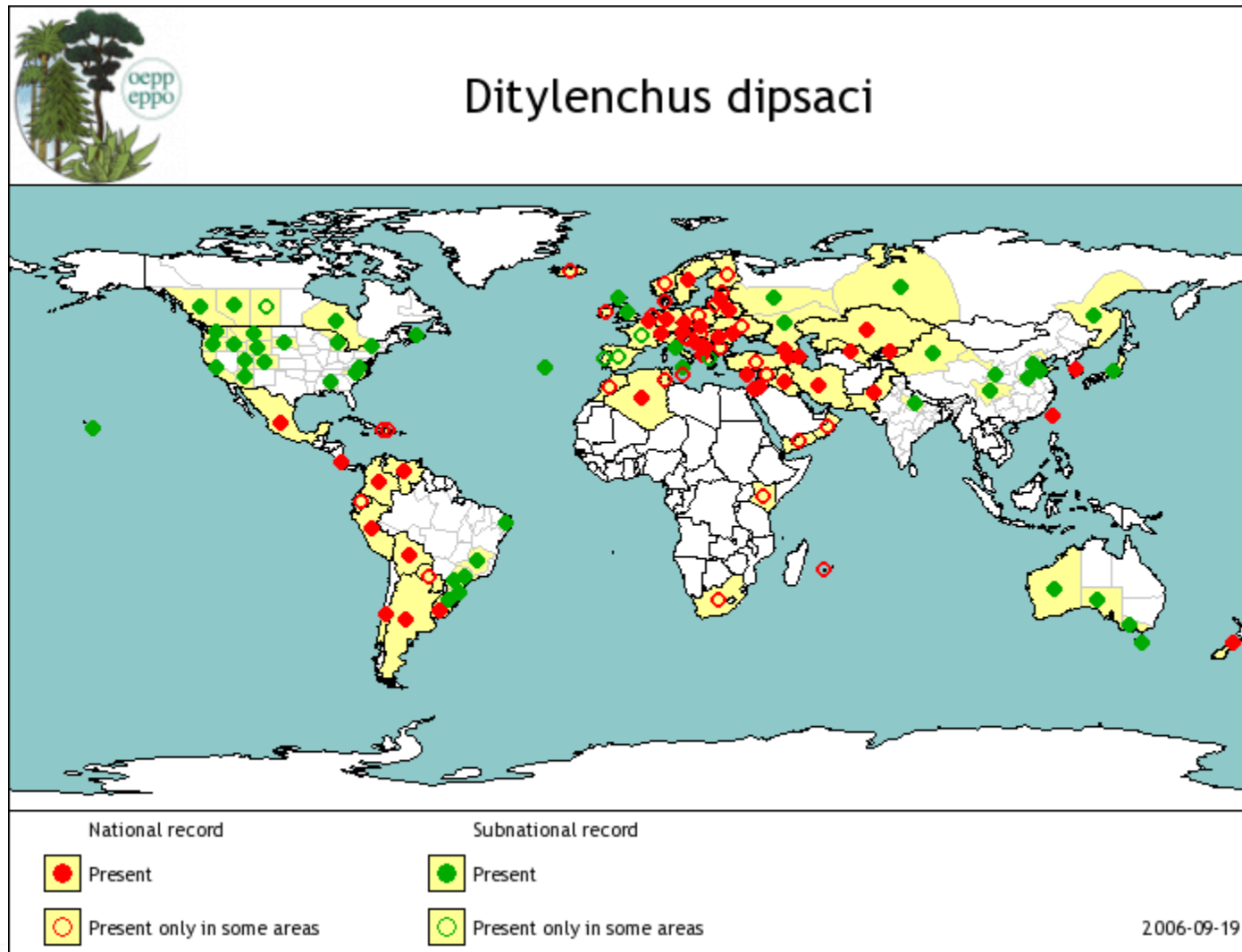


Nematoides dos caules e bulbos

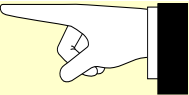
Ditylenchus

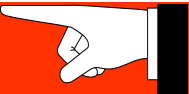
Nome comum	morfologia da fêmea	Espécies	Hábito de parasitismo	Sintoma
Nematóides dos caules e bulbos		<i>D. angustus</i> <i>D. anchiliposomus</i> <i>D. dipsaci</i> (raça alho) <i>D. myceliophagus</i> <i>D. destructor</i> <i>D. dipsaci</i>	Endo migrador	Caules intumescidos, enfezados e distorcidos folhas mal formadas Internódios curtos (alfafa) Apodrecimento de bulbos (cebola e alho)

Distribuição geográfica



GÊNERO *DITYLENCHUS*

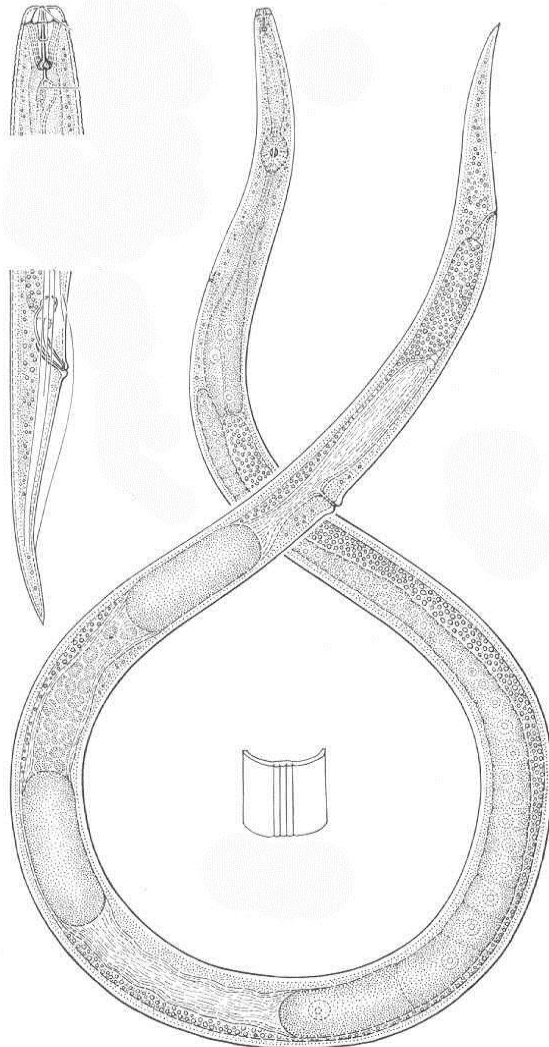
 **VIDA LIVRE => MICÓFAGOS**
[MAIORIA]

 **ALGUMAS ESPÉCIES => FITOPARASITISMO**
[PARTE AÉREA]



APENAS *D. DIPSACI*, INTRODUZIDA NO FINAL DOS ANOS 70, FOI ASSINALADA OFICIALMENTE NO PAÍS, SENDO SÉRIO PROBLEMA AO CULTIVO DE ALHO, EM ESPECIAL EM SANTA CATARINA (SC).

D. DIPSACI



ESPÉCIE BISSEXUAL

FÊMEA MONO (PRO) DELFA

ESTILETE PEQUENO

VALOR 'V' MAIOR QUE 65%

**SUP PERFAZENDO METADE DA
DISTÂNCIA VULVA-ÂNUS**

ASAS CAUDAIS EVIDENTES

CAUDA CONÓIDE AFILADA

D. DIPSACI

- **SOB CONDIÇÕES DESFAVORÁVEIS DE UMIDADE, PODEM ENTRAR EM ANIDROBIOSE NOS TECIDOS VEGETAIS PARASITADOS, “REVIVENDO” POUCAS HORAS DEPOIS DE REIDRATADOS .**
- **TAMBÉM FORMAM CURIOSOS AGLOMERADOS (= “WOOL”) NOS QUAIS OS EXEMPLARES DAS CAMADAS MAIS EXTERNAS PROTEGEM OS DA PARTE INTERNA DOS EFEITOS NEGATIVOS DA EXPOSIÇÃO A UMA DESSECAÇÃO INTENSA .**



D. DIPSACI

CÍRCULO DE HOSPEDEIROS

**A ESPÉCIE TEM ELEVADO GRAU DE POLIFAGIA, COM
MAIS DE 450 PLANTAS HOSPEDEIRAS CATALOGADAS**

**POR OUTRO LADO, COMPORTA MUITAS “RAÇAS” OU
“BIÓTIPOS”, ISTO É, POPULAÇÕES ASSIM DEFINIDAS COM
BASE EM DIFERENÇAS QUE EVIDENCIAM EM RELAÇÃO À
CAPACIDADE DE PARASITAR DISTINTOS GRUPOS DE
PLANTAS HOSPEDEIRAS.**

**ENTRE AS CULTURAS MAIS AFETADAS NO MUNDO,
DESTACAM-SE => CEBOLA, ALHO, CENOURA, BATATA,
ERVILHA /// MILHO, AVEIA, CENTEIO /// BETERRABA, NABO
/// ALFAFA, TREVOS, FEIJÃO /// ORNAMENTAIS (TULIPAS,
NARCISOS) /// FUMO /// MORANGO .**



DANOS CAUSADOS EM CAULES

FORTE INCHAÇO OU INTUMESCIMENTO

INTERNÓDIOS ENCURTADOS

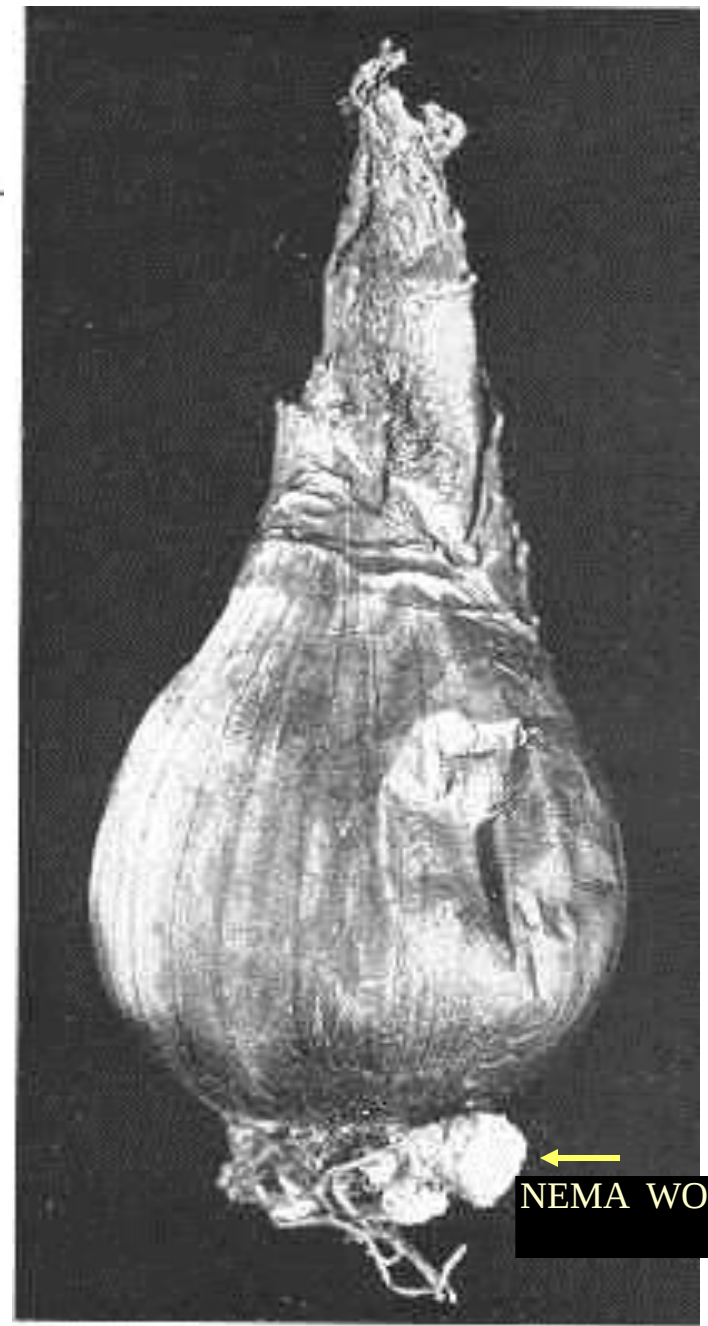
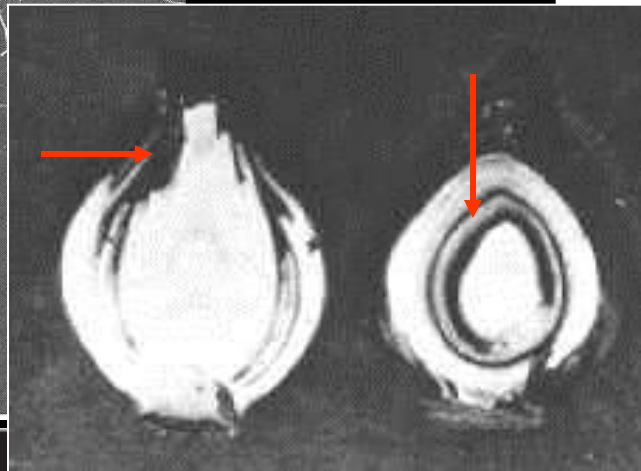
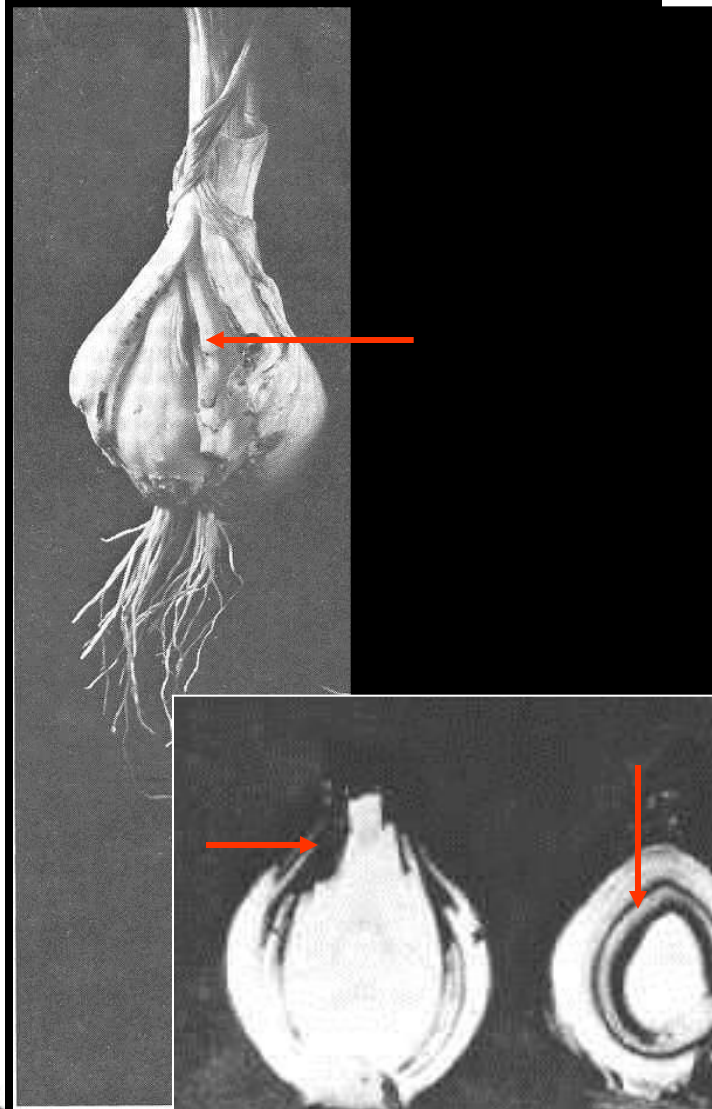
PERFILHAMENTO ANORMAL

CRESCIMENTO REDUZIDO



ALFAFA

D. DIPSACI EM NARCISO



NEMA WOOL

D. DESTRUCTOR



ESPÉCIE TIDA COMO IMPORTANTE NA EUROPA, COM RELATOS OCASIONAIS, NÃO COMPROVADOS, DE OCORRÊNCIA NO BRASIL.



MORFOLOGICAMENTE, É QUASE IDÊNTICA A *D. DIPSACI*, MAS TANTO PODE SE ALIMENTAR DE FUNGOS COMO DE PLANTAS E NÃO APRESENTA A CAPACIDADE DE PASSAR AO ESTADO DE ANIDROBIOSE (NÃO FORMA AGLOMERADO DO TIPO 'WOOL').

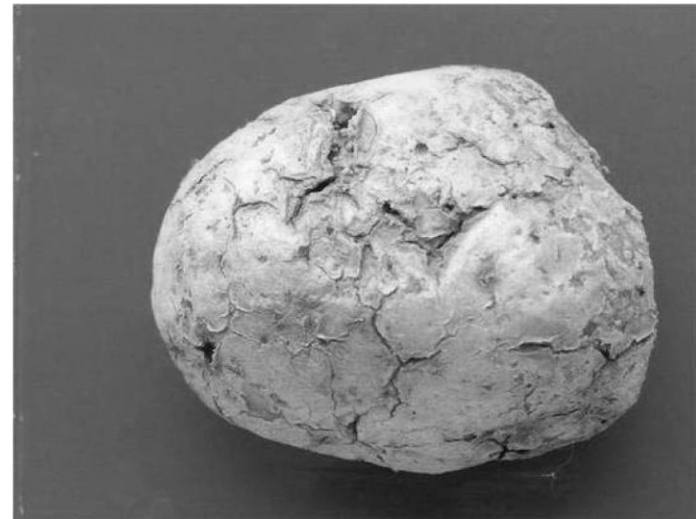


TAMBÉM POLÍFAGO, *D. DESTRUCTOR* PODE PARASITAR RAÍZES E OUTROS ÓRGÃOS SUBTERRÂNEOS, COMO TUBÉRCULOS . SEU PARASITISMO EM CAULES E BULBOS É RELATIVAMENTE RARO. A BATATA É A CULTURA MAIS PREJUDICADA, SENDO COMUM A DEGENERAÇÃO INTERNA (NECROSE) DOS TUBÉRCULOS .



D. DESTRUCTOR

**PERDA TOTAL DE
TUBÉRCULO POR
NECROSE DEVIDA
AO PARASITISMO**



Tubérculos de batata infectados com *Ditylenchus destructor*.
(Foto:L. Kuzmina, Laboratory of Plant Health and Microbiology, Saku, Estonia).

Anguina tritici

Devido a sua grande capacidade de disseminação, através de sementes de trigo, foi uma das mais importantes pragas nessa cultura

Outras plantas hospedeiras: aveia, cevada e centeio

medidas de controle: essa espécie foi praticamente erradicada nos países desenvolvidos.

Ocorrência: Áustria, China, Coreia do Sul, Etiópia, Egito, Índia, Iraque, Paquistão, Polônia e Romênia.



Ciclo

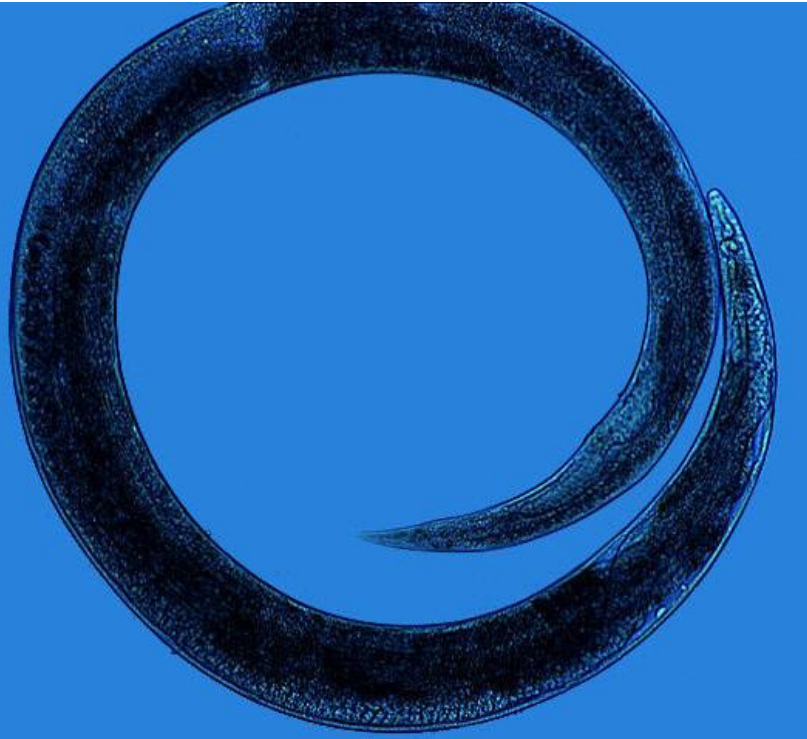
As plantas de trigo contaminam-se ainda na fase de plântulas

os nematoides migram para os primórdios florais

Fêmea: deposita aproximadamente 2000 ovos

Juvenis: dormência de até 30 anos

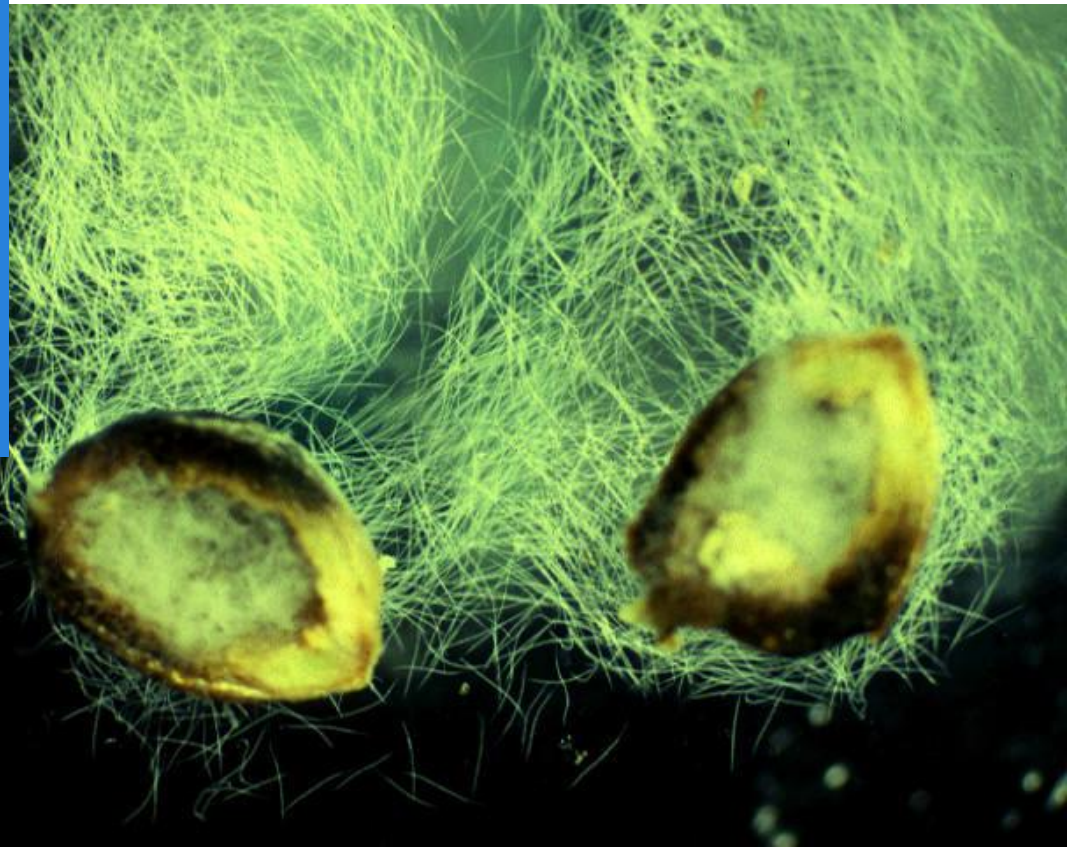
Anguina tritici



Corpo esbelto, longos (fêmeas: 3-4mm;
juvenis: 1,1 – 1,55mm)

Estilete curto, delicado

Milhares de juvenis de 2º
estádio numa única semente
de trigo



sintomas



As sementes parasitadas apresentam-se menores, mais duras e escuras que as sementes normais

NEMATOIDES DE CISTOS

CERCA DE 20 GÊNEROS

OS MAIS IMPORTANTES SÃO :

HETERODERA

AVENAE

FICI ●

GLYCINES ●

GOETTINGIANA

SCHACHTII

GLOBODERA

PALLIDA

ROSTOCHIENSIS

TABACUM

CACTODERA

CACTI ●



CISTO



**FÊMEA MORTA
COM O CORPO
REPLETO DE OVOS**



**FICAM FORA DAS RAÍZES OU
APARECEM NO SOLO**



Globodera rostochiensis e *Globodera pallida*

parasitam principalmente batata, mas tomate e berinjela também são plantas hospedeiras

O centro de origem das duas espécies é a região dos Andes na América do Sul.

Atualmente, encontram-se disseminadas em vários países da Europa, na América do Norte, e na maioria dos nossos países vizinhos: Argentina, Bolívia, Chile, Colômbia, Equador, Peru e Venezuela.





UGA1356128



UGA1356139



UGA1356131



Greatly magnified portions of infested roots:
A, Females just breaking through root surface.
B, partly developed cyst.
C, *D*, and *E*, progressive color changes of cysts.
F, cyst in the soil.
G, cross section of cyst showing eggs and hatching larvae leaving cyst in root roots.

Dr. Ashman 53

UGA1356007

Os sintomas de ataque de *Globodera* spp.

não são específicos

Geralmente, as folhas de batata exibem clorose e desenvolvimento insatisfatório e os tubérculos apresentam-se menores.

Devido ao ataque de *G. rostochiensis* ou *Globodera pallida* perdas de até 80% da produção de batata são observadas

diagnose

Detectar os cistos (fêmeas maduras, contendo ovos no seu interior) no solo ou nas raízes.

A identificação das espécies requer exame em microscópio de luz realizado por especialista altamente treinado.

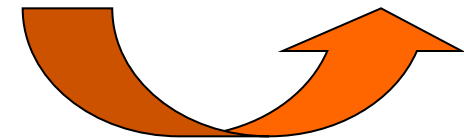
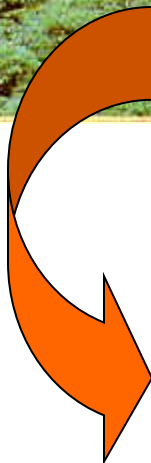
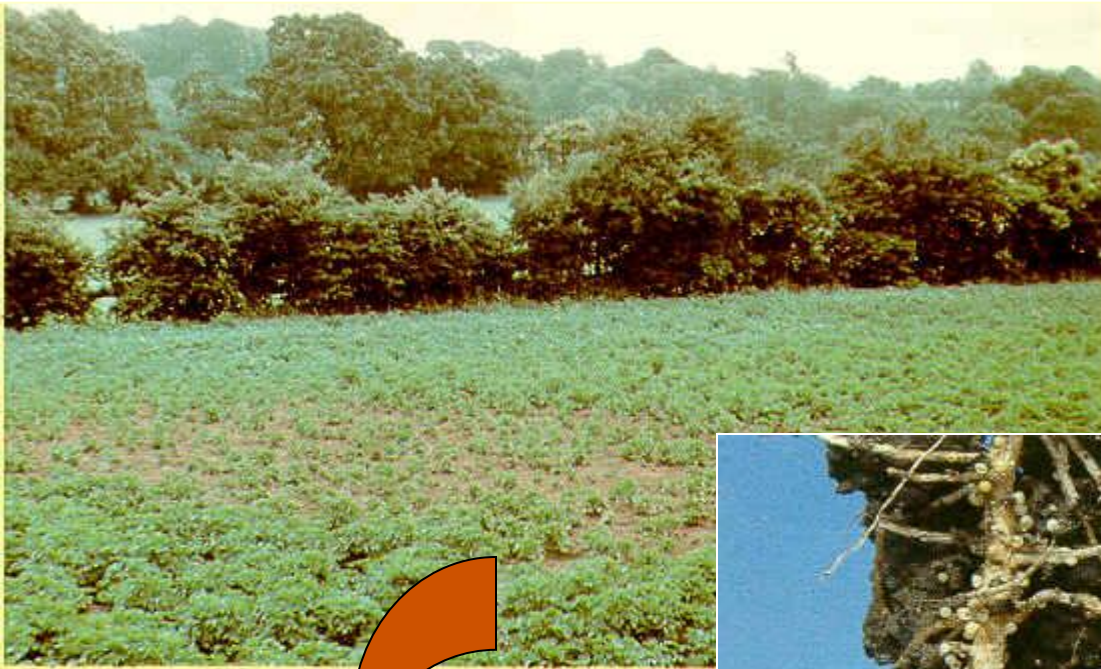
Atualmente, espécies podem ser identificadas através de técnicas moleculares.



Cistos de *Globodera* em túberas de batata



G. ROSTOCHIENSIS ATAQUE EM BATATA



Globodera rostochiensis em batata



sadia infectada



Floração tardia



Plantas atacadas florescem mais tarde
do que plantas sadias

Heterodera schachtii em beterraba açucareira

danos severos na Europa já por volta de 1860

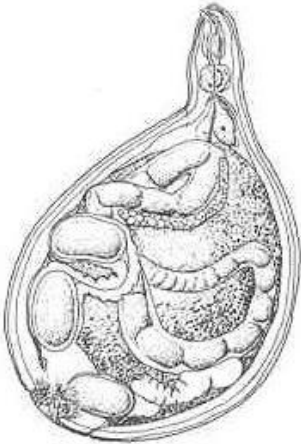


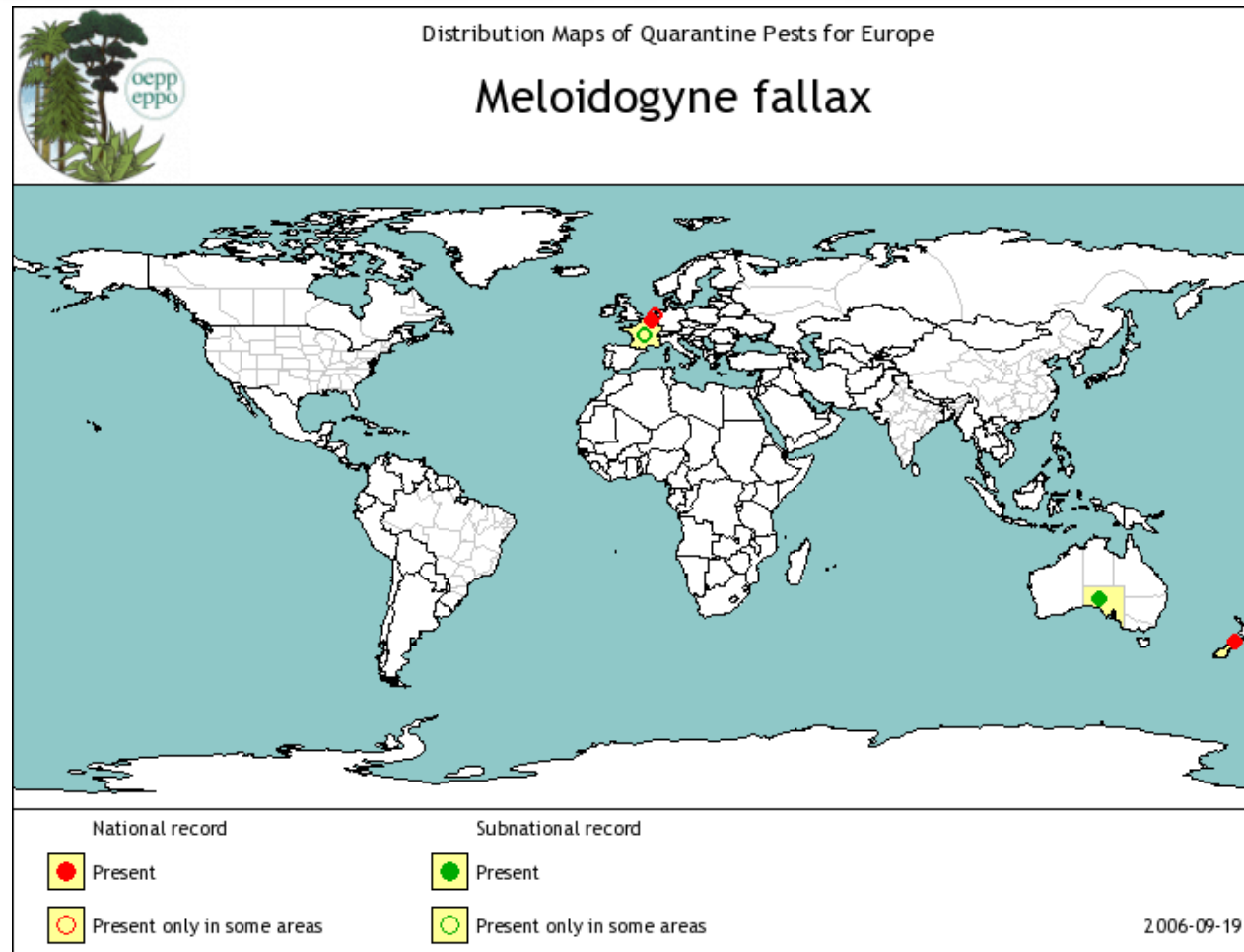
REBOLEIRA CAUSADA POR *H. SCHACHTII* EM BETERRABA AÇUCAREIRA

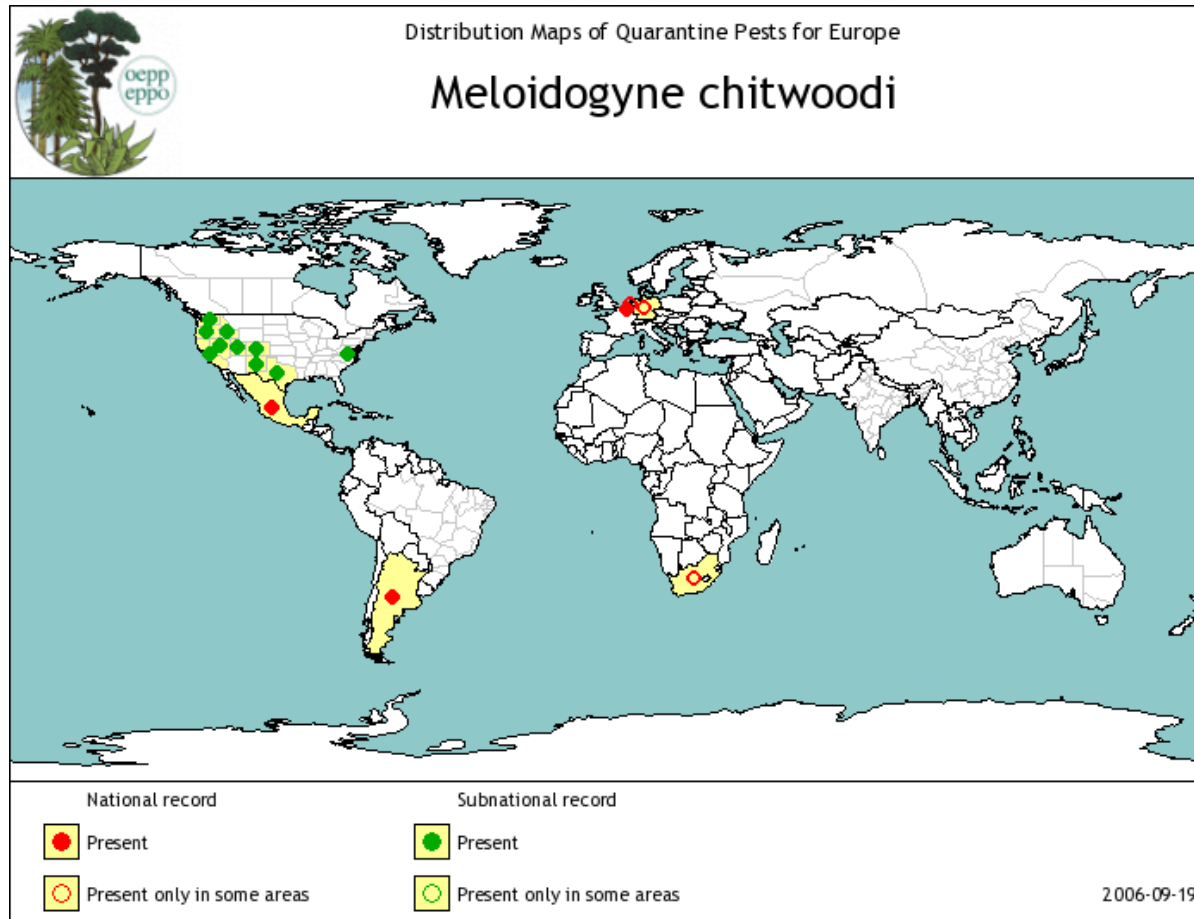


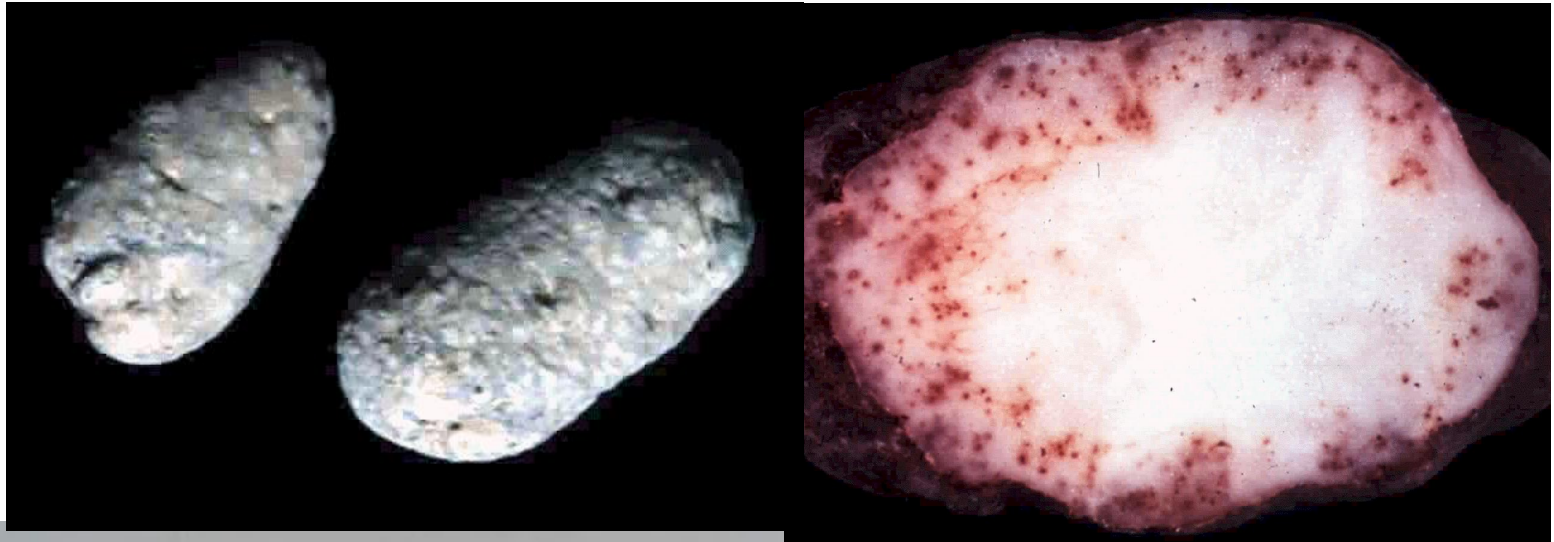
Nematoídes das galhas radiculares

Meloidogyne

Nome comum	morfologia da fêmea	Espécies	Hábito de parasitismo	Sintoma
Nematóides das galhas radiculares 		<i>M. javanica</i> <i>M. incognita</i> <i>M. arenaria</i> <i>M. hapla</i> <i>M. fallax</i> <i>M. chitwoodi</i>	Endoparasito sedentário	galhas radiculares (engrossamentos das raízes)







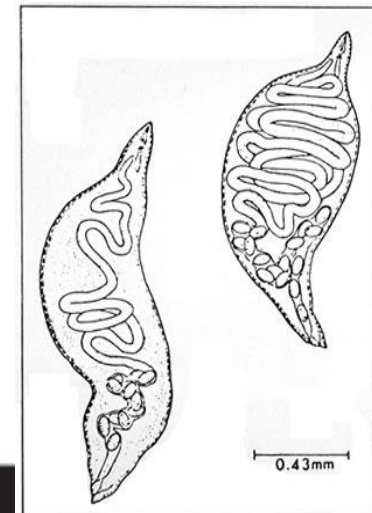
Cenoura infectada por *M. fallax*

(fonte: Plant Protection Services, The Netherlands)



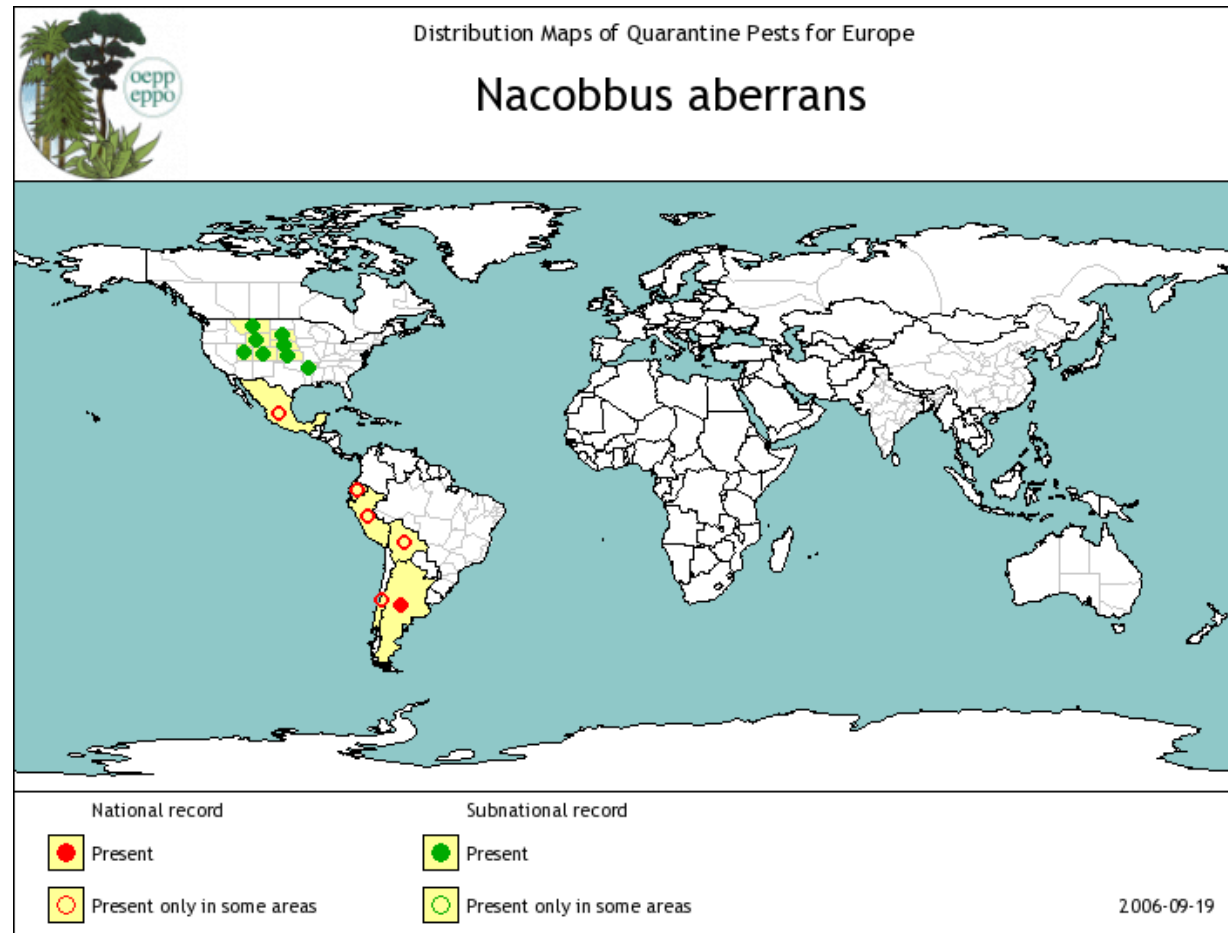
FAMÍLIA PRATYLENCHIDAE

- subfamília Pratylenchinae
 - corpo vermiforme (♂ ♀)
 - migrador
 - *Pratylenchus*, *Hirschmanniella*, *Radopholus*, *Pratylenchoides*, *Apratylenchoides*, *Hoplotylus*, *Acontylus* e *Zygotylenchus*
- subfamília Nacobbinae
 - fêmeas obesas
 - sedentário
 - *Nacobbus*



Nacobbus aberrans

Falso nematoide das galhas



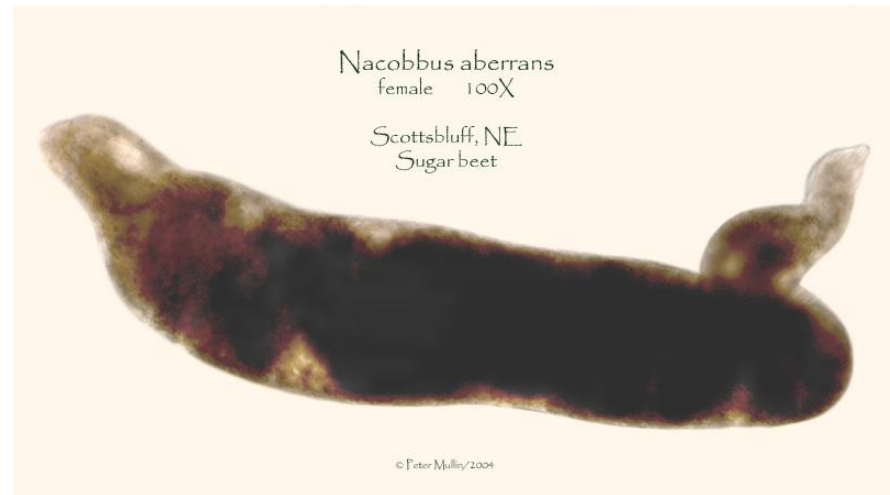
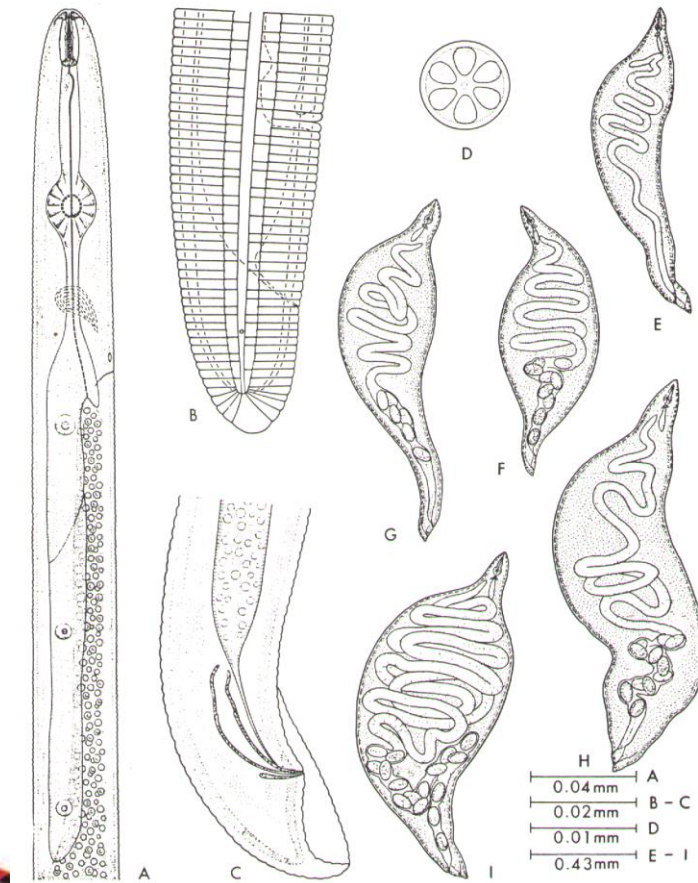
Plantas Hospedeiras

Batata (Solanaceae)

Cactaceae, Chenopodiaceae,
Cruciferae, Zygophyllaceae,
Cucurbitaceae e Umbelliferae

Nacobbus aberrans

Falso nematoide das galhas



A e B: fêmea imatura (região anterior e posterior),
C e D: macho (cauda e face view), E-I: fêmeas (somente um ovário)

Nacobbus aberrans

Falso nematoide das galhas

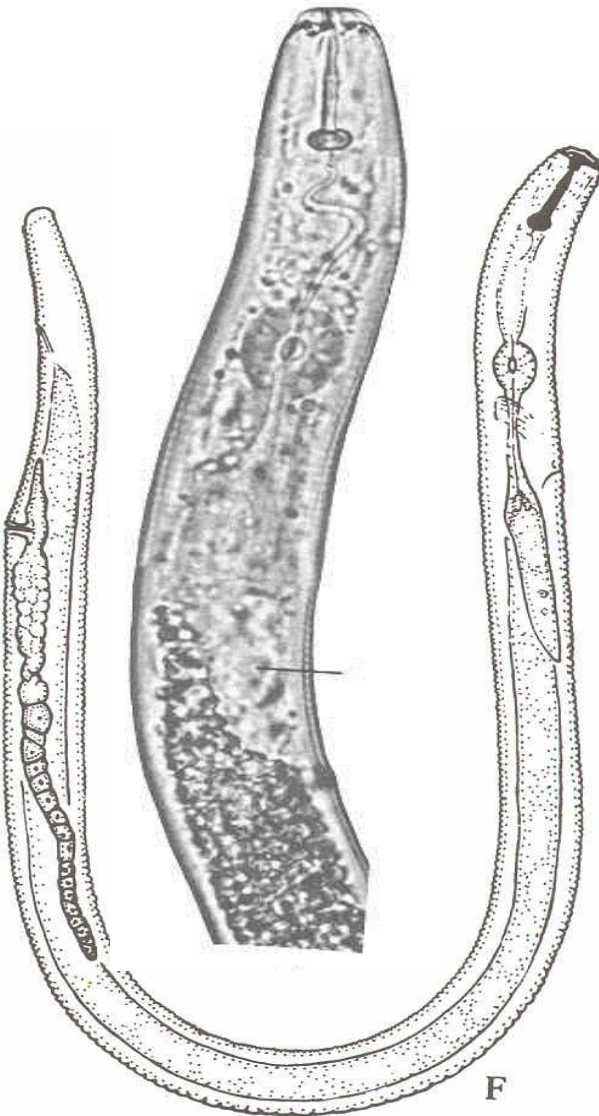


Nematoides das lesões radiculares

Pratylenchus

Nome comum	morfologia da fêmea	Espécies 	Hábito de parasitismo	Sintoma
Nematóides das lesões radiculares		<i>P. brachyurus</i> <i>P. coffeae</i> <i>P. penetrans</i> <i>P. vulnus</i> <i>P. zaeae</i> <i>P. jaehni</i> <i>P. jordanensis</i> <i>P. neglectus</i> <i>P. pseudofallax</i> <i>P. pseudopratensis</i> <i>P. scribneri</i> <i>P. crenatus</i> <i>P. fallax</i> <i>P. thornei</i> <i>P. goodeyi</i>	Endoparasito migrador	lesões nas raízes

Pratylenchus: morfologia



- corpo robusto
 - 0,3 a 0,9 mm
- região labial baixa, não separada do corpo por nítida constrição
 - Formada por 2, 3 ou 4 anéis
- estilete curto ($\pm 14-17 \mu\text{m}$) e robusto
- glândulas esofageanas recobrimdo o intestino pelo lado ventral
- ♀♀ mono(pro)delfas
 - Saco uterino

Espécies de *Pratylenchus* de importância quarentenária

Espécie	Ocorrência	Plantas hospedeiras
<i>P. scribneri</i>	USA, México, Europa, Índia, Egito, Turquia, Japão, África, Brasil	Polífago (batata, ornamentais, cebola, tomate, sorgo, milho, pessego, cana-de-açúcar)
<i>P. thornei</i>	Austrália, USA, México, Europa, Índia, Egito, Japão, África do Sul	Polífago (pastagens, frutíferas, videira, beterraba-açúcareira, cana-de-açúcar, tomate, ornamentais)
<i>P. fallax</i>	Europa	frutíferas, moranguinho, ornamentais, cereais

Sintomas causados por *Pratylenchus* spp.

- Nematoide das lesões radiculares (“root lesion nematodes”)
- Lesões no tecido parasitado
 - áreas de coloração avermelhada, parda ou pardo-avermelhada
- Colonização secundária por outros organismos:
 - Lesões com tonalidades mais escuras, enegrecidas
- Destruição de raízes
- Diminuição do desenvolvimento da planta
- Sintomas de deficiência nutricional



Sintomas causados por *Pratylenchus* em fumo

**SISTEMA RADICULAR
POBRE E RASO, COM
POUCAS RADICELAS ;**

**ÁREAS NECROSADAS
SÃO MUITO COMUNS**



Reboleira no campo evidenciando forte enfezamento,
clorose e até mesmo morte de muitas plantas de fumo



PRATILENCOSE EM MANDIOQUINHA - SALSA

P. PENETRANS



PRATILENCOSE EM CEBOLA

REDUÇÕES NA PRODUTIVIDADE => POPULAÇÃO INICIAL (P_i)

P. PENETRANS

TEST.

6 6 6

2 0 0 0

6 0 0 0

1 8 0 0 0

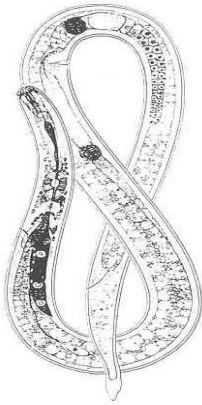
VALORES DE P_i EXPRESSOS EM NEMAS POR KG DE SOLO

Patogenicidade de *P. penetrans* em crisântemo

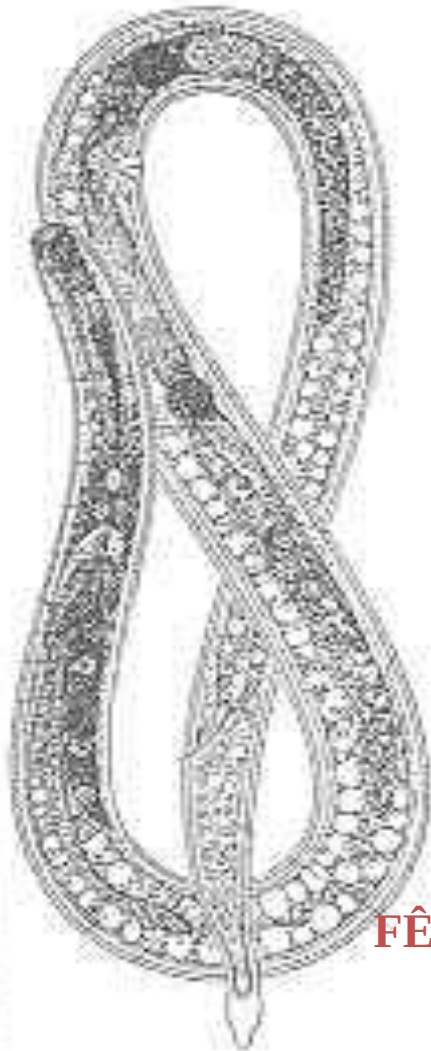


Nematoide cavernícola

Radopholus

Nome comum	morfologia da fêmea	Espécies	Hábito de parasitismo	Sintoma
Nematoide cavernícola		<i>R. similis</i>	Endoparasito migrador	lesões nas raízes

Radopholus similis



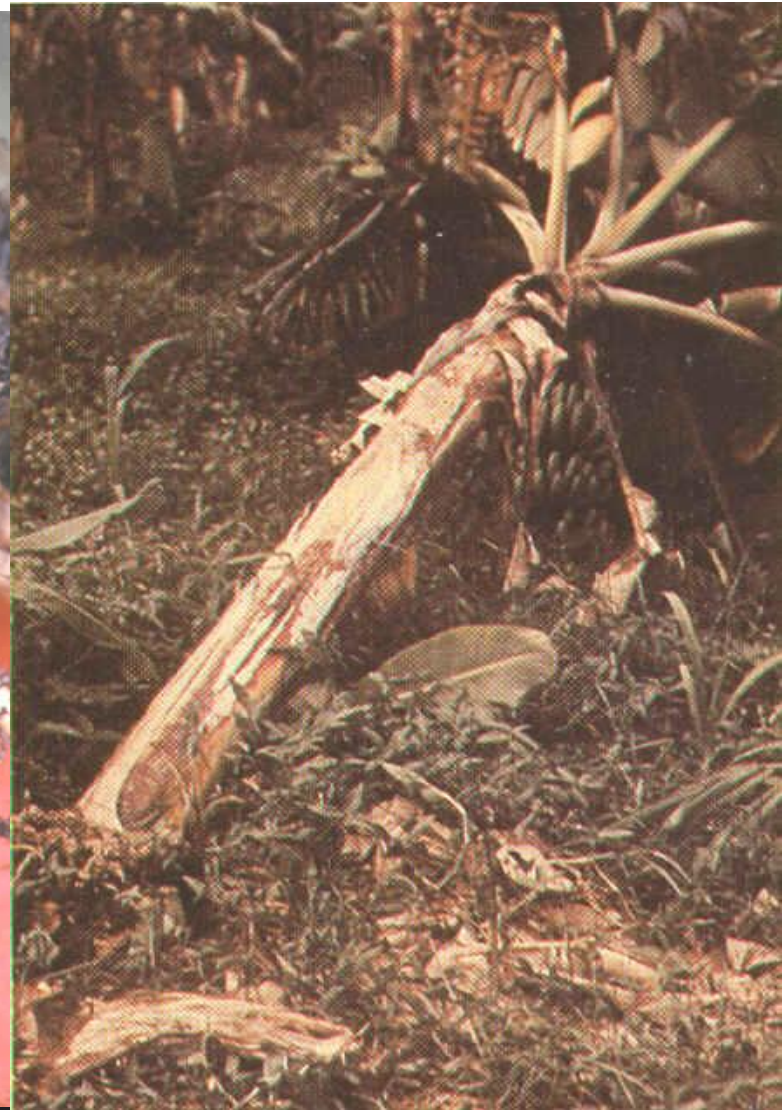
FÊMEA



MACHO



Nematoide cavernícola



R. SIMILIS

RAÇA BANANA

POLÍFAGA

BANANA (+)

CITROS (-)

COSMOPOLITA

RAÇA CITROS

POLÍFAGA

BANANA (+)

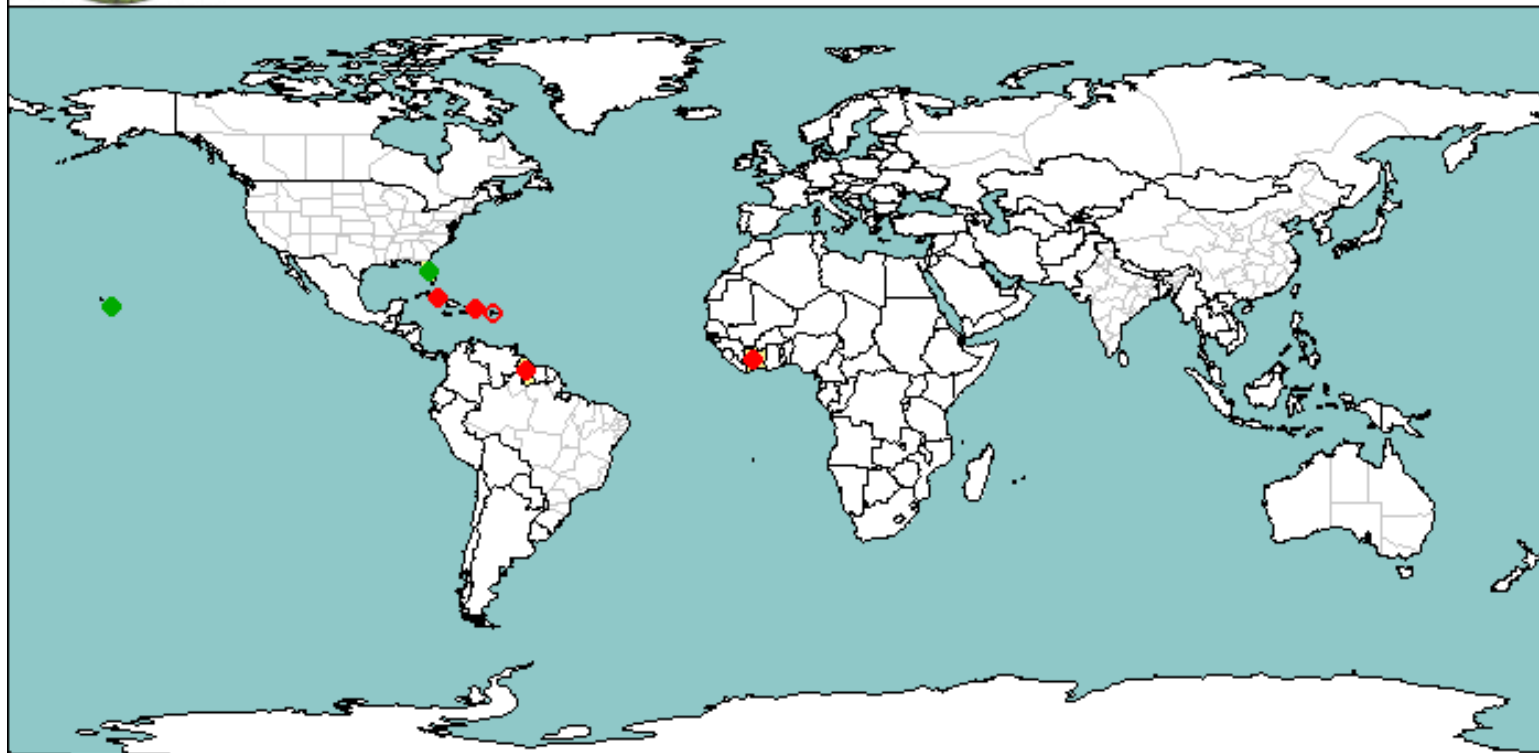
CITROS (+)

**Estados Unidos,
Caribe, Guiana e Costa
do Marfim**



Radopholus similis

raça citros



National record



Present



Present only in some areas

Subnational record



Present

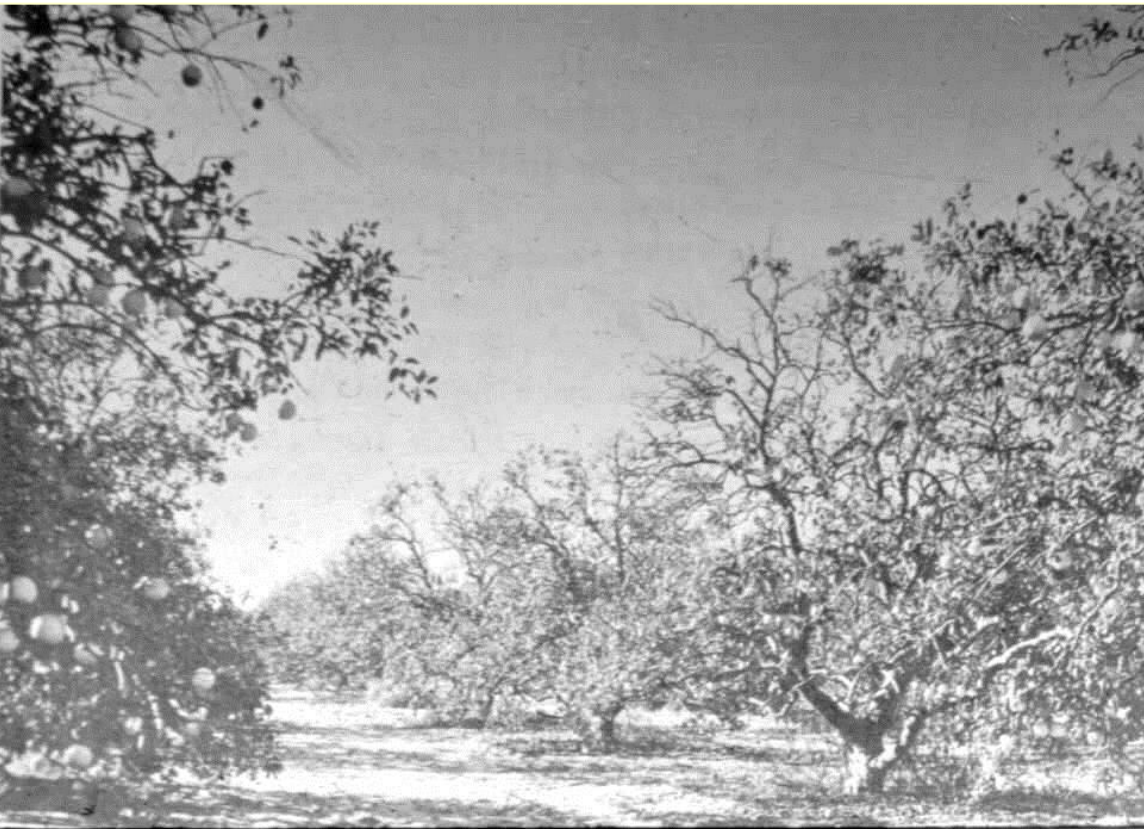


Present only in some areas

2006-09-19

R. SIMILIS RAÇA CITROS => SPREADING DECLINE

HOJE, O MAL ESTÁ PRATICAMENTE ERRADICADO,
OCORRENDO EM ÁREA MÍNIMA DA FLORIDA (EUA)



Classe Adenophorea

Família Longidoridae:

gênero *Xiphinema*

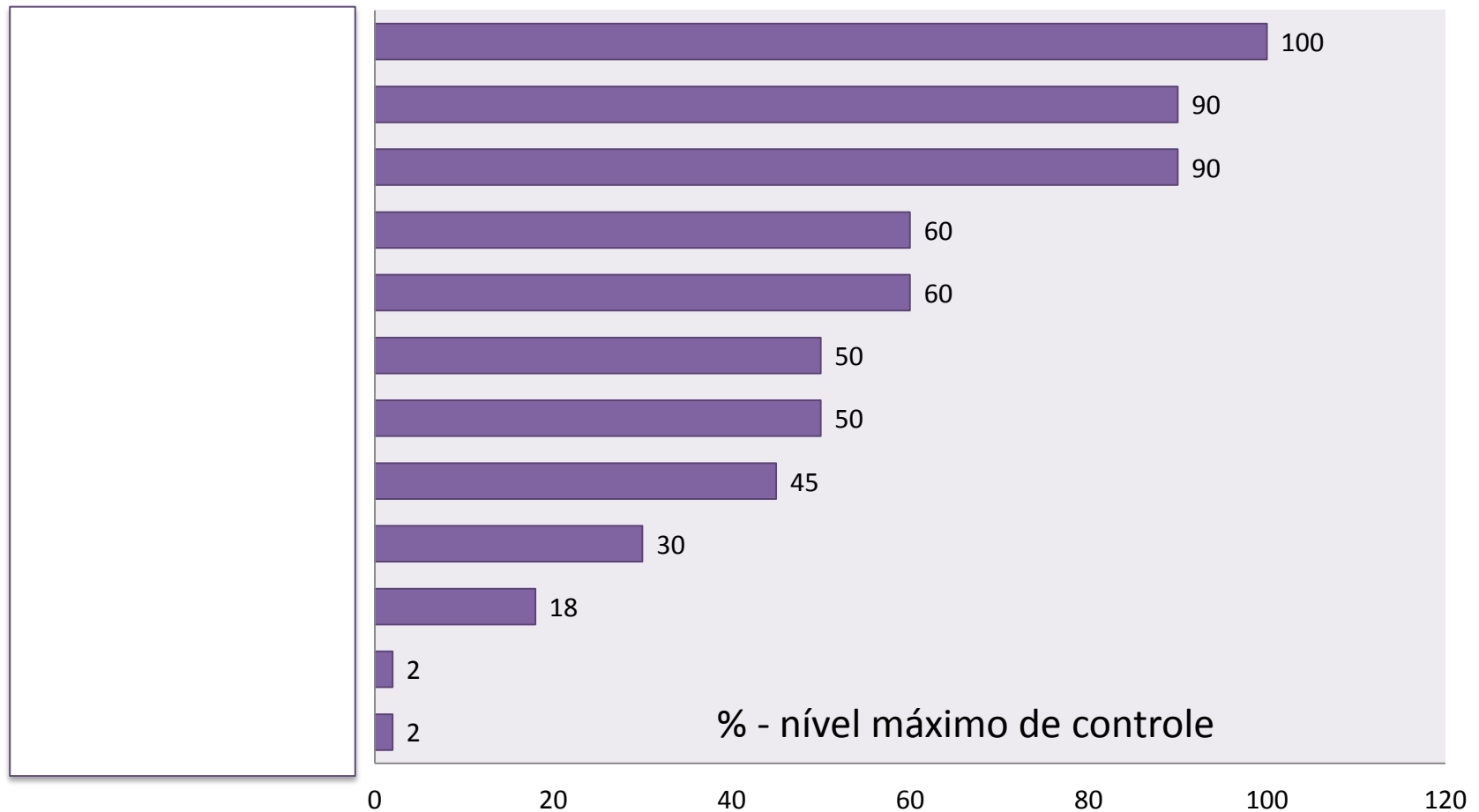
Família Trichodoridae:

gêneros *Trichodorus* e *Paratrichodorus*

Viroses transmitidas por nematoides



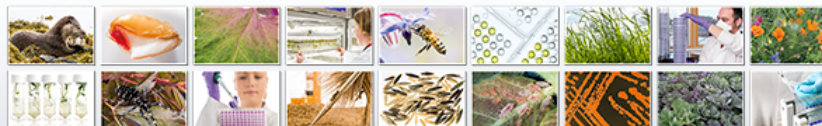
estimativa dos níveis de controle de nematoides parasitos de plantas através da aplicação de metodologias de controle



Exclusão: Controle preventivo

- As medidas preventivas são sempre mais eficientes e econômicas que os tratamentos curativos.
- o uso de mudas isentas de nematoides
- plantio em solo não infestado.
- No caso de viveiros ou estufa, o acesso a água de irrigação utilizada, o manuseio de equipamentos e ferramentas merecem atenção especial
- Legislação
 - Plantas livres de nematoides
 - Serviço quarentenário





Science and Advice for Scottish Agriculture

[SASA HOME](#)
[ABOUT US ▾](#)
[TOPICS](#)
[DIAGNOSTICS ▾](#)
[R&D ▾](#)
[RESOURCES](#)
[TRAINING ▾](#)
[STAFF](#)

Home » R&D » Pest & Pathogen Diagnostics » Potato Cyst Nematode



Potato Cyst Nematode

Potato Cyst Nematodes: New Legislation, New Technology

New Legislation

Potato cyst nematodes (PCN) *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* are serious pests of potato world wide, causing an estimated 12% crop yield loss. On 1 July 2010 a new EU PCN Directive came into force and increased sampling rates required by this new legislation mean that the number of soil samples SASA has to evaluate has risen from 6,000 to 18,000 per annum. SASA will not be able to fulfil its obligation using traditional methods of manually operated cyst extraction and visual examination of float material isolated from soil samples.

New Technology

- An automated cyst extraction carousel is used to produce float material from soil samples.
- An automated DNA extraction method is used to extract total DNA from these floats.
- A new multiplex real-time PCR assay is used to detect PCN DNA from single cysts in a float. PCR set-up is carried out using a liquid handling robot.
- Using these new methods SASA can identify any PCN species present in up to 400 samples per day.

These new developments enable SASA to process up to 25,000 soil samples over a 6 month period, meeting our statutory obligations and maintaining the high health of Scottish seed potatoes.

◀ POnTE Pest Organisms Threatening Europe

up

Potyriviruses ▶

SEARCH

MYSASA

- [MySEEDS](#)
- [MySPUDS](#)

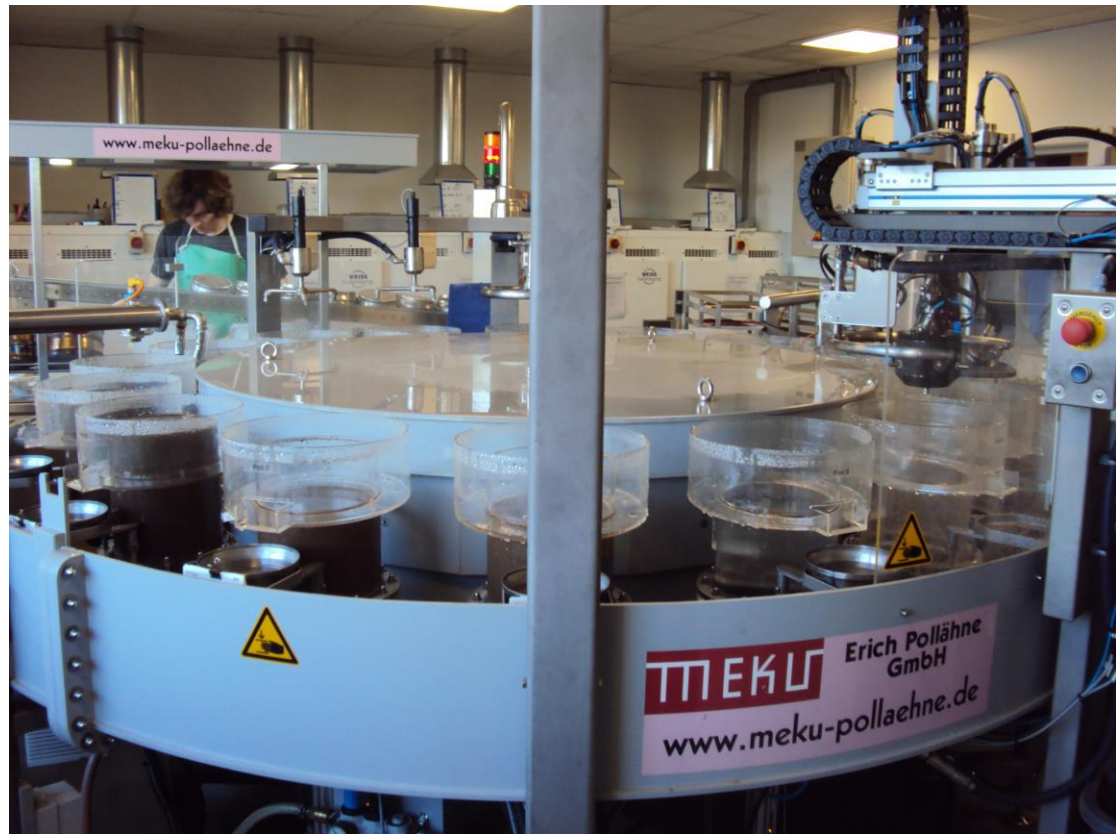
QUICK LINKS

- [Community Engagement](#)
- [Freedom of Information](#)
- [Job Vacancies](#)
- [Quality Assurance](#)
- [SASA in the media](#)
- [Scientific Publications](#)
- [Site A-Z](#)
- [Site Map](#)

CONTACT US

- [Diagnostics](#)
- [Pesticides](#)
- [Plant Health](#)
- ▾ [R&D](#)
 - [Epidemiology & Population Dynamics](#)
 - [Molecular Genotyping](#)
 - ▾ [Pest & Pathogen Diagnostics](#)
 - [Armillaria](#)
 - [PMTV / TRV](#)
 - [POnTE Pest Organisms Threatening Europe](#)
 - [Potato Cyst](#)

Science and Advice for Scottish Agriculture (SASA) – Edimburgo, Escócia



elaboração de laudos de análise fitossanitária oficial



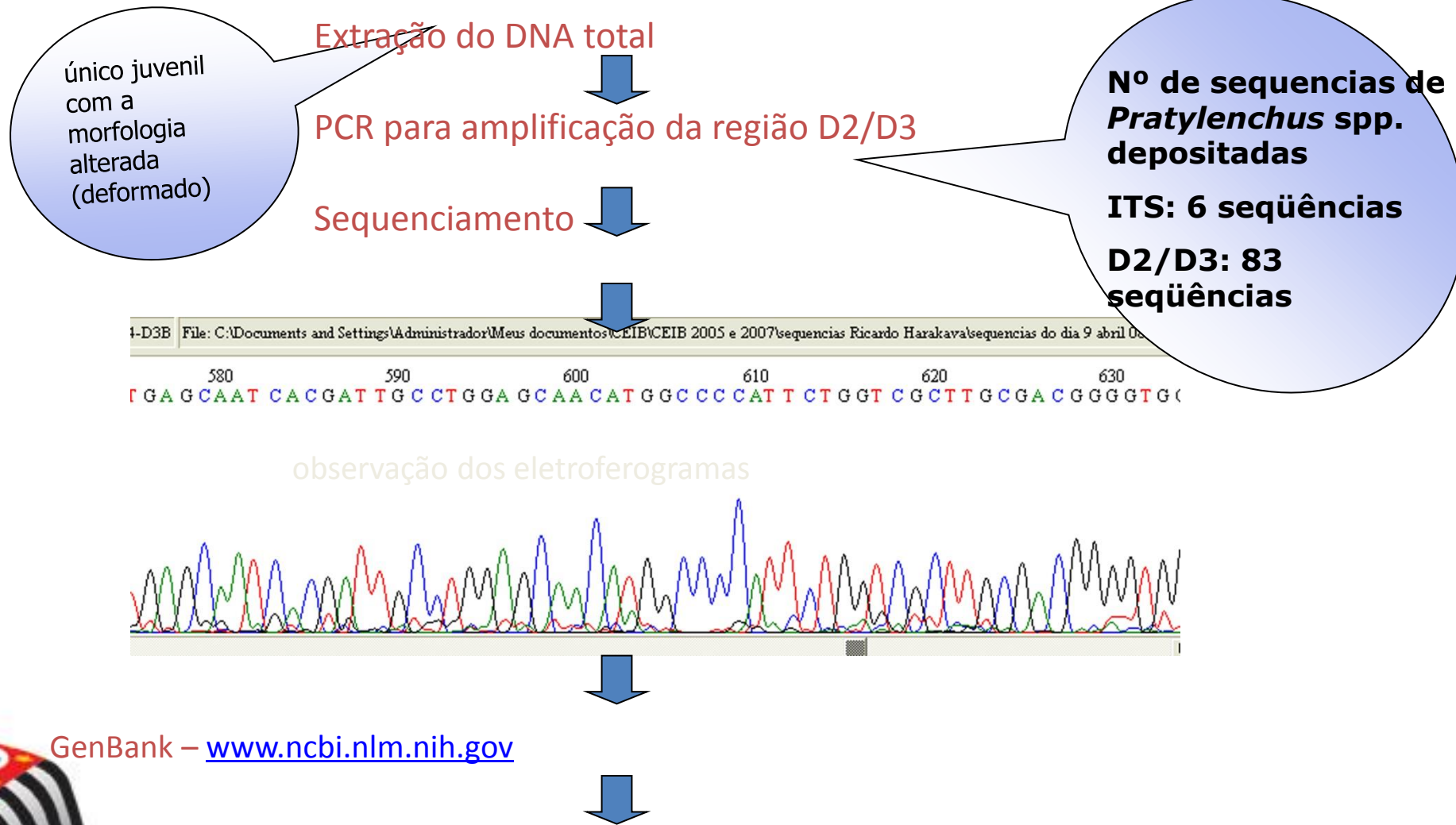
elaboração de laudos de análise fitossanitária oficial

Exemplo: nematoides em bulbos de lírio oriundos da Holanda



- nematoides presentes nas amostras chegam ao laboratório danificados

Código de barras do DNA no diagnóstico de nematóides





blastn

Enter Query Sequence

BLASTN programs search nucleotide databases using a nucleotide query. [more...](#)[Reset page](#) [Bookmark](#)Enter accession number, gi, or FASTA sequence [Clear](#)

Query subrange

From To

Or, upload file

 [Procurar...](#)

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

☐ Align two or more sequences

Choose Search Set

Database ☒ Human genomic + transcript ☐ Mouse genomic + transcript ☐ Others (nr/nt/c):

Nucleotide collection (nr/nt)

Organism

Optional

 Enter organism name or id—completions will be suggested☐ Include

+

Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown.

Entrez Query

Optional

Enter an Entrez query to limit search

Program Selection

Optimize for

- ☒ Highly similar sequences (megablast)
- ☐ More dissimilar sequences (discontiguous megablast)
- ☐ Somewhat similar sequences (blastn)

Choose a BLAST algorithm

BLAST

Search database **Nucleotide collection (nr/nt)** using **Megablast** (Optimize for highly similar sequences)☐ Show results in a new window[Algorithm parameters](#) Note: Parameter values that differ from the default are highlighted in yellow

Descriptions

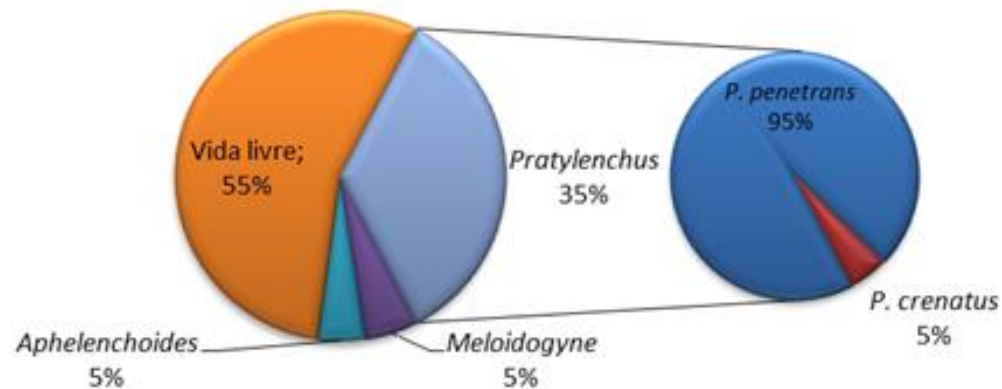
Legend for links to other resources: [U](#) UniGene [E](#) GEO [G](#) Gene [S](#) Structure [M](#) Map Viewer [P](#) PubChem BioAssay

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Links
EU130853.1	Pratylenchus crenatus isolate CA81 clone 2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1136	1136	100%	0.0	97%	
EU130852.1	Pratylenchus crenatus isolate CA81 clone 3 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1120	1120	100%	0.0	97%	
JX144360.1	Pratylenchus kumamotoensis 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	676	676	100%	0.0	85%	
JQ003992.1	Pratylenchus vulnus clone PvJan1_d2d3 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	634	634	100%	3e-178	84%	
EU130885.1	Pratylenchus vulnus isolate CA90 clone 1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	634	634	100%	3e-178	84%	
JQ692308.1	Pratylenchus vulnus 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	623	623	99%	6e-175	84%	
EU130882.1	Pratylenchus vulnus isolate CA69 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	623	623	100%	6e-175	84%	
JQ003994.1	Pratylenchus vulnus clone PvJan3_d2d3 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	617	617	100%	3e-173	84%	
HM469437.1	Pratylenchus vulnus isolate PGM 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	617	617	100%	3e-173	84%	
EU130886.1	Pratylenchus vulnus isolate CA90 clone 2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	617	617	100%	3e-173	84%	
JQ003993.1	Pratylenchus vulnus clone PvJan2_d2d3 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	612	612	100%	1e-171	83%	
EU130887.1	Pratylenchus vulnus isolate CA92 clone 1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	601	601	100%	3e-168	83%	
EU130884.1	Pratylenchus vulnus isolate CA78 clone 2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	601	601	100%	3e-168	83%	
EU130883.1	Pratylenchus vulnus isolate CA78 clone 1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	595	595	100%	1e-166	83%	
JN244270.1	Pratylenchus bhattii isolate HK clone 2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	577	577	100%	4e-161	83%	
JN020930.1	Pratylenchus zeae clone 2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	571	571	100%	2e-159	82%	
JN020931.1	Pratylenchus zeae clone 3 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	566	566	100%	1e-157	82%	
JN244269.1	Pratylenchus bhattii isolate HK clone 1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	556	556	99%	6e-155	82%	
JN020929.1	Pratylenchus zeae clone 1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	555	555	100%	2e-154	82%	
EU130893.1	Pratylenchus zeae isolate CA70 clone 1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	555	555	100%	2e-154	82%	
EU130888.1	Pratylenchus vulnus isolate CA92 clone 2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	555	555	100%	2e-154	82%	
JX144359.1	Hirschmanniella diversa 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	540	540	100%	6e-150	81%	
EF029860.1	Hirschmanniella cf. belli ITDL-2006 voucher 1125D6 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	540	540	98%	6e-150	82%	
EF029859.1	Hirschmanniella santarosae voucher ITD293 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	540	540	98%	6e-150	82%	
EU130890.1	Pratylenchus zeae isolate CA68 clone 2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	536	536	100%	8e-149	82%	
EF446997.1	Pratylenchus loosi isolate P9 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	536	536	100%	8e-149	81%	
EF446994.1	Pratylenchus loosi isolate P7 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	536	536	100%	8e-149	81%	
JN091970.1	Pratylenchus loosi 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	531	531	100%	4e-147	81%	
HM469431.1	Pratylenchus loosi isolate J01 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	531	531	100%	4e-147	81%	
EF446996.1	Pratylenchus loosi isolate P11 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	531	531	100%	4e-147	81%	
EF446995.1	Pratylenchus loosi isolate P10 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	531	531	100%	4e-147	81%	

Resultados

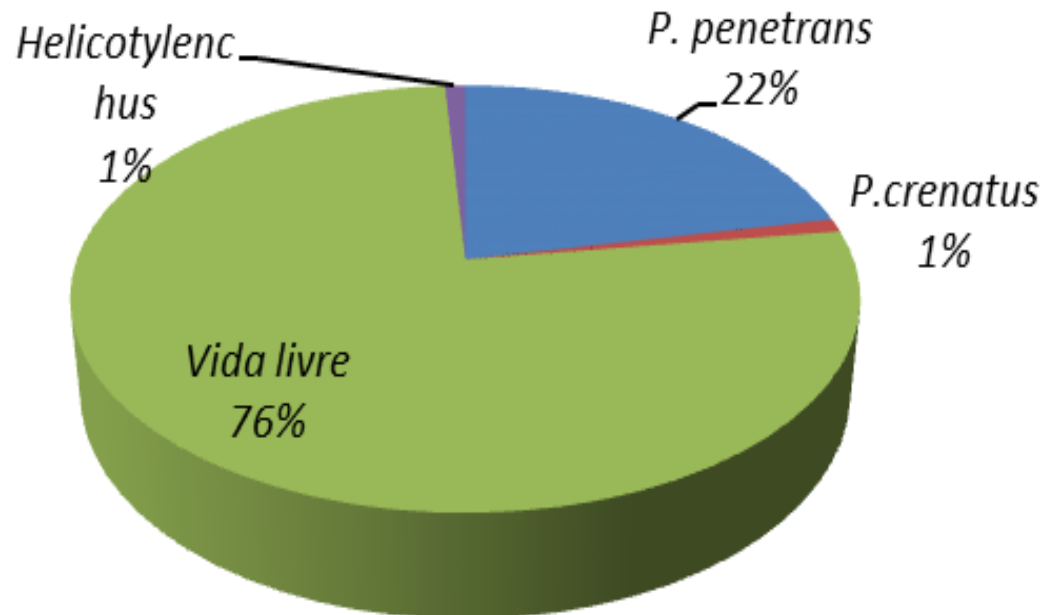
Gêneros de nematoides identificados em bulbos de ornamentais importados da Holanda e EUA em 2009-2010. Total de 332 amostras analisadas



Resultados

Identificação de nematoides parasitos de plantas em bulbos ornamentais.

- Porcentagem de nematoides identificados em bulbos de ornamentais importados da Holanda 2011-2012 (Total 176 amostras):



<https://nanoporetech.com/products/minion>

[Nanoporetech](#) | [Metrichor](#) | [Publications](#) | [Community](#) | [Events](#) | [Store](#) | [News](#) | [About](#) | [Contact](#)  [Login](#)

PRODUCTS | [HOW IT WORKS](#) | [WHAT IT DOES](#) | [GET STARTED](#)

 [PUBLICATIONS](#)

About MinION

MinION is the only portable, real time device for DNA and RNA sequencing.

Each consumable flow cell can now generate 10-20 Gb of DNA sequence data. Ultra-long read lengths are possible (hundreds of kb) as you can choose your fragment length.

The MinION streams data in real time so that analysis can be performed during the experiment and workflows are fully versatile.

The MinION weighs under 100 g and plugs into a PC or laptop using a high speed USB 3.0 cable. No additional computing infrastructure is required. Not constrained to a laboratory environment, it has been used up a mountain, in a jungle, in the arctic and on the International Space Station.





BRILL

Nematology 00 (2017) 1-21

The pitfalls of molecular species identification: a case study within the genus *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae)

Toon JANSSEN^{1,2,*}, Gerrit KARSSSEN³, Marjolein COUVREUR¹,
Lieven WAEYENBERGE⁴ and Wim BERT^{1,*}

¹ Nematology Research Unit, Department of Biology, Ghent University, K.L. Ledeganckstraat 35, 9000 Ghent, Belgium

² Center for Medical Genetics, Reproduction and Genetics, Reproduction Genetics and Regenerative Medicine, Vrije Universiteit Brussel, UZ Brussel, Laarbeeklaan 101, 1090 Brussels, Belgium

³ National Plant Protection Organization, Wageningen Nematode Collection, P.O. Box 9102, 6700 HC Wageningen, The Netherlands

⁴ ILVO, Crop Protection, Burg. Van Gansberghelaan 96 bus 2, 9820 Merelbeke, Belgium

Received: 27 February 2017; revised: 13 September 2017

Accepted for publication: 13 September 2017; available online: ???

Summary – Comprehensive morphological and molecular analyses revealed that published ITS sequences of the economically important plant-parasitic nematode *Pratylenchus goodeyi* are actually sequences from distantly free-living bacterivorous ‘cephalobids’. We demonstrated that this incorrect labelling resulted in a cascade of erroneous interpretations, as shown by the reports of ‘*P. goodeyi*’ on banana in China and on cotton in India. This clearly illustrates the risk of mislabelled sequences in public databases. Other mislabelled *Pratylenchus* cases are discussed to illustrate that this is not an isolated case. Herein, *P. lentis* n. syn. is considered a junior synonym of *P. pratensis* while *P. flakkensis* was for the first time linked to DNA sequences using topotype material. As taxonomic expertise is decreasing and sequence-based identification is growing rapidly, the highlighted problem may yet increase and a strong link between morphology and DNA sequences will be of crucial importance in order to prevent, or at least minimise, sequence-based misidentifications.

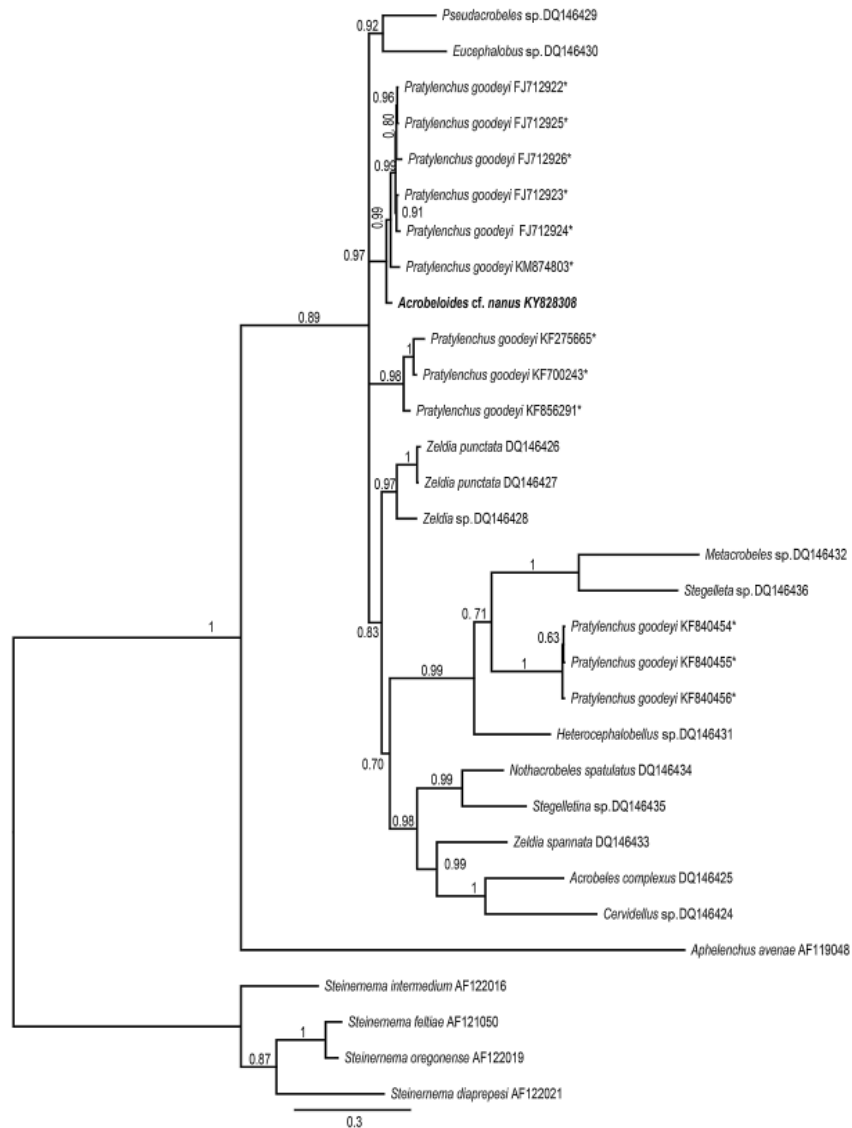


Fig. 2. Phylogenetic position of misidentified *Pratylenchus goodeyi* sequences (FJ712922-FJ712926, KF275665, KF700243, KF840454, KF840455, KF840456, KF856291 and KM874803 indicated by *) within the Cephalobidae as inferred from Bayesian analysis of the ITS of RNA gene sequences using GTR + I + G model. Posterior probabilities are given for appropriate clades. Newly obtained sequences are indicated in bold.



BRILL

Nematology 19 (2017) 81–91

Nematology
brill.com/nemylaboratório de
nematologia
Instituto Biológico

Hydrolysis probe-based PCR for detection of *Pratylenchus crenatus*, *P. neglectus* and *P. penetrans*

Claudio M.G. OLIVEIRA^{1,*}, Vivian BLOK², Roy NEILSON²,
Tomasz MRÓZ³ and David ROBERTS²¹ Biological Institute, Campinas, SP, CEP 13 001 970, Brazil² The James Hutton Institute, Dundee DD2 5DA, UK³ Warsaw University of Life Sciences WULS – SGGW, Warsaw 02-787, Poland

Received: 13 June 2016; revised: 10 October 2016

Accepted for publication: 10 October 2016; available online: 11 November 2016

Summary – Molecular detection of pest and pathogens relies on rapid and dependable methods for their identification as well as an assessment of their abundance. This study describes the development and evaluation of a diagnostic method for detection of *Pratylenchus crenatus*, *P. penetrans* and *P. neglectus*, based on a hydrolysis probe qPCR assay. Primer/probe sets were designed targeting the ITS-1 rDNA. In order to assess the specificity, primer/probe sets were tested with samples of non-target *Pratylenchus* species and *Radopholus similis*. Experiments using dilutions of purified plasmid standards tested the sensitivity of the hydrolysis assay against detection of DNA extracted from individual nematodes. Target DNA was detected in soil samples collected from potato fields and this indicated that *P. crenatus*, *P. neglectus* and *P. penetrans* are widely distributed in Scotland, frequently co-existing in mixed populations, with *P. crenatus* more prevalent than either *P. neglectus* or *P. penetrans*.

Keywords – diagnosis, intraspecific variability, ITS-1, root-lesion nematodes.

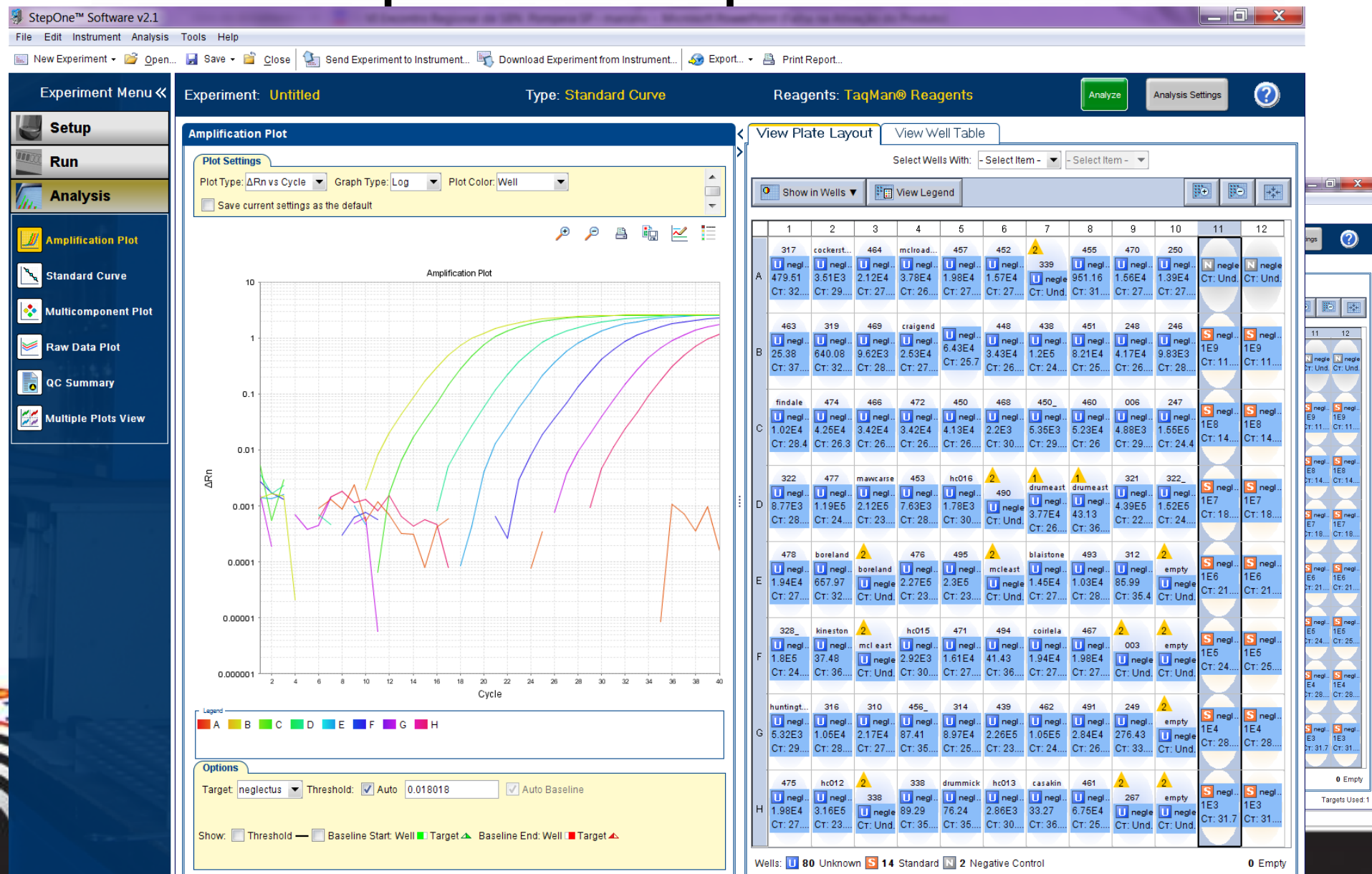
Root-lesion nematodes belonging to the genus *Pratylenchus* are known to parasitise a range of crops, including potato, carrot, coffee and banana (Castillo & Vovlas, 2007), and are considered one of the primary global nematode pathogens (Jones *et al.*, 2013). Root-lesion nematodes cause damage by directly feeding on roots or tubers and moving through cortical tissues, and they are often found associated with bacterial and fungal infections. For example, the combined infection of *Verticillium* spp. and *Pratylenchus* spp., known as potato early dying disease, has long been recognised as a problem in potato production areas of the USA, often resulting in yield reductions of 30–50% (MacGuidwin & Rouse, 1990; Powelson & Rowe, 1993). In Brazil, nine species of *Pratylenchus* (*P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. jaehni*, *P. penetrans*, *P. vulnus*, *P. zeae*, *P. pseudopratensis*, *P. jordaniensis* and *P. pseudofallax*) have been recorded (Gonzaga *et al.*, 2016) associated with a range of crops. The three *Pratylenchus* species of focus in this paper (*P. crenatus*, *P. penetrans* and *P. neglectus*) are known pests of numerous global crops. In a glasshouse experiment, Holgado *et al.* (2009) postulated that *P. penetrans* induced tuber cross-lesions similar to

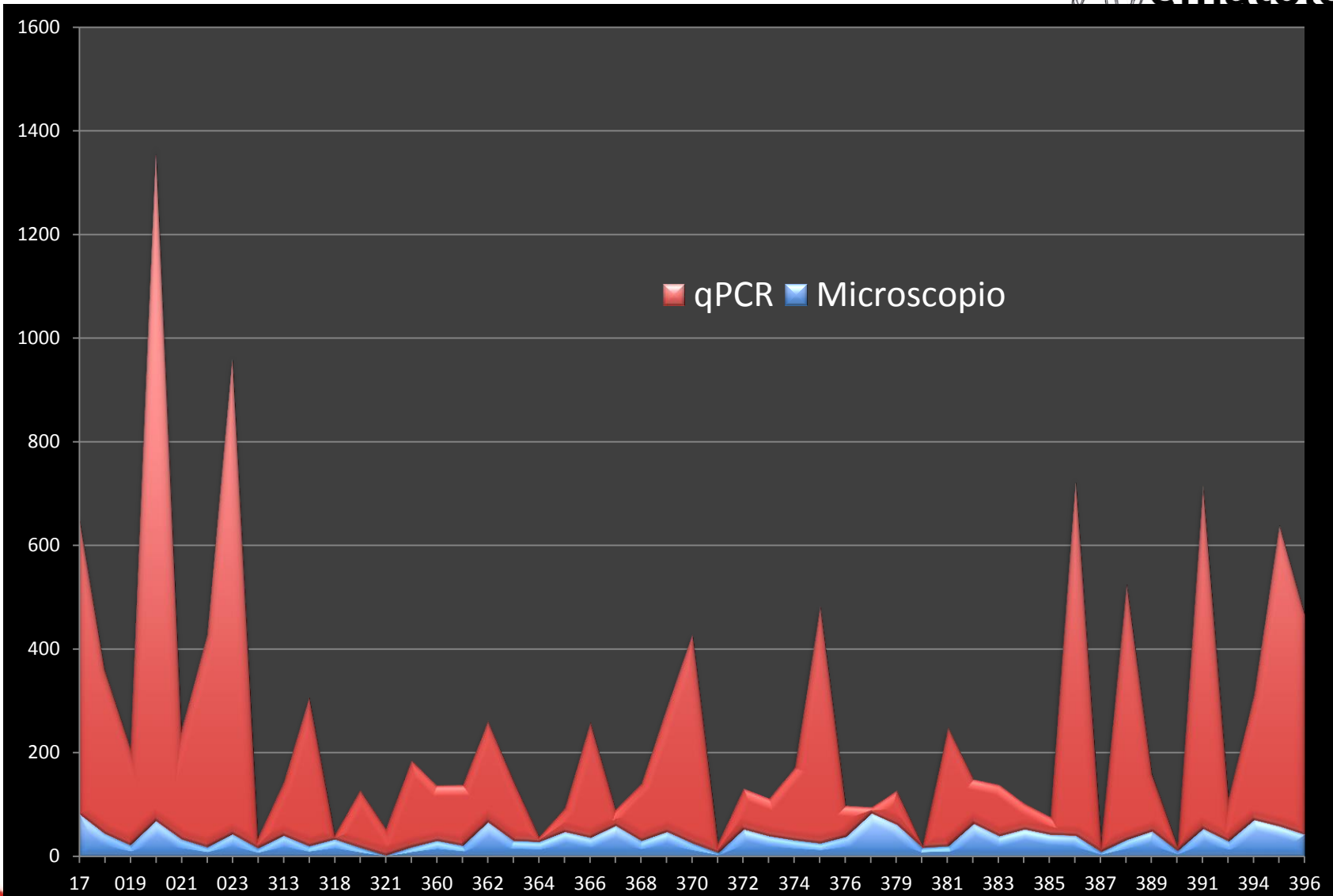
those associated with common scab (*Streptomyces scabies*), and that the combined inoculation of the bacterium and the nematode enhanced symptom expression.

Pratylenchus crenatus is listed as a regulated pest in Brazil (Singh *et al.*, 2013). This species has recently been detected from intercepted ornamental bulbs during quarantine inspection in Brazil and Korea (Oliveira *et al.*, 2012; Kim & Chun, 2014) and in common bean fields in Paraná state, southern Brazil (Bonfim Junior *et al.*, 2016); it is known to damage cv. Kuroda carrot resulting in seedling death in Australia (Hay & Pethybridge, 2005). *Pratylenchus neglectus* is one of the most widespread and economically important nematodes that invades plant roots and restricts cereal productivity in Australia and North America (Yan *et al.*, 2013; Sheedy *et al.*, 2015) but it has not been reported in Brazil. *Pratylenchus penetrans* has been recorded on over 350 hosts mainly in temperate areas of the world. In Brazil, this species has a restricted geographic distribution and has been reported on chrysanthemum, Peruvian carrot, artichoke and potato (Castillo & Vovlas, 2007).

* Corresponding author, e-mail: marcelo@biologico.sp.gov.br

PCR Tempo Real - qPCR





Controle curativo

cultural

químico

físico

biológico



Físico: Calor

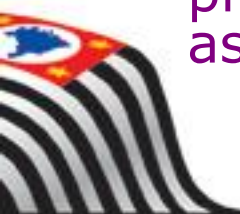
Termoterapia: consiste no tratamento térmico do solo com calor úmido, na forma de vapor d'água. Pode ser feito em autoclaves, a 127 C durante pelo menos 1 hora.

Hidrotermoterapia: banho de água aquecida. A temperatura e o tempo de imersão variam de acordo com a planta, parte da planta a ser tratada e com o nematoide a ser controlado

Solarização: Tratamento térmico em que o solo a ser desinfestado é mantido coberto por uma camada de polietileno

Hidrotermoterapia

- *Meloidogyne* sp. em túberas de begônia:
 - 48 C durante 30 minutos.
- *Pratylenchus penetrans* em raízes de crisântemo:
 - 50 C por 10 minutos
- *Aphelenchoides ritzemabosi* na parte aérea crisântemo:
 - 50 C por 5 minutos.
- *Pratylenchus* sp. em raízes de roseiras:
 - 50 C por 10 minutos.
- O tratamento com água aquecida deve ser utilizado com precaução uma vez que altas temperaturas podem danificar as plantas ornamentais.



Uso de hidrotermoterapia no tratamento de bulbos de lírio visando ao controle de nematoides

Tratamentos	Temperatura/tempo
1. Testemunha	-
2. tratamento hidrotérmico	39°C por 2 horas
3. tratamento hidrotérmico + formalina 0,3%	39°C por 2 horas
4. tratamento com formalina 1%	temperatura ambiente
5. tratamento hidrotérmico	42°C por 2 horas
6. tratamento com nematicida Carbofuran 350 SC	Dose 400 ml PC/100L de água (imersão dos bulbos, durante 15 minutos na calda do nematicida)
7. tratamento com nematicida Abamectina (Avicta 500 FS)	10 ml de AVICTA / L de água (AVICTA: 500 g de abamectina/L) imersão dos bulbos por 15 min em solução nematicida

Delineamento experimental: inteiramente ao acaso, com 7 tratamentos e 4 repetições. Parcelas constituídas de 200 bulbos de lírio oriental para cultivo em vaso, naturalmente infestados com *Pratylenchus crenatus*

Hidrotermoterapia no controle de nematoides

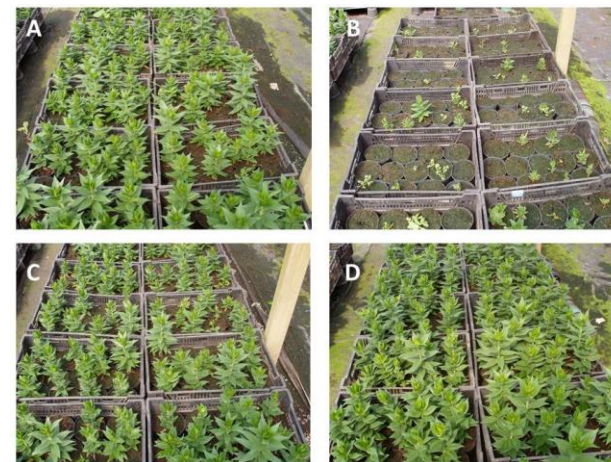


Equipamento piloto, semelhante a banho maria com controle de temperatura, utilizado no tratamento hidrotérmico dos bulbos de lírio.

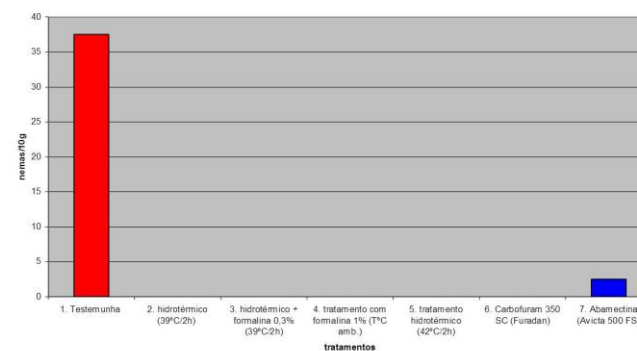


Influência dos tratamentos na germinação de bulbos e desenvolvimento das plantas de lírio, 30 dias após os tratamentos e sintomas de lesão foliar (60 dias após os tratamentos)

Tratamentos	Nº final de plantas		Plantas com desenvolvimento insatisfatório	
	média	% de germinação	média	%
1. Testemunha	169	85	4	2
2. hidrotérmico (39°C/2h)	169	85	8	4
3. hidrotérmico + formalina 0,3% (39°C/2h)	115	58	28	24
4. tratamento com formalina 1% (T°C ambiente)	186	93	5	2
5. tratamento hidrotérmico (42°C/2h)	0	0	-	-
6. Carbofuram 350 SC (Furadan)	188	94	4	2
7. Abamectina (Avicta 500 FS)	181	91	4	2



Efeito dos tratamentos hidrotérmicos na germinação dos bulbos de lírio. A - temperatura a 39°C/2h sem formalina; B - temperatura a 42°C/2h; C - temperatura a 39°C/2h com formalina 3%; D - tratamento nematocida com Abamectina.



Número de espécimes de *Pratylenchus crenatus* presentes em 10g de raízes de lírio, 60 dias após os tratamentos

First report of *Pratylenchus crenatus* in BrazilM.F. Bonfim Junior^{1*}, E.A. Consoli², M.M. Inomoto² and C.M.G. de Oliveira³¹ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 70770-900, Brasília, DF, Brazil; ² Departamento de Fitopatologia e Nematologia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, C.P. 09, 13418900, Piracicaba, SP, Brazil; ³ Instituto Biológico, C.P. 70, 13001970, Campinas, SP, Brazil

*E-mail: mauroferreira@bvhv.com.br

Primeiro relato de *Pratylenchus crenatus* no Brasil

During a survey in February 2011, root and soil samples were collected from 16 common bean (*Phaseolus vulgaris*) fields in Paraná state, southern Brazil. These samples were processed by the centrifugal flotation method (Coolen & D'Herde, 1972) and two species of root-lesion nematode were detected: *Pratylenchus brachyurus* in all samples, and *P. crenatus* in two samples (96 specimens per gramme of roots) of cultivars Carioca and Uirapuru from the municipality of Guarapuava (25°23'42"S / 51°27'28"W). Sixteen adult females belonging to the *Pratylenchus* genus, with three lip annuli (Fig. 1A), lateral fields with six lines and crenate tails (Fig. 1B) were measured in temporary formaldehyde slides. The average measurements were as follows: stylet length, 16.54 (±0.81) µm; body length, 477.16

in nematode

Paraná state. Taking into account the large cultivated area in the neotropical region and the potential for *P. crenatus* to disseminate to the tropics, this nematode should be considered a risk to the economy of the region. In neotropical America, the only locality *P. crenatus* had been reported previously was the temperate zone, more specifically in natural grassland, at Balcarce in the province of Buenos Aires (Torres & Chaves, 1999). The Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply has been notified of this new finding in order to implement appropriate phytosanitary measures to reduce adverse impacts caused by *P. crenatus*.

Acknowledgements

The authors thank Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the scholarship.

References

- Castillo P, Vovlas N, 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. *Nematology Monographs and Perspectives*. Leiden, The Netherlands: Koninklijke Brill.
- Coolen WA, D'Herde, CJ, 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent, Belgium, State Agricultural and Entomology Research Station.
- Karssen G, Bolk RJ, 2000. An additional character useful for the identification of *Pratylenchus crenatus* Loof, 1960 (Nematoda: Pratylenchidae). *Nematology* 2, 695-697. <http://dx.doi.org/10.1163/156854100509556>
- Mekete T, Reynolds K, Lopez-Nicora HD, Gray ME, Niblack TL, 2011. Distribution and diversity of root-lesion nematode (*Pratylenchus* spp.) associated with *Miscanthus x giganteus* and *Panicum virgatum* used for biofuels, and species identification in a multiplex polymerase chain reaction. *Nematology* 13, 673-686. <http://dx.doi.org/10.1163/138855410X538153>
- Powers T, 2004. Nematode molecular diagnostics: from bands to barcodes. *Annual Review of Phytopathology* 42, 367-383. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140348>
- Torres MS, Chaves EJ, 1999. Description of some *Pratylenchidae* (Nematoda) from Argentina. *Nematologia Mediterranea* 27, 281-289.

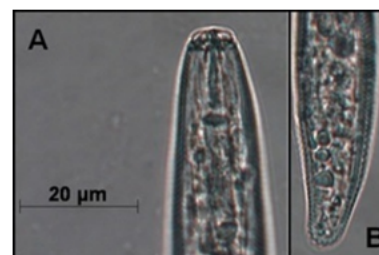


Figure 1



Figure 2

To cite this report: Bonfim Junior MF, Consoli EA, Inomoto MM, de Oliveira CMG, 2016. First report of *Pratylenchus crenatus* in Brazil. *New Disease Reports* 34, 7. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2016.034.007>

©2016 The Authors

This report was published on-line at www.ndrs.org.uk where high quality versions of the figures can be found.

Primeiro relato

**OCORRÊNCIA DE *Meloidogyne graminis*
EM GRAMA NO ESTADO DE SÃO PAULO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CÂMPUS DE BOTUCATU

**OCORRÊNCIA DE *Meloidogyne graminis* EM GRAMA NO ESTADO
DE SÃO PAULO**

SAMARA AZEVEDO DE OLIVEIRA

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Renata Siciliano Wilcken

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP
(NOVEMBRO - 2015)

Sintomas do ataque de *Meloidogyne graminis* em gramado de campo de golfe da cidade de São Paulo.



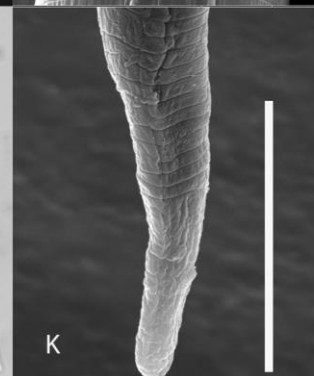
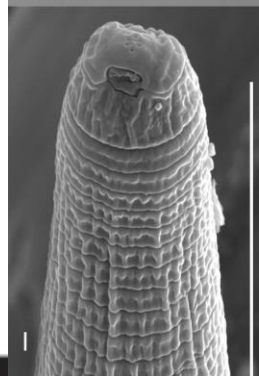
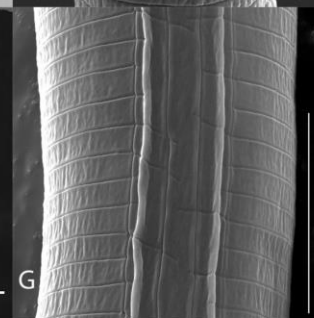
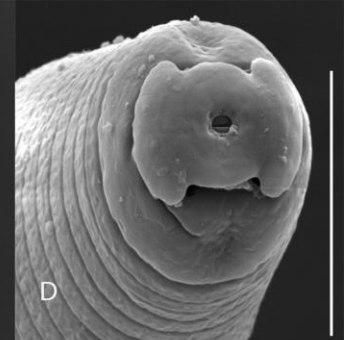
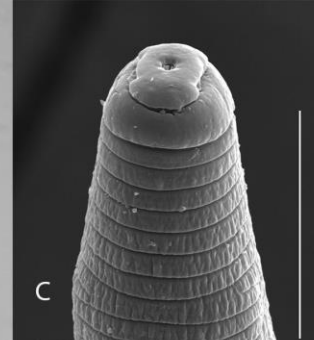
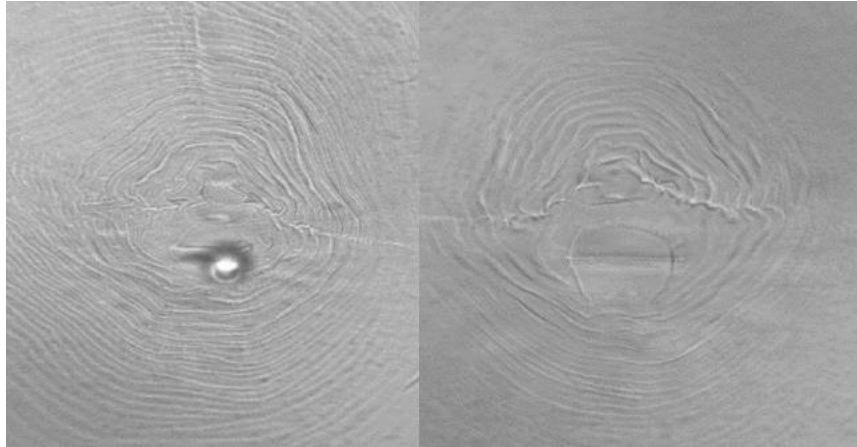
Manchas em reboleira caracterizadas por plantas com desenvolvimento insatisfatório, menores e cloróticas



Raízes de gramas com *Meloidogyne graminis*



Nas figuras A a E observa-se juvenis em estágio salsichóide (J) estabelecendo o sítio de alimentação (S.A.) no interior das raízes. Nas figuras F a H observa-se um leve engrossamento das raízes (S.A.) causado pela alimentação das fêmeas (F)



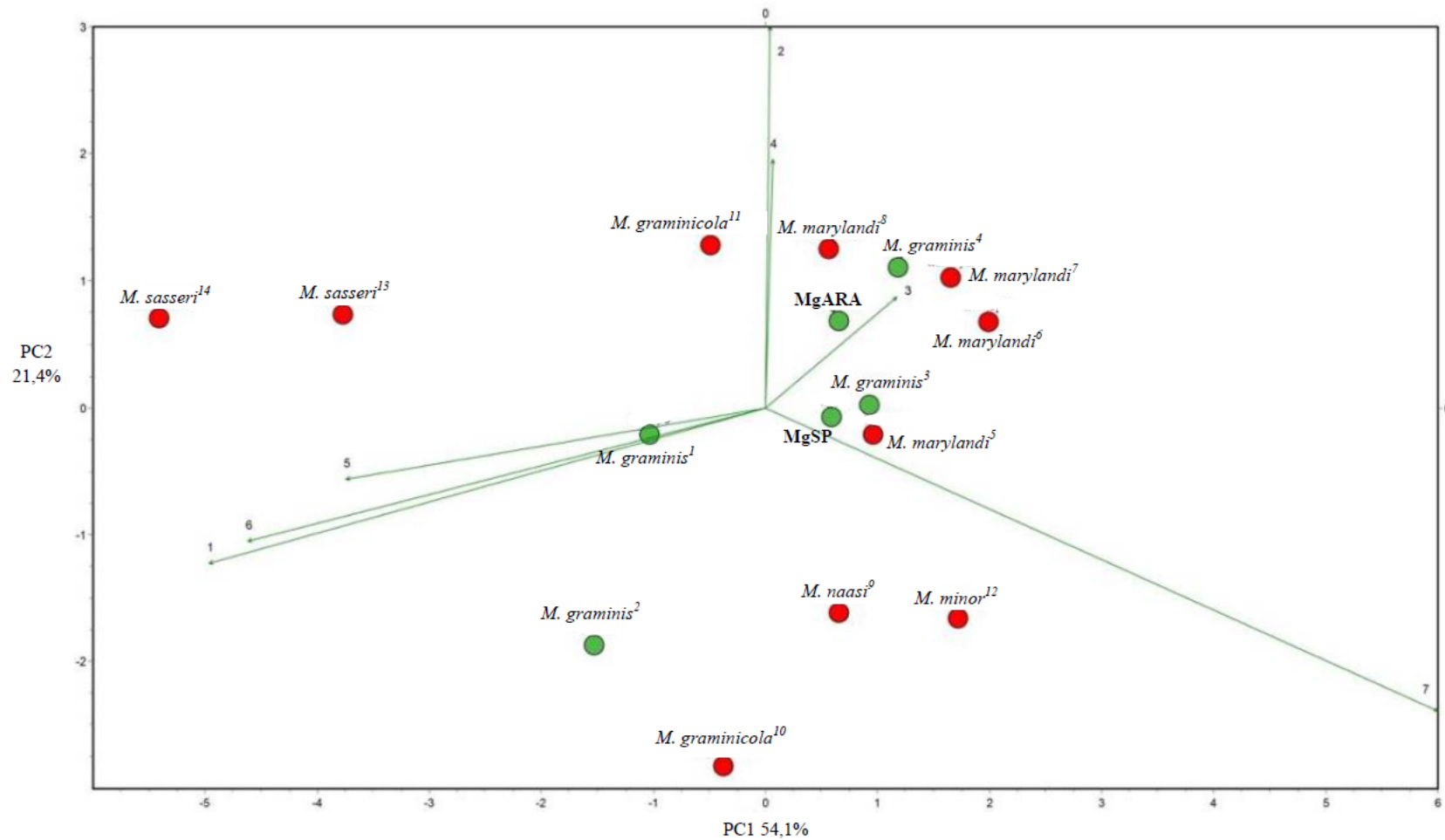
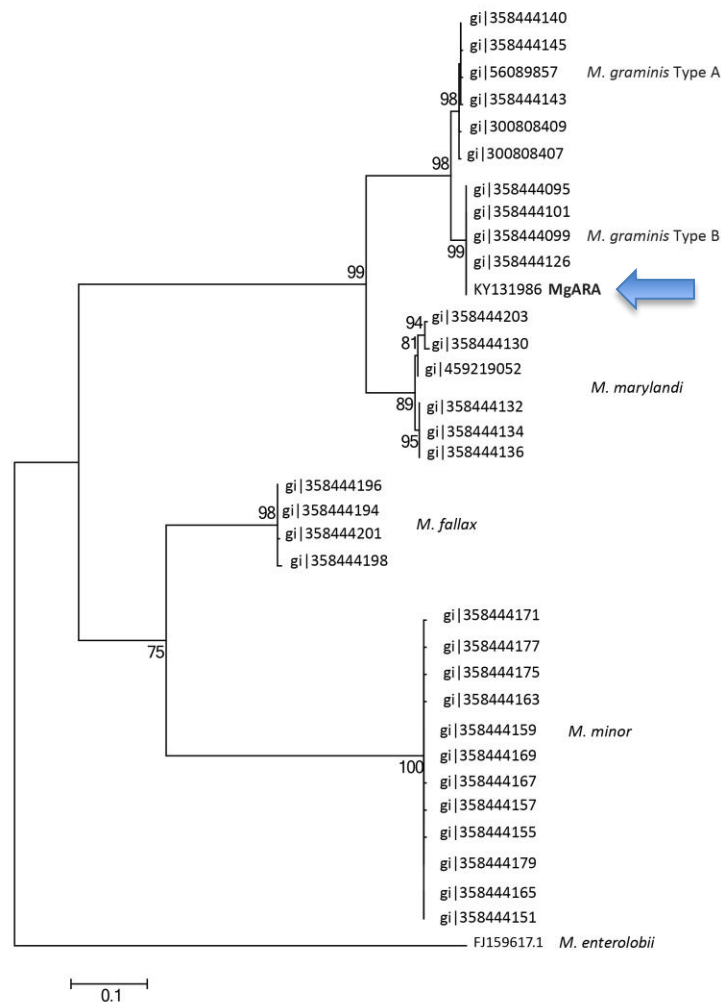


Figura 2. Análise de PCA. Comparação entre os dados morfométricos de juvenis das populações de *Meloidogyne* sp. estudadas com populações de outras espécies associadas à grama. *Meloidogyne graminis* em verde, sendo MgARA e MgSP as populações de estudo; demais espécies em vermelho.

Árvore filogenética mostrando as relações entre as espécies de *Meloidogyne* baseada nas sequências da região D2/D3 do gene 28S do rDNA. *Pratylenchus vulnus* foi utilizado como grupo externo (GI:365192982).



Árvore filogenética mostrando as relações entre as espécies de *Meloidogynematologia* baseada nas sequências da região CO-II do mtDNA. *M. enterolobii* foi utilizada como grupo externo (FJ159617).



Conclusão

Controle preventivo

Legislação rigorosa

Laboratórios preparados para realizar identificação



Não se deve plantar nematoides

Professor Ailton R. Monteiro (1981)

texto exemplar disponível em
<http://docentes.esalq.usp.br/sbn/nbonline/ol%2005u/13-20%20pb.pdf>

leitura obrigatória de todo fitossanitarista.

SOC. BRASIL. NEMAT.
Publi. nº 5, 1981

NÃO SE DEVE "PLANTAR" NEMATÓIDES*

Ailton Rocha Monteiro ¹

Sementes e mudas podem transportar organismos daninhos às plantas, introduzindo-os em novos locais. São os meios mais eficazes de disseminação de nematoides que, parasitos obrigatórios, têm alimentação garantida quando acompanham os hospedeiros.

Os nematoides dos cistos (*Heterodera* spp., *Globodera* spp.), os nematoides das galhas em raízes (*Meloidogyne* spp.), os nematoides das lesões em raízes (*Pratylenchus* spp.), o nematóide cavernícola (*Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949), o nematóide das plantas cítricas (*Tylenchulus semipene trans* Cobb, 1913), o nematóide da ponta branca do arroz (*Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942), o nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940) são alguns dos muitos nematoides que o homem ajudou a disseminar pelo mundo, máxime com mudas e sementes infestadas. No passado, durante muito tempo, fê-lo sem saber. Hoje, muitas vezes, o faz até criminosamente, desobedecendo a proibições legais.

Graças ao trabalho de pioneiros e mestres, como o Prof. Dr. Luiz Gonzaga E. Lordello, muito já foi feito para conscientizar todos os interessados em defesa vegetal sobre a importância dos nematoides fitoparasitos.

¹ Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba.

* Palestra proferida a 10 de fevereiro de 1981.

NEMATOLOGIA DE PLANTAS: fundamentos e importância



L.C.C.B. Ferraz & D.J.F. Brown

<http://docentes.esalq.usp.br/sbn/ferbro/FerrazBrown2016.pdf>

OBRIGADO

Cláudio **Marcelo** G. de Oliveira

Instituto Biológico

CEP 13001 970, Caixa Postal 70, Campinas, SP

marcelo@biologico.sp.gov.br

